



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
FACULDADE DE BIOLOGIA

VANDRESSA REGINA NUNES HENRIQUES

FILOGENIA MOLECULAR DO GÊNERO AMERICANO *Zapteryx* (JORDAN & GILBERT, 1880) REVELA O POSICIONAMENTO FILOGENÉTICO DA ESPÉCIE VULNERÁVEL *Zapteryx brevirostris* (MULLER & HENLE, 1841).

BELÉM – PARÁ

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
FACULDADE DE BIOLOGIA

VANDRESSA REGINA NUNES HENRIQUES

FILOGENIA MOLECULAR DO GÊNERO AMERICANO *Zapteryx* (JORDAN & GILBERT, 1880) REVELA O POSICIONAMENTO FILOGENÉTICO DA ESPÉCIE VULNERÁVEL *Zapteryx brevirostris* (MULLER & HENLE, 1841).

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Ciências Biológicas, Modalidade Bacharelado da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Biologia.

Orientador: Prof. Dr. João Bráullio de Luna Sales

BELÉM – PARÁ

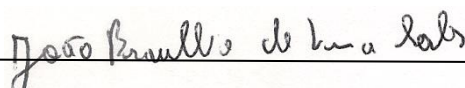
2021

VANDRESSA REGINA NUNES HENRIQUES

FILOGENIA MOLECULAR DO GÊNERO AMERICANO *Zapteryx* (JORDAN & GILBERT, 1880) REVELA O POSICIONAMENTO FILOGENÉTICO DA ESPÉCIE VULNERÁVEL *zapteryx brevirostris* (MULLER & HENLE, 1841).

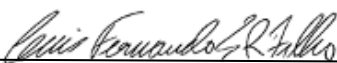
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Ciências Biológicas, Modalidade Bacharelado da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Biologia.

Orientador: Prof. Dr. João Bráullio de Luna Sales



Orientador: Prof. João Bráúlio Luna Sales.

Instituto de Ciências Biológicas, UFPA.



Avaliador: Prof. Dr. Luis Fernando da Silva Rodrigues Filho

Faculdade de Biologia, UFRA-Capanema.



Avaliador: Prof. Dr. Jonathan Stuart Ready

Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

BELEM – PARÁ

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de alguma forma me auxiliaram e participaram do processo de construção deste trabalho e de minha graduação de uma forma geral. À minha família, amigos e professores, meu sincero agradecimento.

RESUMO

Tubarões, raias e quimeras formam o grupo dos Elasmobrânquios e estão entre os vertebrados com maior sucesso evolutivo, tendo uma história de vida que se iniciou há cerca de 400 milhões de anos, ainda no período Devoniano. No caso das espécies de raias (Superordem Batoidea), a grande problemática é o fato destes indivíduos serem facilmente capturados como fauna acompanhante em pescarias de arrasto levando as populações de várias espécies ao colapso populacional. O gênero *Zapteryx*, compreende atualmente 2 espécies válidas e uma linhagem evolutiva. Sendo estas respectivamente *Zapteryx brevirostris*, *Zapteryx exasperata* e *Zapteryx sp*, onde até o momento, nenhuma inferência molecular foi realizada com *Z. brevirostris*, a única espécie do gênero que ocorre no Brasil. O objetivo do presente trabalho foi realização revisões filogenéticas com o gênero *Zapteryx* com o intuito de verificar a validade molecular de *Z. brevirostris* como, linhagem evolutiva distinta, bem com verificar a presença de linhagens crípticas dentro da área de amostragem da mesma. Os resultados obtidos sugerem que *Z. brevirostris* é geneticamente válida como a única linhagem evolutiva no Atlântico Sul ocidental, além de indicar possivelmente que a espécie é a mais derivada dentro do gênero, embora os valores de suporte filogenético obtidos não tenham sido altos em algumas análises. Adicionalmente, recuperamos conflito na posição filogenética de membros da família Trygonorrhinidae, fato este que indica uma necessidade de mais estudos sistemáticos e moleculares com as espécies que compõem a família.

Palavras-Chave: Raia-Viola; Conservação; Filogenia Molecular; Atlântico Sul Ocidental.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
1.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ELASMOBRÂNQUIOS E PRINCIPAIS AMEAÇAS ÀS POPULAÇÕES.....	7
1.2. PEIXES-VIOLA E O GÊNERO <i>Zapteryx</i> (JORDAN & GILBERT, 1880) ...	10
1.3. FERRAMENTAS MOLECULARES PARA ELASMOBRÂNQUIOS.....	14
2. JUSTIFICATIVA.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
3.1. OBJETIVO GERAL.....	18
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4. METODOLOGIA.....	19
4.1. AMOSTRAGEM.....	19
4.2. MÉTODOS MOLECULARES.....	23
5. RESULTADOS.....	24
6. DISCUSSÃO.....	28
7. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

1.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ELASMOBRÂNQUIOS E PRINCIPAIS AMEAÇAS ÀS POPULAÇÕES

Tubarões, raias e quimeras formam o grupo dos Elasmobrânquios (figuras 1,2 e 3) e estão entre os vertebrados com maior sucesso evolutivo, tendo uma história de vida que se iniciou há cerca de 400 milhões de anos, ainda no período Devoniano (Castro, 1987; Mendonça, 2007). As espécies que compõe o grupo estão distribuídas atualmente em todos os mares e oceanos do mundo, em águas tropicais, subtropicais, temperadas e frias, podendo habitar regiões costeiras e oceânicas, associados à ambientes pelágicos, demersais, recifais e até mesmo de água doce. (Compagno, 1990; Gruber, 1990).

Do ponto de vista da conservação, uma das principais ameaças às populações de Chondrichthyes é sobre a pesca e tem causado um impacto profundo nas espécies de elasmobrânquios, dentre essas estão espécies de tubarões, os quais são alvo de pescarias direcionadas que geram milhões de dólares desde os anos 2000 (Worm *et al* 2013). Sendo em sua grande maioria destinados ao mercado chinês devido à sopa de barbatana de tubarão, considerada uma iguaria local. (Fabinyi & Liu, 2014).

No caso das espécies de raias (Superordem Batoidea), a grande problemática é o fato destes indivíduos serem facilmente capturados como fauna acompanhante em pescarias de arrasto, principalmente de camarões, acarretando assim no fato de várias espécies figurarem dentro de listas de extinção (Ferrete *et al* 2019) (Figura 4).

Notou-se que o processo de captura pode ter consequências fisiológicas importantes e às vezes causar mortalidade em muitas espécies mesmo que posteriormente estas sejam liberadas (Ellis *et al*, 2017). Embora, *Zapteryx brevirostris* apresente alta tolerância à captura e transporte foi observada redução

significativa nas taxas de sobrevivência em capturas ocorridas durante o período reprodutivo. Em estudo realizado por Wosnick *et al* (2019), constatou-se altas taxas de aborto e redução da sobrevivência materna após episódios de captura de fêmeas grávidas. É importante reforçar que por apresentarem características de história de vida como maturidade tardia e longos períodos de incubação / gestação, para elasmobrânquios a pesca intensiva e prolongada pode resultar em declínios populacionais, mesmo para as espécies entendidas como capturas acessórias e devido a todos estes fatos, hoje, elasmobrânquios são considerados o grupo de peixes marinhos mais ameaçados no mundo (Davidson & Dulvy, 2017).

Em relação à diversidade de Chondrichthyes da fauna brasileira, em levantamento feito por Rosa & Gadig (2014), são apresentados os números gerais da fauna brasileira e do Sudeste e Sul desde o trabalho de José Lima de Figueiredo em 1977. Em números atuais, são incluídos 12 ordens, 36 famílias, 79 gêneros e 165 espécies de Chondrichthyes marinhos no Brasil, incluindo, pelo menos, 15 espécies não descritas e/ou ainda não identificadas de forma conclusiva.

Ainda de acordo com Rosa & Gadig (2014), em termos da costa brasileira como um todo, desde 1977 foram descritas 15 novas espécies de elasmobrânquios marinhos no Brasil ou que ocorrem também no Brasil, onde a maioria se concentra no Sudeste e Sul (13) e duas do Norte e Nordeste. **Imagens com representantes de elasmobrânquios. 1-Tubarão, 2-Raias e 3-Quimera.**

Figura 1: Tubarão



Fonte: Brad Leue / Barcroft Media via Getty Images

Figura 2 – Raias



Fonte:Alexis Rosenfeld/Getty Images

Figura 3 – Quimera



Fonte:Justine Siegwald, Department of Natural History, University Museum of Bergen.

Figura 4 - Espécies de batóideos capturados em arrasto de fundo na pesca de camarão marinho no litoral do Amapá



Fonte :Wagner Santos.

1.2. PEIXES-VIOLA E O GÊNERO *Zapteryx* (JORDAN & GILBERT, 1880).

A definição de peixes viola (guitarfish), ao menos para biólogos, é um avanço recente. Conforme revisado por Last *et al* (2016), as famílias de arraiais com uma alta proporção de espécies ameaçadas incluem peixes-serra (Pristidae), peixes-cunha (Rhinidae), peixes-guitarra (Rhinobatidae), peixes-guitarra gigantes (Glaucostegidae) (Kyne ,2016).

O gênero alvo deste trabalho está contido dentro do grupo conhecido como raias banjo da família Trygonorrhinidae (Figura 6). As raias banjo são representadas por 3 gêneros: *Aptychotrema* (Shaw,1794)(figura 6.a), *Trygonorrhina* (Müller & Henle,1838) (figura 6.b) e *Zapteryx* (Müller & Henle,1841) (figura 6.c), que possuem 8 espécies válidas. Ocorrendo em mares temperados e tropicais, principalmente nas costas continentais, não ocorrem em água doce (Moore, 2017).

O gênero *Zapteryx*, compreende atualmente 2 espécies válidas e uma linhagem evolutiva. Sendo estas respectivamente *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) (figura 5.a), *Zapteryx exasperata* (Jordan & Gilbert, 1880)(figura 5.b) e *Zapteryx sp* (figura 5). Uma terceira espécie, *Zapteryx xyster* (Jordan & Evermann, 1896) foi sinonimizada a *Z. exasperata* após revisão molecular recente indicar que a característica morfológica que separava as duas espécies (presença de um par de ocelos dorsais em *Z. xyster*) não é refletida a nível de espécie (Castillo-Páez *et al*, 2017).

No que diz respeito às características morfológicas, as espécies do gênero se diferenciam da seguinte maneira: *Zapteryx brevirostris* é uma espécie de pequeno porte, os machos amadurecem em 43-45 cm TL, fêmeas em 42-48 cm (Last *et al*,2016). Apresentando reprodução do tipo vivípara, as fêmeas têm ciclo reprodutivo de 3 anos, com dois anos de maturação ovariana e um ano de gestação; dão à luz 1- 8 filhotes com 13-16 cm TL (Colonello *et al*. 2011, Last *et al*. 2016). A idade máxima é de 9 anos e a duração da geração é de 7 anos (Caltabellotta *et al*. 2019). (IUCN red list). Atualmente, encontra-se com o status de espécie ameaçada, habita as águas costeiras sobre substratos macios a profundidades de 2–140 m (Last *et al*. 2016, Weigmann 2016).

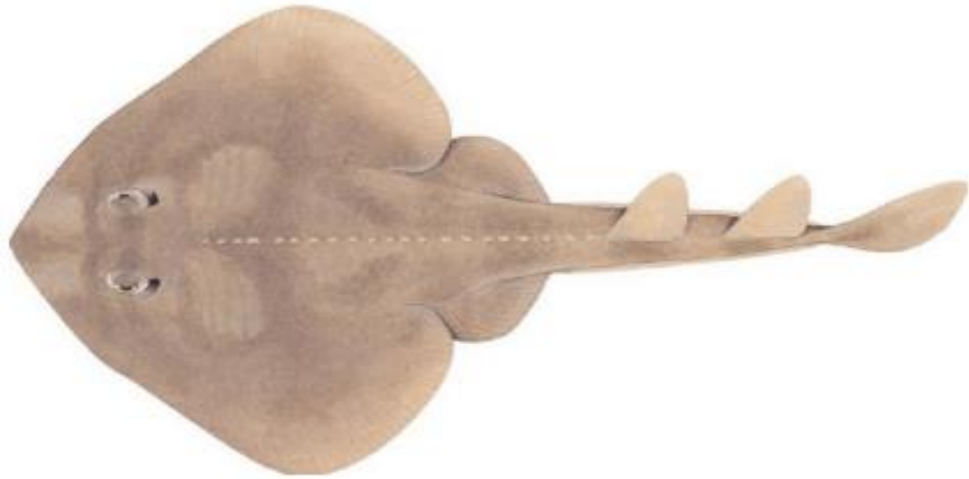
A respeito de *Zapteryx exasperata* pode-se ressaltar as seguintes características: É um Peixe-guitarra de tamanho médio a grande, os machos amadurecem em 64-70 cm TL, fêmeas em 57-77 cm (Last *et al*,2016), habita recifes rochosos, lagoas rasas e arenosas e águas próximas à costa, da zona entre marés até 200 m de profundidade, mas principalmente em profundidades entre 2,5 e 10 m (Feder *et al*. 1974; Villavicencio-Garayzar 1995; de la Cruz-Aguero *et al*. 1997; Ebert 2003). Não há informações concretas acerca do status de conservação de *Zapteryx exasperata* devido a deficiência de dados.

Atualmente, as duas espécies do gênero, bem como a linhagem ainda não descrita, encontram distribuição anfi-americanas. *Z. exasperata* e *Z. sp* estão distribuídas no Pacífico Leste da região da Califórnia ao norte do México para a primeira. Já *Z. sp* ocuparia a área anteriormente ocupada por *Z. xyster*, indo da região de Mazatlan ao Peru. Entretanto, para esta última, novos estudos para confirmação da ocorrência devem ser realizados (Last & Seret, 2016; Castillo-Páez

et al 2017). Já *Z. brevirostris* encontra-se restrita ao sudeste do Atlântico Sul Ocidental, desde o sudeste do Brasil, até o norte da Argentina, havendo registros históricos da espécie capturada no estado da Bahia.

Figura 5: Imagens com representantes do gênero *Zapteryx*

Figura 5.a - *Zapteryx brevirostris*



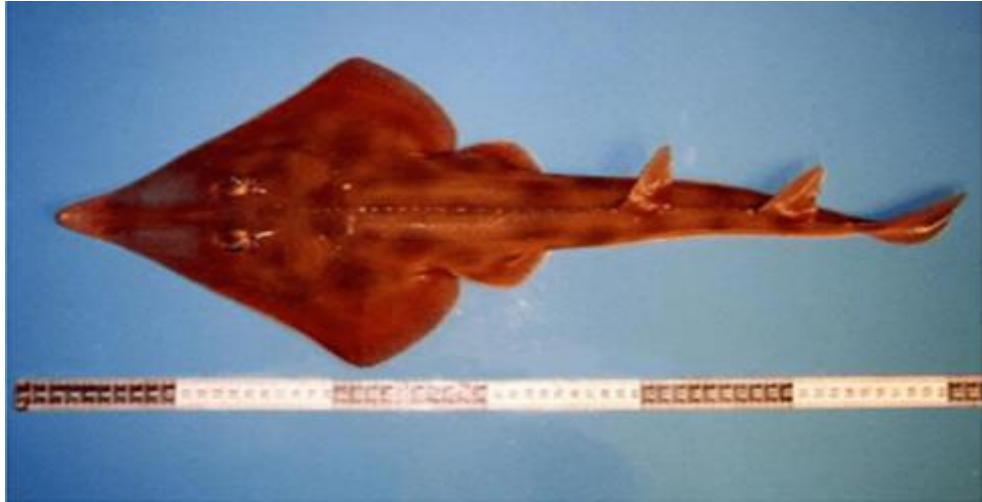
Fonte: Rays of the world (2016).

Figura 5.b - *Zapteryx exasperata*



Fonte: Rays of the world (2016).

Figura 6: Representantes das raias banjo, família Trygonorrhinidae:
Figura 6.a - Representante do gênero *Aptychotrema*, *Aptychotrema rostrata*



Fonte: Kyne, Peter M. Fishbase

Figura 6.b - Representante do gênero *Trygonorrhina*, *Trygonorrhina dumerilii*



Fonte: Stephen Donnellan. Shark References

Figura 6.c - Representante do gênero *Zapteryx*, *Zapteryx brevirostris*



Fonte: Carvalho Filho, Alfredo. Fishbase

1.3. FERRAMENTAS MOLECULARES PARA ELASMOBRÂNQUIOS

Estudos recentes indicam que elasmobrânquios morfologicamente crípticos podem ser comuns, principalmente em alguns grupos que mostram semelhanças ontogenéticas em variação e padrão de cor entre espécies diferentes. Por exemplo, uma revisão recente do "Complexo ray whiptail" descobriu que padrões de coloração modificados com estágio de vida e diferentes habitats, dificultam a identificação das espécies em campo. (PEREYRA et al., 2012) As raias são exploradas diretamente ou indiretamente, na pesca comercial, no entanto, dados detalhados sobre o desembarque e de capturas como fauna acompanhante são, muitas vezes, escassos. Avaliações globais de pesca de batóides indicam que na maioria dos casos são grandes lacunas na informação biológica básica necessária para programar planos estratégicos de gestão para as unidades populacionais, e a sobre-pesca foi sugerida como uma das razões fundamentais para o declínio e extinção de populações de raias e tubarões em ambos os hemisférios (RODRIGUES-FILHO et al., 2009; PINHAL et al., 2012; TAVARES et al., 2013).

Embora a abordagem de DNA barcoding tenha seus críticos quando apresentado como uma solução para os obstáculos apresentados pela taxonomia

tradicional, ele potencialmente fornece um meio rápido e confiável para confirmar a identificação de indivíduos no campo, e para identificar grupos em que há discordância na delimitação de fronteiras entre as espécies. (PEREYRA *et al.*, 2012). Nos últimos anos, o aumento da utilização de técnicas moleculares principalmente em estudos relacionados a elasmobrânquios tem aumentado a disponibilidade de dados que auxiliam tanto na identificação de novas espécies, como status de variabilidade genética populacional de estoques ao longo do mundo, dados estes que servem como fontes para medidas de conservação (DUDGEON *et al.*, 2012; BESTER-VAN DER MERWE & GLEDHILL, 2015).

As ferramentas moleculares, incluindo marcadores genéticos bem como dados genotípicos, geram dados que podem ser úteis na compreensão dos processos evolutivos de espécies que moldaram as populações atuais de diferentes espécies (PORTNOY and HEIST, 2012; OVERDEN *et al.*, 2015). Além destas aplicabilidades, métodos moleculares podem ser usados para identificar a composição de espécies que são alvos de indústrias pesqueiras ou pescarias artesanais (DOUKAKIS *et al.*, 2011; SEMBIRING *et al.*, 2015), incluindo espécies ameaçadas de extinção e com seu status de pesca proibido (PALMEIRA *et al.*, 2013).

A investigação das relações filogenéticas dentro dos grupos de elasmobrânquios também tem sido alvo de constantes investigações, devido ao fato de demonstrar tanto o posicionamento das espécies dentro de diferentes níveis taxonômicos (espécie, gênero, família), como a presença de espécies morfológicamente muito similares, porém geneticamente distintas (LIM *et al.*, 2016, LAST *et al.*, 2016, WHITE and NAYLOR, 2016). Para as espécies do continente sul-americano, a quantidade de trabalhos filogenéticos com elasmobrânquios desta região ainda é limitada (RODRIGUES FILHO *et al.*, 2009; PINHAL *et al.*, 2012), principalmente quando focado diretamente em uma família ou gênero específico (TAVARES *et al.*, 2013). Além destes as reações em cadeia da polimerase (PCRs) e genes específicos como, por exemplo, o gene mitocondrial da citocromo oxidase c (COI) são muito utilizados pela comunidade científica para identificação molecular de espécies como as análises realizadas por Rodrigues filho *et al.* (2020) de raias comercializadas ao longo da costa amazônica brasileira e também em estudos de

filogeografia como o realizado por Sales *et al* (2019) que permitiu a investigação de espécies de raias da costa atlântica do Brasil e da costa do Pacífico do México e que as mesmas fossem relacionadas com espécimes analisados de outras regiões, além de definir com mais precisão a área de ocorrência das mesmas .

2. JUSTIFICATIVA

Atualmente os membros do gênero *Zapteryx* são atualmente os segundos entre os membros do grupo de elasmobrânquios com maior risco de extinção bem como relações filogenéticas das espécies contidas no gênero, pouco estudadas até o presente.

O presente estudo é o primeiro a inferir a relação filogenética de todas as espécies e linhagem dentro deste gênero americano bem como a posição filogenética do mesmo dentro da família Trygonorridae, e desta forma, almeja-se o levantamento de dados concretos acerca da reconstrução das relações filogenéticas do gênero *Zapteryx* o que pode fornecer indícios acerca da evolução do grupo no continente americano.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

- Realizar a primeira inferência filogenética do gênero *Zapteryx*, endêmico do continente americano com o intuito de investigar a história evolutiva do mesmo.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a presença de linhagens crípticas dentro de *Z.brevirostris*
- Investigar se o gênero *Zapteryx* é monofilético.

4. METODOLOGIA

4.1. AMOSTRAGEM

Amostras de tecido muscular foram obtidas de amostras de *Z. brevirostris* coletadas em São Paulo e Santa Catarina como fauna acompanhante de pescarias de arrasto costeiro (Tabela 1). Os indivíduos foram identificados com base na chave de Last *et al* (2016). Uma parte deles (indivíduos de São Paulo), foram posteriormente fixados em formalina a 10% e armazenados na coleção ictiológica da Universidade Santa Cecília, Santos-SP. Sequências de *Trygonorrhina fasciata* (Muller & Henle, 1841), *Aptychotrema rostrata* (G.Shaw, 1794), *Rhinobatos glaucostigma* (Jordan & Gilbert, 1883), *Glaucostegus typus* (Bennett, 1830), *Rhyncobatus djiddensis* (Forsskal, 1775), *Pristis pechinata* (Lathan, 1794) e *Prisitipristis* (Linnaeus, 1758), foram utilizadas como grupos externos para enraizamento e direcionamento do *outgroup* nas nossas análises filogenéticas. Adicionalmente as amostras *Zapteryx* do presente estudo, utilizadas no presente estudo, sequências das outras espécies de *Zapteryx* foram baixadas no portal Genbank e implementadas no banco de dados do presente estudo (figura 7).

Tabela 1 - Código, espécie, família, localidade de origem e código de acesso do Genbank das amostras utilizadas.

Código	Espécie	Família	Localidade	Número de Acesso Genbank
649	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
650	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
651	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
653	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
654	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
655	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
656	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
657	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
658	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
659	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Imbituba-SC	Presente estudo
1467	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Ilha Comprida-SP	Presente estudo
1468	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Ilha Comprida-SP	Presente estudo
1473	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Ilha Comprida-SP	Presente estudo
1474	<i>Z. brevirostris</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Ilha Comprida-SP	Presente estudo
Zsp1	<i>Z. sp</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Oaxaca-México	KU756570
Zsp2	<i>Z. sp</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Oaxaca-México	KU756571
Zex13	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KX959530
Zex12	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KX959529
Zex11	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KU748380
Zex10	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810081
Zex9	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810080
Zex8	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810079
Zex7	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810078
Zex6	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810077
Zex5	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810076
Zex4	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810075
Zex3	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810074
Zex2	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810073
Zex1	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	KC810072
Zex	<i>Z. exasperata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Baja California-México	JQ518916
Aros	<i>Aptychotrema rostrata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Queensland- Austrália	JQ518906
TFas	<i>Trygonorrhina fasciata</i>	<i>Trygonorrhinidae</i>	Leste da Austrália	JN184081
Rgja	<i>Rhinobatos glaucostigma</i>	<i>Rhinobatidae</i>	Califórnia, USA	JN184075
Gtyp	<i>Glaucostegus typus</i>	<i>Glaucostegidae</i>	Norte da Austrália	JN184059
Rdji	<i>Rhynobatus djiddensis</i>	<i>Rhinidae</i>	Madagascar	JN184077
Ppec	<i>Pristis pectinata</i>	<i>Pristidae</i>	Veracruz-México	MF882494
Ppri	<i>Pristis pristis</i>	<i>Pristidae</i>	Austrália	MH005928

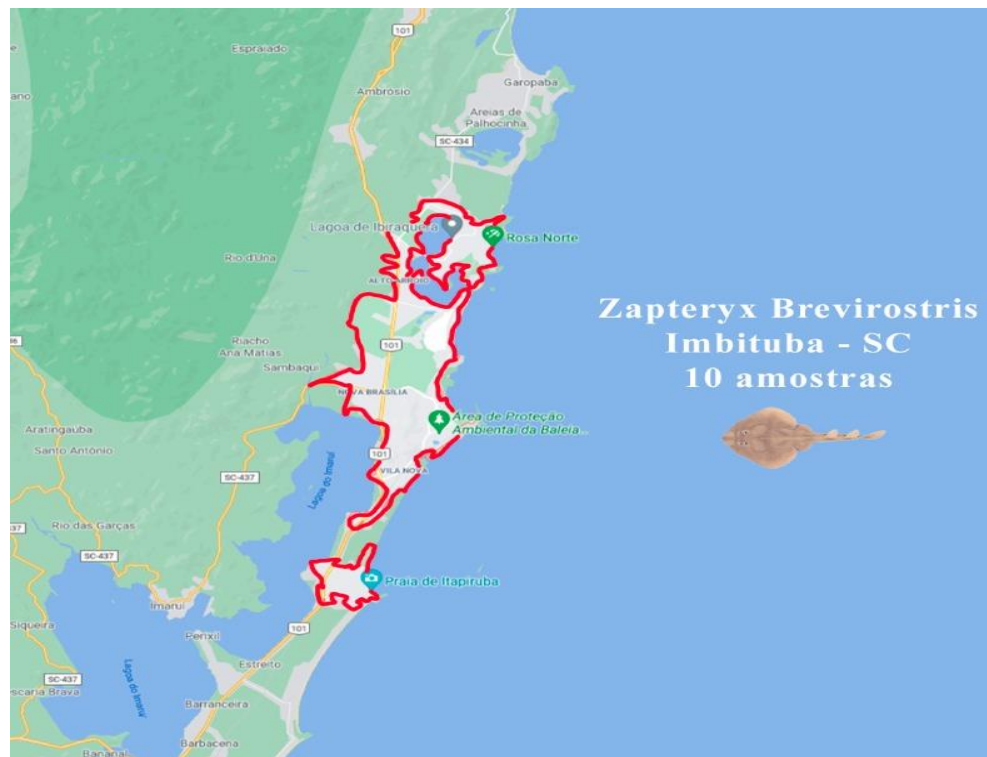
Figuras 7: Mapas ilustrando a distribuição geográfica de representantes do gênero *Zapteryx* utilizados no presente estudo. Imagem A e B: Distribuição de *Zapteryx brevirostris* (São Paulo, Santa Catarina) Imagem C: Distribuição de *Zapteryx exasperata* (Baja California- México).

Figura 7.a - Distribuição de *Zapteryx brevirostris* (São Paulo)



Fonte: Google Maps, com edição de Vandressa Regina.

Figura 7.b - Distribuição de *Zapteryx brevirostris* (Santa Catarina)



Fonte: Google Maps, com edição de Vandressa Regina.

Figura 7.c - Distribuição de *Zapteryx exasperata* (Baja California - México)



Fonte: Google Maps, com edição de Vandressa Regina.

4.2. MÉTODOS MOLECULARES

O DNA total foi extraído a partir do protocolo de extração CTAB para tecidos (Doyle & Doyle, 1987). Após a verificação do resultado positivo das extrações de DNA, as Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) foram realizadas com o par de iniciadores do gene NDAH2 utilizados por Castillo-Páez et al (2017), bem como as condições de amplificação. Os PCRs com resultados positivos foram previamente purificados com ExoSAP-IT (Amersham Pharmacia Biotech Inc.) sendo posteriormente sequenciados nos Sequenciador Automático ABI 3730. As sequências obtidas foram alinhadas através da ferramenta de alinhamento automático CLUSTALW (Thompson et al., 1997) implementada no programa BioEdit v. 7.0.4 (Hall, 1999)

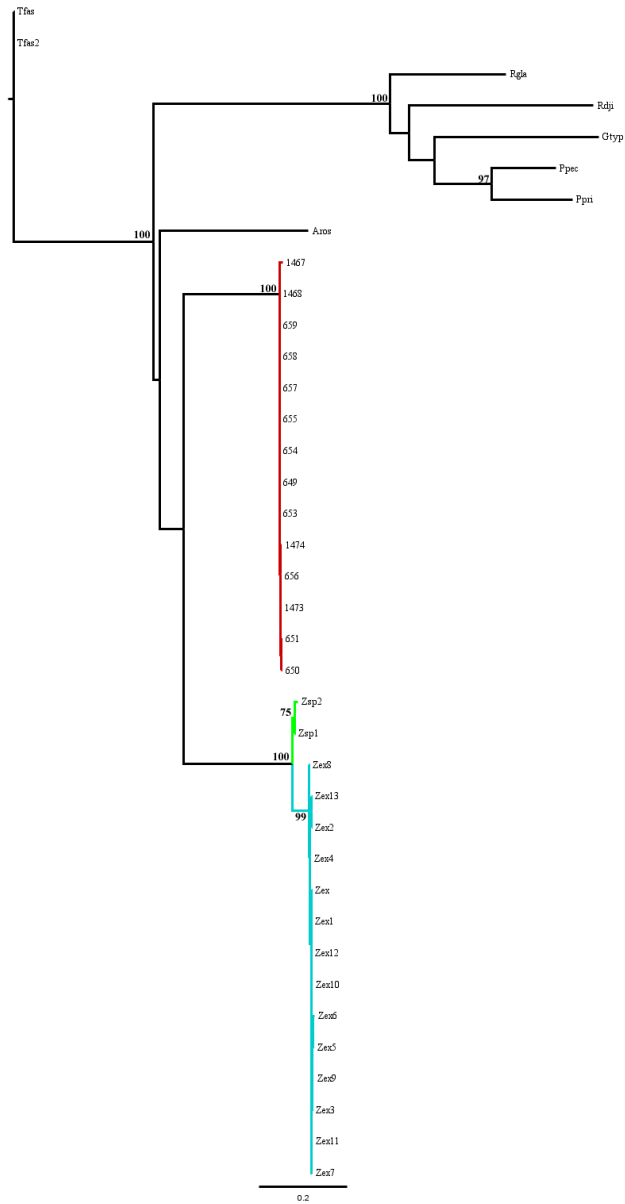
Posteriormente, as mesmas passaram por inspeção visual no intuito de verificar a necessidade de inserções de gaps ou exclusão de indels quaisquer incongruências. Os modelos evolutivos que melhor se adequaram ao nosso banco de dados foram estimados no programa ModelTest v. 2.3.1 (Darriba *et al.*, 2012), usando o critério AIC para determinar o melhor modelo evolutivo para as análises de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB). GTR+I+GeTrN+I foram selecionados para ML quanto e IB respectivamente. Dois métodos filogenéticos foram utilizados. Uma árvore de máxima verossimilhança (ML) foi construída no programa PhyML 3.0 (Guidon *et al.*, 2010), onde anteriormente, o modelo evolutivo que melhor representa as mutações do banco de dados foi selecionado no jModelTest 2 (Darriba *et al.*, 2012), tendo o suporte dos ramos apoiados por 1000 pseudo réplicas de bootstrap (Felsenstein, 1985).

Por fim, uma árvore de Inferência Bayesiana (IB) foi construída no programa Mr Bayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012), onde estas foram baseadas nas amostragens das Cadeias Markovianas de Monte Carlos (MCMC) as quais foram realizadas em quatro corridas simultâneas, cada uma constituída de quatro cadeias (uma fria e três aquecidas), num total de dez milhões de gerações. As probabilidades bayesianas foram selecionadas baseadas em 95% de consenso, com árvores iniciais selecionadas a cada 100 gerações. 10% destas foram descartadas de cada corrida.

5. RESULTADOS

As árvores filogenéticas foram inferidas com duas abordagens: Máxima Verossimilhança (ML) (Figura 8) e Bayesiana (IB) (Figura 9). As duas reconstruções filogenéticas utilizadas no presente estudo apresentaram topologias finais diferentes. Para a árvore de ML, os resultados obtidos revelaram que a Família Trygonorrhinidae não foi recuperada como monofilética, tendo as amostras do gênero *Trygonorrhina* sendo recuperadas como mais derivadas em relação às famílias utilizadas no presente estudo, entretanto, sem suporte estatístico alto, bem como, o posicionamento da *Aptychotrema* como o gênero mais derivado dentro da família Trygonorrhinidae. *Z. exasperata* foi recuperada mais proximamente com *Z. sp* com altos valores de suporte (100).

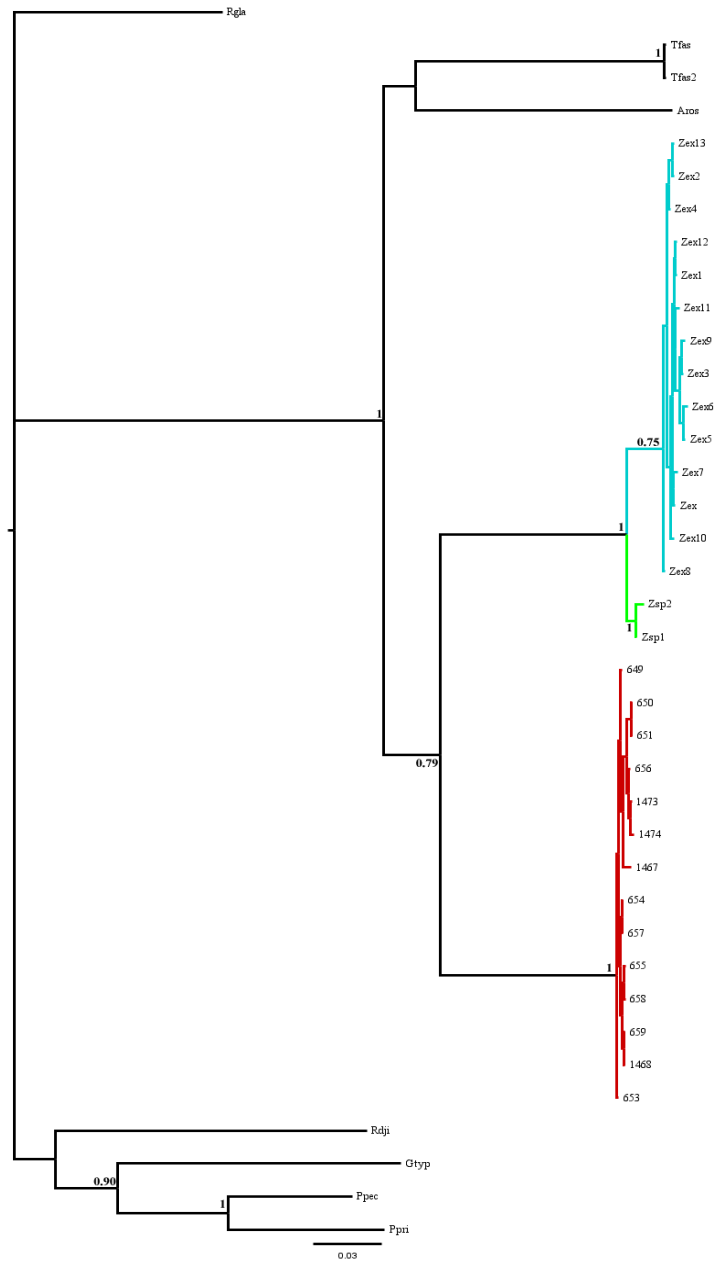
Figura 8 - Árvore baseada na inferência de máxima verossimilhança. As cores representam vermelho (*Z. brevirostris*), azul (*Z. exasperata*) e verde (*Z. sp.*). Apenas valores de suporte superiores a 70% são mostrados nos ramos.



Fonte: PhyML 3.0

A topologia de IB por outro lado, recuperou a monofilia da família Trygonorrhinidae, tendo *Aptychotrema* como a linhagem mais derivada dentro da família seguida por *Trygonorrhina* tendo este posicionamento dos dois gêneros, baixo suporte de probabilidades a posteriori. Diferentemente da topologia de ML, a árvore de inferência bayesiana recuperou a monofilia do gênero *Zapteryx*, tendo *Z. brevirostris* a linhagem mais derivada dentro do gênero, tendo moderado valor de suporte. Adicionalmente, *Z. brevirostris também* foi recuperada como espécie monofilética, não havendo estruturação entre as amostras de SP e SC utilizadas no presente estudo.

Figura 9 – Árvore baseada na inferência bayesiana. As cores representam vermelho (*Z. brevisrostris*), azul (*Z. exasperata*) e verde (*Z. sp.*). Apenas valores de suporte superiores a 70% são mostrados nos ramos.



Fonte: PhyML 3.0

6. DISCUSSÃO

O advento de filogenia molecular em larga escala nos últimos anos tem auxiliado a resolução tanto do posicionamento de espécies dentro de gêneros e famílias, quanto na validade genética ou não de espécies descritas utilizando-se apenas dados morfológicos, característica estas que, para muitos grupos de raias, se tem se mostrado pouco informativos (White *et al* 2013; Lim *et al* 2015; Last *et al* 2016; Petean *et al* 2020).

A família Trygonorrhinidae foi proposta por Last *et al* (2016) após revisão molecular realizada por Naylor *et al.* (2012). Naylor e colaboradores (2012) propuseram um novo grupo de nível de ordem (Rhinopristiformes) para incluir as famílias atualmente reconhecidas Pristidae, Rhinidae, Rhynchobatidae, Rhinobatidae e, possivelmente, a família Zanobatidae. Tais estudos possuem ampla cobertura de táxons para o gene NADH2, Aschliman *et al.* (2012), usando genes mitocondriais e nucleares, e estudos mais recentes de Naylor *et al.* e Yang *et al.* (2016)., usando o genoma mitocondrial e marcadores nucleares para uma amostragem ainda mais abrangente de táxons, corroboram que a família Rhinobatidae não é monofilética. Esses estudos consistentemente recuperam um subgrupo monofilético de gêneros rinobatídeos (Aptychotrema, Trygonorrhina e *Zapteryx*) que são polifiléticos dentro da família Rhinobatidae com base em sua definição atual.

O presente estudo é o primeiro a realizar uma inferência molecular com todas as espécies e linhagens do gênero *Zapteryx* mas também, com a maioria dos membros da Família Trygonorrhinidae. Nossos dados confirmam a validade genética de *Z. brevirostris* como linhagem evolutiva distinta. Entretanto, possivelmente, devido a utilização de apenas uma porção do gene mitocondrial NADH2, o posicionamento do gênero mais ancestral dentro de Trygonorrhinidae não foi recuperado com suporte estatístico robusto, tendo apenas estimativas parciais da separação entre *Zapteryx* e *Trygonorrhina* a aproximadamente 158 milhões de anos (Aschliman *et al* 2012), embora estudos mais recentes tenham sugerido um surgimento muito mais recente de aproximadamente 34 milhões de anos (Villalobos-Segura & Underwood, 2020)

Infelizmente, devido a indisponibilidade de sequências adicionais para outros marcadores para a família Trygonorrhinidae, não foi possível estimar o tempo de divergência do ancestral comum mais recente. Estudos adicionais contendo novas regiões gênicas são necessários para a estimativa da história evolutiva bem como, quais eventos biogeográficos auxiliaram na modelagem da distribuição dos membros da família Trygonorrhinidae bem como do gênero *Zapteryx*.

7. CONCLUSÃO

Baseado nos dados levantados pelo presente estudo conclui-se que *Zapteryx brevirostris* pode ser considerada uma espécie válida, também foi recuperada como monofilética de acordo com a Inferência bayesiana (IB). Como as duas reconstruções filogenéticas realizadas através de Inferência bayesiana (IB) e de Máxima Verossimilhança (ML) utilizadas no presente estudo apresentaram topologias finais diferentes percebe-se a necessidade de estudos posteriores utilizando marcadores e genes diferentes dos aqui utilizados para investigar se a ausência de variação molecular no gene ND2 pode ter sido um fator associados aos baixos valores de suporte (IB) ou para a topologia obtida pela árvore de ML (*Zapteryx* não monofilético). Por fim, o comprimento dos braços dos nós das árvores filogenéticas sugerem baseado do número de mutações acumuladas que, a primeira linhagem a divergir dentro do gênero *Zapteryx*, foram as linhagens do Pacífico Americano *Z. exasperata* e *Z.sp.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASCHLIMAN, N. C. et al. Body plan convergence in the evolution of skates and rays (Chondrichthyes: Batoidea). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 63, n. 1, p. 28–42, abr. 2012.

BRIGGS, J. C.; BOWEN, B. W. A realignment of marine biogeographic provinces with particular reference to fish distributions. **Journal of Biogeography**, v. 39, n. 1, p. 12–30, 20 out. 2011.

CALTABELLOTTA, F. P. *et al*, Age and growth of the threatened endemic skate *Rioraja agassizii* (Chondrichthyes, Arhynchobatidae) in the western South Atlantic, **Marine and Freshwater Research**, v. 70, n. 1, p. 84, 2019.

CASTILLO-PÁEZ, A. et al. Strong Population Structure and Shallow Mitochondrial Phylogeny in the Banded Guitarfish, *Zapteryx exasperata* (Jordan y Gilbert, 1880), from the Northern Mexican Pacific. **Journal of Heredity**, v. 105, n. 1, p. 91–100, 11 out. 2013.

CASTILLO-PÁEZ, A. et al. **Cutting through the Gordian knot: unravelling morphological, molecular, and biogeographical patterns in the genus *Zapteryx* (guitarfish) from the Mexican Pacific.** Disponível em: <[https://www.semanticscholar.org/paper/Cutting-through-the-Gordian-knot%3A-unravelling-and-Castillo-P%3%A1ez-Sandoval](https://www.semanticscholar.org/paper/Cutting-through-the-Gordian-knot%3A-unravelling-and-Castillo-P%3%A1ez-Sandoval-Castillo/7437949a8bf468c95e2c915804b465b7aa8bd8fe)

[Castillo/7437949a8bf468c95e2c915804b465b7aa8bd8fe](https://www.semanticscholar.org/paper/Cutting-through-the-Gordian-knot%3A-unravelling-and-Castillo-P%3%A1ez-Sandoval-Castillo/7437949a8bf468c95e2c915804b465b7aa8bd8fe)>. Acesso em: 15 jun. 2021

CASTRO, J.I. The Position of Sharks in Marine Biological Communities An Overview. In: COOK, S. (edit.). *Sharks. An Inquiry into Biology, Behavior, Fisheries and Use. Proc. of a Conf. Protland.* Oregon, State University Extension Service, p.11-17. 1987.

COMPAGNO, L.J.V. 1990. Shark exploration and conservation, p. 391-414. In: Pratt, H.L.; Gruber, S.H.; Taniuchi, T. (Eds). *Elasmobranch as Living Resources: advances in biology, ecology and systematics, and the status of fisheries.* **NOAA Technical Report NMFS**, USA.

CSIRO PUBLISHING. **Rays of the World.** Disponível em: <<https://www.publish.csiro.au/book/7053/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

Davidson, L. N. K., & Dulvy, N. K. (2017). Global marine protected areas to prevent extinctions. **Nature Ecology & Evolution**, 1(2), 0040. doi:10.1038/s41559-016-0040

DE LA CRUZ - AGÜERO J, M ARELLANO, VM COTA & G DE LA CRUZ - AGÜERO. 1997. Catálogo de los peces marinos de Baja California Sur, 346 p. **CONABIO-IPN**, México, D.F.

Document card | FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/0c784a13-6696-4180-a768-bee7f6976467/>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

DOYLE JJ, DOYLE JL (1987) :A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochem Bull** 19:11–15

ELLIS, J. R.; MCCULLY PHILLIPS, S. R. ; POISSON, F., A review of capture and post release mortality of elasmobranchs, **Journal of Fish Biology**, v. 90, n. 3, p. 653–722, 2016.

FABINYI, Michael ; LIU, Neng, Seafood Banquets in Beijing: Consumer Perspectives and Implications for Environmental Sustainability, **Conservation and Society**, v. 12, n. 2, p. 218, 2014.

DA SILVA FERRETTE, Bruno Lopes *et al*, DNA-based species identification of shark finning seizures in Southwest Atlantic: implications for wildlife trade surveillance and law enforcement, **Biodiversity and Conservation**, v. 28, n. 14, p. 4007–4025, 2019.

FEDER, H. H.; NAFTOLIN, F. ; RYAN, K. J., Male and Female Sexual Responses in Male Rats Given Estradiol Benzoate and 5 α -Androstan-17 β -ol-3-one Propionate, **Endocrinology**, v. 94, n. 1, p. 136–141, 1974.

FEITOSA, L. M.; MARTINS, A. P. B.; NUNES, J. L. S. Sawfish (Pristidae) records along the Eastern Amazon coast. **Endangered Species Research**, v. 34, p. 229-234, 2017

FLOETER, S. R. et al. Atlantic reef fish biogeography and evolution. **Journal of Biogeography**, v. 0, n. 0, p. 071009214220004-???, 9 out. 2007.

FLOWERS, K. I. et al. Site affinity of whitespotted eagle rays *Aetobatus narinari* assessed using photographic identification. **Journal of Fish Biology**, v. 91, n. 5, p. 1337–1349, 9 out. 2017.

G. NAYLOR et al. **Phylogenetic Relationships among the Major Lineages of Modern Elasmobranchs**. Disponível em:

<<https://www.semanticscholar.org/paper/Phylogenetic-Relationships-among-the-Major-Lineages-NaylorRyburn/3daa2e72bfd84a75df3b399c1fd3a7553af4f37e>>.

GRUBER, S.H. Life style of sharks. In: Gruber, S.H. (ed.) **Discovering sharks**. **American Litoral Society**, Special Publication 14. 1990.

HENRIQUE, L. Análise da variabilidade e estruturação genética do tubarão-azul, *Prionace glauca* (Chondrichthyes, Carcharhinidae) na costa brasileira, utilizando marcadores microssatélites. **Unesp.br**, p. 66 f., 2014.

LAST, PETER R.; WHITE, WILLIAM T. ; KYNE, PETER M., *Urogymnus acanthobothrium* sp. nov., a new euryhaline whipray (Myliobatiformes: Dasyatidae) from Australia and Papua New Guinea, **Zootaxa**, v. 4147, n. 2, p. 162, 2016.

LIM, Kean Chong *et al*, Molecular and Morphological Analyses Reveal Phylogenetic Relationships of Stingrays Focusing on the Family Dasyatidae (Myliobatiformes), **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0120518, 2015.

MARIGUELA, T. C. et al. Identification of guitarfish species *Rhinobatos percellens*, *R. horkelli*, and *Zapteryx brevirostris* (Chondrichthyes) using mitochondrial genes and RFLP technique. **Conservation Genetics Resources**, v. 1, n. 1, p. 393–396, 11 set. 2009.

MENDONÇA, F.F. **Estudo da estrutura populacional de gênero *Rhizoprionodon* (Chondrichthyes, Carcharhinidae) na costa brasileira, utilizando marcadores moleculares do DNA mitocondrial**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. 140p.

MOORE, A. Are guitarfishes the next sawfishes? Extinction risk and an urgent call for conservation action. **Endangered Species Research**, v. 34, p. 75–88, 21 jul. 2017.

NAYLOR, G.J.P. & CAIRA, J.N. & JENSEN, K. & ROSANA, K.A.M. & STRAUBE, N. & LAKNER, C. (2012); Elasmobranch Phylogeny: A Mitochondrial Estimate Based on 595 Species. In: Carrier, J.C. & Musick, J.A. & Heithaus, M.R. (eds) *Biology of Sharks and their Relatives*, Edition 2. **CRC Press, Boca Raton**, Florida: 31–56

PETEAN, Flávia de Figueiredo. Evolução e biogeografia do gênero de raias marinhas *Hypanus Rafinesque, 1818 (Myliobatiformes, Dasyatidae)*. 2020. 142f. Tese (Doutorado em Sistemática e Evolução) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020.

RODRIGUES FILHO, Luis Fernando da Silva *et al*, Molecular identification of ray species traded along the Brazilian Amazon coast, **Fisheries Research**, v. 223, p. 105407, 2020.

ROSA, Ricardo S. ; GADIG, Otto Bismarck Fazzano, Conhecimento da diversidade dos Chondrichthyes marinhos no Brasil: a contribuição de José Lima de Figueiredo, **Arquivos de Zoologia**, v. 45, n. esp, p. 89, 2014.

SALES, J. B. L. *et al*. Phylogeography of eagle rays of the genus *Aetobatus*: *Aetobatus narinari* is restricted to the continental western Atlantic Ocean. **Hydrobiologia**, v. 836, n. 1, p. 169–183, 3 abr. 2019.

SCHULTZ, J. K. *et al*. Global phylogeography and seascape genetics of the lemon sharks (genus *Negaprion*). **Molecular Ecology**, v. 17, n. 24, p. 5336–5348, dez. 2008.

VALERIO-VARGAS, J.; M. ESPINOZA. **A beacon of hope: distribution and current status of the largetooth sawfish in Costa Rica**. Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/A-beacon-of-hope%3A-distribution-and-current-status-Valerio-Vargas>

Espinoza/80f4f6a3eb63540b8796ed3bd896ba28fcd3c54e>. Acesso em: 15 jun. 2021.

VILLAVICENCIO-GARAYZAR, C. 1995. Biología reproductiva de la guitarra pinta, *Zapteryx exasperata* (Pisces: Rhinobatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. **Ciencias Marinas**, 21(2): 141–153.

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, n. 3, p. 837–1037, 2016.

WHITE WT, EBERT DA, NAYLOR GJP, HO HC, CLERKIN P, VERI´SSIMO A, COTTON CF. (2013). Revision of the genus *Centrophorus* (Squaliformes: Centrophoridae): Part 1 – redescription of *Centrophorus granulosus* (Bloch &

Schneider), a senior synonym of *C. acus* Garman and *C. niaukang* Teng. **Zootaxa** 3752: 035–72.

WORM, BORIS *ET AL*, Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks, **Marine Policy**, v. 40, p. 194–204, 2013.

WOSNIACK, MARINA E *et al*, **Adaptation of spontaneous activity in the developing visual cortex**, eLife, disponível em: <<https://elifesciences.org/articles/61619>>, acesso em: 21 Jul. 2021.

YANG, Lei *et al*, Characterize the relationship between essential and TATA-containing genes for *S. cerevisiae* by network topologies in the perturbation sensitivity network, **Genomics**, v. 108, n. 3-4, p. 177–183, 2016.

