

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU



**Identificação Genética de Espécies de
Tubarões e Monitoramento da Pesca no
Litoral de São Paulo**

Juliana Silvério

Botucatu-SP

Maio/2010

Juliana Silvério

**Identificação Genética de Espécies de
Tubarões e Monitoramento da Pesca no
Litoral de São Paulo**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu – Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Zoologia

Orientador: Prof. Dr. Fábio Porto Foresti

Botucatu-SP

Maio/2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO

DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Silvério, Juliana.

Identificação genética de tubarões e monitoramento da pesca no litoral de São Paulo / Juliana Silvério. - Botucatu, 2010

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2010

Orientador: Fábio Porto Foresti

Assunto CAPES: 20200005

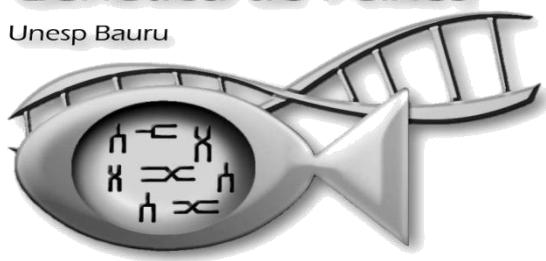
1. Tubarão – Pesca. 2. Reação em cadeia de polimerase. 3. Genética.

Palavras-chave: Citocromo Oxidase subunidade I; Identificação genética; PCR-multiplex; Pesca de tubarões

Laboratório de

Genética de Peixes

Unesp Bauru



Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

UNESP - Botucatu - SP



... dedico essa dissertação aos meus pais Hélio e Deuza, aos meus irmãos Marcelo e Patrícia, e ao meu sobrinho e afilhado Igor... pessoas que amo e que sempre me estimularam a dar este grande passo, pessoas de sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação estiveram ao meu lado me encorajando nas horas mais difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Sem o amor, carinho, alegria e apoio de vocês eu jamais conseguiria...

Amo vocês FAMÍLIA!!!

"Para cultivar a sabedoria, é preciso força interior. Sem crescimento interno, é difícil conquistar a autoconfiança e a coragem necessárias. Sem elas, nossa vida se complica. O impossível torna-se possível com a força de vontade"

(Dalai Lama)

Agradecimentos

Escrever os agradecimentos é mais difícil do que redigir a dissertação. Não tenho dúvidas. Diversas pessoas colaboraram direta ou indiretamente para a realização do trabalho, com sugestões, idéias, críticas e opiniões. Outros contribuíram com amizade, carinho e afeto, provavelmente os ingredientes mais importantes para um bom trabalho. Temendo esquecer alguém, agradeço a todos que conviveram comigo nesses dois últimos anos. Gostaria de destacar algumas pessoas que foram especialmente importantes.

Primeiramente a Deus por iluminar o meu caminho, me dando saúde e força para seguir sempre em frente

Ao Prof. Dr. Fausto Foresti por abrir as portas e me dar à oportunidade de realizar o mestrado e pela dedicação e carinho dado a todos os seus alunos

Ao Prof. Dr. Fábio Porto Foresti pela orientação mesmo a alguns km de distância, pelo apoio e confiança depositados.

Ao Prof. Dr. Cláudio de Oliveira, pelo exemplo como excelente pesquisador e sempre tão dedicado aos alunos

Ao meu pseudo co-orientador Fernando Mendonça (Konrado) por toda ajuda que me deu tanto em bancada como nas correções dos trabalhos e pelas coletas. Suas "pancadas" me fizeram crescer como pessoa e como profissional e sabe a menina de ouro? Um dia chegarei lá, ainda estou em constante treinamento

Aos técnicos de laboratório Renato Devidé, Ricardo Teixeira, Zé Eduardo e Vicente, sempre prontos pra ajudar e trazendo alegria, em especial ao Renato que mesmo aqueles dias em que não saía um sorriso do seu rosto ele conseguia arrancar e também pela ajuda nas coletas, e ao Ricardo sempre com uma frase ou pensamento que nunca te deixava pra baixo.. Obrigada

Ao Instituto de Biociências e ao Departamento de Morfologia pela estrutura oferecida para a realização deste trabalho

Aos amigos da seção de Pós-Graduação Luciene e Heri pela paciência, compreensão e momentos de descontração, e também por ouvir minhas lamentações

A secretaria do Departamento de Morfologia, Luciana pela ajuda, paciência e as funcionárias D. Tera, Vanda e D. Yolanda pelas conversas, exemplo de vida, e pelo delicioso café que salvava nos dias da preguiça

Ao Diogo do Laboratório de Genética de Peixes de Bauru pelas coletas realizadas no município de Santos, e ao Bruno (Guiodai) pela essencial ajuda na coleta de Cananéia, pela sua amizade, companheirismo, conselhos, desabafos você é um amigo especial

Aos amigos companheiros de Pós-Graduação do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes pela excelente convivência, companheirismo, e ajuda ao longo desses dois anos: Alex (Alf), Aline, Andréia Alves, Bruno (Chiuaua), Bruno (Pitera), Celso, Cristiane, Daniela, Débora, Elisa, Emanuel, Gláucia, Gleisy, Guilherme (Varvito), Gustavo, Hernesto, Kelly, Lessandra, Lu (Baiana), Luiz (Zirigue), Luis Henrique (Japa), Maressa, Marlon, Patrícia, Raquel, Ricardo (Tarja), Tássia, Vivi, Waldo

Aos amigos mais que companheiros aqueles que são pau pra toda obra Victor (Morfo), Ricardo (Britzke), Vanessa, Jefferson (Menudo), Priscilla, Mahmoud, Ricardo Paiva, Zeca, vocês foram indispensáveis, obrigada pelos momentos maravilhosos de risadas e choros, pelos churrascos, pelo incentivo.. por tudo um agradecimento especial ao Fabio (Fio) por tanto que fez por mim, pelas risadas no corredor, por sua ajuda no laboratório quando eu já estava desesperada e também na ajuda com a parte escrita, obrigada mesmo

Aos amigos do Laboratório de Ecologia de Peixes Ana, Igor (Brecha), Heleno, Felipe (Limão), Otilie, e ao Prof. Dr. Edmir, pelo apoio, conversas jogadas fora, pelo café, e pelas confraternizações de laboratório

Aos grandes amigos e pessoas que conheci durante esses dois anos e que vão estar pra sempre na minha memória em especial Augusto (Zanattinha), Gustavo (Khaledinho), Dani, Fabinho, Yuldi, Dani (Trafi), Gregório, Débora, Rodrigo (Japonês), Carol, André (Sabor), Bruno (Gamba), Fabrício (Facão),

obrigada pelas viagens inesquecíveis, pelos churrascos, sem vocês o que seriam dos meus finais de semana em Botucatu?

Aos meus amigos de Bandeirantes-PR, em especial a Jamila, minha irmãzinha, que fizeram muitos dos meus finais de semana mais felizes e quando pensava em desistir de tudo estavam ao meu lado me incentivando e me dando força pra continuar

Às minhas flores, as irmãs Natália e Vanessa, duas irmãs divinas que fez os meus dias em Botucatu ficarem melhores, alegrias, risadas, desabafos, momentos de tensão, alegria, tristeza, raiva, as jantas só para mulheres, nossa quanta coisa que compartilhamos juntas, considero-as como minhas irmãs também, mesmo longe meu pensamento sempre vai estar com vocês, amo muito!

A minha irmãzinha e companheira de república Carol (Magrela), obrigada seria pouco para agradecer tudo o que fez por mim e por tudo o que passamos esse tempo, amizade de anos que mesmo com algumas crises perdura e perdura afinal que irmã que não briga.. rsrs.. obrigada por me compreender, por me fazer rir, por me incentivar sempre, você é muito especial pra mim, amo você!!

Aos meus irmãos Patrícia e Marcelo, ao meu sobrinho Igor e aos meus cunhados Fabrício (Kbção) e Annamaria, por todo incentivo, amor, alegria, compreensão, preocupação, a presença de vocês foi fundamental para o término de mais uma etapa

Aos meus pais Hélio e Deuza a vocês que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, que iluminaram os caminhos obscuros com afeto e dedicação para que trilhasse sem medo e cheia de esperança, que se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos para que muitas vezes pudessem realizar os meus, obrigado por toda compreensão por me darem força todos os dias de minha vida, obrigada Deus, pois eu tenho os melhores pais do mundo!!! Amo muito vocês!!!

Ao CNPq pelo apoio financeiro

"Eu poderia suportar, embora não sem dor, que tivessem morrido todos os meus amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos
(Vinícius de Moraes)"

A todos, muito obrigada!!!

Resumo

Dados estatísticos do IBAMA/MMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) sobre a exploração pesqueira de elasmobrânquios no Brasil registraram no ano de 2007 a captura de 17.900 toneladas, sendo 12.578 toneladas somente de tubarões, um aumento de 11,35% em relação a 2006. Contudo, as dificuldades na identificação morfológica de muitas espécies de tubarões exploradas pela pesca, associada à prática bastante usual de remoção da cabeça e das nadadeiras dos animais, na maioria das vezes antes mesmo do desembarque, tem resultado em uma escassez global de informações sobre captura e comercialização, tornando quase impossível a avaliação de seus efeitos. De acordo com os relatórios a respeito da produção pesqueira apresentados pelo IBAMA nos últimos anos, apenas 22% de todos os tubarões capturados no Brasil recebem algum tipo de classificação, ainda assim, relacionando apenas um nome popular que em muitos casos refere-se a mais de uma espécie. Por outro lado, dados referente a identificação molecular do tipo PCR-multiplex, que identificam características genéticas particulares de cada táxon estão atualmente sendo desenvolvidos e utilizados no reconhecimento espécie-específico possibilitando, a identificação simultânea de diversas amostras. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a captura e comercialização de tubarões na região Norte do Litoral Paulista. Os resultados apresentados a partir da utilização da técnica da PCR-multiplex a partir do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I em 1000 amostras coletadas em desembarques do litoral do estado de São Paulo, possibilitou, a identificação de 837 amostras. A partir desses dados foram observadas as freqüências relativas por espécie para avaliação de captura e comercialização de tubarões nos municípios de Cananéia, Santos e Ubatuba. Para o município de Santos foi possível identificar cinco diferentes espécies: *P. glauca*, *A. vulpinus*, *S. lewini*, *R. lalandii* e *R. porosus*, no município de Ubatuba foi registrado a ocorrência de quatro diferentes espécies nos desembarques: *P. glauca*, *I. oxyrinchus*, *R. lalandii* e *S. lewini* e no município de Cananéia foram encontradas três diferentes espécies: *R. lalandii*, *R. porosus* e *S. lewini*, a demanda de produtos de elasmobrânquios se mostrou maior no município de Santos, o que mostra que esta localidade merece maior atenção em relação a conservação e manejo da espécies mais exploradas, e a técnica de PCR-Multiplex se mostrou viável para identificação das amostras. Além da caracterização da exploração pesqueira regional o uso de técnicas moleculares de identificação viabiliza estatísticas mais abrangentes determinando os níveis de exploração por espécie e permitindo a aplicação de planos de manejo e a ordenação da exploração pesqueira.

Palavras-chave: pesca de tubarões, identificação genética, PCR-multiplex, Citocromo Oxidase subunidade I.

Abstract

Statistics IBAMA/MMA (Brazilian Institute of Environment and Renewable Natural Resources) on fisheries exploitation of elasmobranchs in Brazil report in 2007 catching 17 900 tonnes, with only 12 578 tonnes of sharks, an increase of 11.35 % compared to 2006. However, difficulties in morphological identification of many shark species exploited by fisheries, coupled with the rather usual practice of removing the head and fins of the animals, most often even before the landing, has resulted in an overall shortage of information on catch and marketing, making it nearly impossible to evaluate their effects. According to the reports about the fish production presented by IBAMA in recent years, only 22% of all sharks caught in Brazil receive some type of classification, yet only linking a popular name in many cases refers to more of a species. Considering the increasing fisheries exploitation technique was used in multiplex PCR-based gene miticindrial Cytochrome oxidase subunit I in 1000 samples collected from landings of the coastal state of São Paulo, which enabled the identification of 837 samples were observed by the relative frequencies species for evaluation of capture and trade of sharks in the municipalities of Cananéia, Santos and Ubatuba. For the city of Santos was possible to identify five different species: *P. glauca*, *A. vulpinus*, *S. Lewin*, *R. lalandii* and *R. porosus*, in Ubatuba was recorded the occurrence of four different species in the landings: *P. glauca*, *I. oxyrinchus*, *R. lalandii* and *S. lewini* and the municipality of Cananeia were found three different species: *R. lalandii*, *R. porosus* and *S. Lewin*, product demand elasmobranch was larger in the city of Santos, which shows that this town deserves greater attention in relation to conservation and management of the most exploited species, and Multiplex-PCR technique proved feasible for identification of samples. Besides the characterization of the regional fisheries exploitation of molecular techniques for identification enables more comprehensive statistics determining the levels of exploitation by species and allowing the implementation of management plans and the ordination of fisheries exploitation.

Keywords: shark fishing, genetic identification, PCR-multiplex, cytochrome oxidase subunit I.

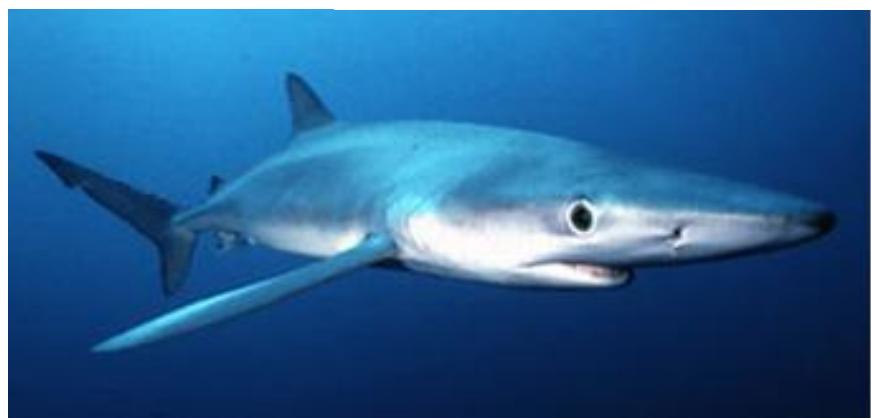
Lista de Tabelas e Figuras

Tabela 1. Quantidade de exemplares coletados por município.....	36
Tabela 2: Primers desenvolvidos para cada uma das 9 espécies e o tamanho das bandas geradas em gel de agarose.....	40
Tabela 3 - Caracterização das amostras de tubarão coletadas nos municípios de Ubatuba, Santos e Cananéia, entre 2007 e 2009, identificadas com marcadores genéticos específicos pela técnica de PCR-Multiplex.....	45
Figura 1- Pontos de coleta. Cananéia e Santos litoral sul de São Paulo e Ubatuba, litoral norte de São Paulo.....	35
Figura 2 - Mercado municipal de peixes no município de Ubatuba-SP, onde se encontram os “charutos” e filés de tubarões expostos para a venda.....	36
Figura 3 - Eletroforese em gel de agarose a 1%. Extração de DNA em amostras de tubarões sem nenhuma classificação quanto à espécie. M - Marcador de peso molecular 1Kb. 1-11 amostras coletadas no município de Ubatuba-SP.....	39
Figura 4 - PCR-multiplex para a identificação simultânea de 9 espécies comumente encontradas no litoral brasileiro. A espécie <i>Galeocerdo cuvier</i> apresenta banda de 50pb (1), <i>Prionace glauca</i> 100pb (2), <i>Carcharhinus falciformes</i> 140pb (3), <i>Isurus oxyrinchus</i> 280pb (4), <i>Rhizoprionodon porosus</i> 340pb (5), <i>Alopias vulpinus</i> 400pb (6), <i>Sphyrna lewini</i> 450pb (7), <i>Alopias superciliosus</i> 540pb (8), <i>Rhizoprionodon lalandii</i> 620pb (9) todas estas também amplamente exploradas pela pesca e apresentando problemas de identificação morfológica, marcador de peso molecular (M).....	42
Figura 5 – Frequência relativa por espécie das amostras capturadas e comercializadas em mercados municipais no município de Ubatuba litoral Norte do estado de São Paulo.....	46
Figura 6 - Freqüência relativa por espécie das amostras capturadas e comercializadas em mercados municipais no município de Santos, litoral do estado de São Paulo.....	47
Figura 7 - Freqüência relativa por espécie das amostras capturadas e comercializadas no município de Cananéia litoral Sul do estado de São Paulo.....	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 A Classe Chondrichthyes.....	16
1.2 A Pesca de Elasmobrânquios.....	18
1.3 Principais Características das Espécies com Maior Freqüência nos Desembarques.....	23
1.3.1 Ordem Carcharhiniformes.....	23
1.3.2 Ordem Lamniformes.....	27
1.4 Uso de Marcadores Moleculares no Estudo de Elasmobrânquios....	29
2. OBJETIVOS.....	34
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5. CONCLUSÕES.....	57
6. REFERÊNCIAS.....	59
7. ANEXOS.....	78
Anexo I.....	78
Anexo II.....	79
Anexo III.....	80
Anexo IV.....	81
Anexo V.....	82
Anexo VI.....	83

INTRODUÇÃO



1 INTRODUÇÃO

1.1 A Classe Chondrichthyes

Os tubarões, juntamente com as raias e quimeras, pertencem à classe Chondrichthyes. Tubarões e raias pertencem à subclasse Elasmobranchii e as quimeras à subclasse Holocephali. Alguns autores consideram as quimeras como integrantes de uma classe distinta (Classe Holocephali), já que a história evolutiva das quimeras é pouco conhecida (Didier, 1995). Maisey (1986) apresenta 28 características morfológicas únicas aos Holocephali, que sustentam tal concepção sistemática.

Os Elasmobrânicos estão entre os vertebrados de maior sucesso evolutivo, com uma história de vida que se iniciou a cerca de 400 milhões de anos atrás ainda no período Devoniano (Castro, 1987).

A biodiversidade dos elasmobrânicos, de uma forma geral, ainda é pouco conhecida. De acordo com o último levantamento realizado por Ebert & Compagno (2007), o grupo dos tubarões é composto por 8 ordens, 34 famílias e aproximadamente 500 espécies, entre as raias são reconhecidas, 5 ordens, 20 famílias e cerca de 574 espécies (Compagno, 1999, 2005). Em águas brasileiras são reconhecidas 81 espécies de tubarões e 55 espécies de raias marinhas (Menezes, 2003).

Os tubarões geralmente apresentam corpo alongado e fusiforme, com nadadeiras peitorais destacadas da cabeça; cinco a sete pares de fendas branquiais situados nas laterais da cabeça. As raias, de modo geral, apresentam corpo achatado dorso-ventralmente e nadadeiras peitorais fundidas à cabeça formando um contorno único; cinco ou seis pares de fendas branquiais situados na parte ventral anterior do

corpo. A maioria das espécies apresenta modo de vida sedentário, associado ao substrato marinho, havendo várias espécies restritas à água doce (Ross & Schafer, 2000).

Estão distribuídos em todos os oceanos, em águas tropicais, subtropicais, temperadas e frias, desde regiões costeiras até grandes profundidades, ocupando numerosos ambientes, incluindo os recifais, estuarinos, demersais de talude e plataforma, pelágicos costeiros e oceânicos, desde a superfície até cerca de 3.000 m de profundidade. Ocupam tanto a coluna de água como os ambientes bentônicos. Todos os tubarões são marinhos, embora algumas espécies possam entrar em água doce (e.g., *Carcharhinus leucas*, Müller & Henle, 1839 e *Glyphis gangeticus*, Müller & Henle, 1839). *Carcharhinus leucas* pode penetrar em grandes sistemas de águas continentais, como o rio Amazonas, lago da Nicarágua, na Nicarágua, além de alguns rios africanos e asiáticos (Werder & Alhanati, 1981; Thorson, 1972; Compagno, 1984b).

Apresentam características biológicas que os tornam altamente vulneráveis às pressões cada vez mais intensas exercidas pela pesca, sobretudo aquela feita em grande escala. A maioria das espécies são K estrategistas, ou seja, apresenta ciclo de vida longo, com crescimento lento, baixa fecundidade relativa e maturidade sexual tardia (Hoenig & Gruber, 1990), características que constituem um fator que dificulta a reposição populacional em face da mortalidade excessiva imposta às suas populações pela pesca, sobretudo em decorrência da estreita relação entre a população explorada (estoque) e as classes etárias que incluem indivíduos recrutados (Holden, 1974).

O pequeno número de espécies conhecido reflete a baixa prioridade que têm os elasmobrânquios para os órgãos financiadores, em razão de não se constituírem, de modo geral, como alvo das pescarias. O número de espécies de elasmobrânquios conhecido, evidencia que o Brasil ainda está coletando informações sobre o grupo e

que a diversidade total de espécies no país ainda pode estar longe de ser conhecida, se mantidas as condições atuais das pesquisas (SBEEL, 2005).

1.2 A Pesca de Elasmobrânquios

Muitas populações de elasmobrânquios em todo o mundo estão em depleção devido à pesca, atividade esta que vem ocasionando ameaça de extinção para algumas espécies. Vários fatores podem contribuir para essa depleção, porém podemos destacar alguns fatores como a degradação dos ambientes costeiros em que se desenvolvem, a captura incidental (*by-catch*), que nos últimos anos vem sendo dirigida, o aumento do esforço de pesca, qualidade das embarcações e por fim a estratégia de vida das espécies (Camhi *et al.*, 1998).

A pesca accidental ou dirigida envolve o paradoxo de que os tubarões e raias têm baixo valor econômico, o que lhes confere baixa prioridade quando se considera pesquisa e conservação, ao passo que a demanda por subprodutos como barbatanas, é muito alta, estimulando o aumento da exploração (Bonfil, 1994).

Os elasmobrânquios apresentam um conjunto de problemas que dizem respeito à administração da pesca e conservação. As características de seu ciclo de vida fazem deles recursos frágeis, suscetíveis a sobrepesca. Além disso, modelos utilizados para a administração de pescarias tradicionais, não se aplicam a elasmobrânquios, tornando o gerenciamento desses recursos extremamente deficitário (Bonfil, 1994).

Dados estatísticos do IBAMA/MMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) sobre a exploração pesqueira de elasmobrânquios no Brasil registraram no ano de 2007 a captura de 17.900 toneladas, sendo 12.578 toneladas somente de tubarões (IBAMA, 2007).

Entretanto, tais dados são seguramente subestimados e não refletem o real estado da pesca, sobretudo no que se refere à captura por espécie, dado esse escasso nas estatísticas de pesca. Segundo os últimos relatórios do IBAMA referentes à exploração pesqueira marinha, apenas 22% de todos os tubarões capturados no Brasil recebem algum tipo de classificação científica, ainda assim, os dados relacionam apenas um nome popular, que na maioria dos casos refere-se a mais de uma espécie.

Num contexto global, devido à pesca predatória, várias espécies de elasmobrânquios têm sido incluídas na lista das espécies ameaçadas da International Union for Conservation of Nature e Natural Resources - IUCN (Camhi et al., 1998). No Brasil, diversos estudos embasam a inclusão nessa lista de espécies ameaçadas inclusive endêmicas como o tubarão-quati (*Isogomphodon oxyrhynchus*, Müller & Henle, 1839), o tubarão-boca-de-velha-listrado (*Mustelus fasciatus*, Garman, 1913), o tubarão-mangona (*Carcharias taurus*, Rafinesque, 1810), o tubarão-bico-de-cristal (*Galeorhinus galeus*, Linnaeus, 1758), o tubarão-anjo (*Squatina* spp.), o peixe-serra (*Pristis* spp.) e a raia-viola (*Rhinobatos horkelii*, Müller & Henle, 1841) (SBEEL, 2005).

O aumento dos volumes de elasmobrânquios capturados, devido à crescente aceitação comercial de seus produtos (nadadeiras, cartilagem, carne, entre outros), associado esgotamento de recursos tradicionais, faz com que o manejo dos estoques de elasmobrânquios se torne prioritário (Lessa et al., 1999).

A pesca de elasmobrânquios na região Sudeste do Brasil se caracterizava principalmente pela captura incidental dos indivíduos, entretanto com o declínio na abundância dos teleósteos, registrado a partir de 1985, esse grupo se tornou alvo da pesca industrial com arrastos e redes de emalhe na região. Estatísticas de desembarques (IBAMA) revelaram que tubarões e raias apresentaram, entre 1990 e

1998, produção média de 4.087,7 e 758 t, respectivamente, correspondendo a 3,9 e 0,7% da produção total da região (SBEEL, 2005).

No sudeste e sul do Brasil, os barcos de emalhe de superfície operam a partir de, pelo menos, 9 portos: Cabo Frio (RJ), Ubatuba (SP), Santos (SP), Cananéia (SP), São Francisco do Sul (SC), Itajaí-Navegantes (SC), Porto Belo (SC) e Florianópolis (SC). O número total de barcos operantes dessas localidades é desconhecido (SBEEL, 2005).

Atualmente, o estado de São Paulo responde pela captura de 60,8% dos tubarões explorados em toda a região sudeste, o que se deve às espécies oceânicas da pesca espinheira, sediada em Santos, e aos cações costeiros que, apenas neste estado, perfazem 75,7% do total dos elasmobrânquios desembarcados na região (SBEEL, 2005).

De acordo com os registros de captura de 2005, os desembarques de emalhe de superfície em São Paulo são compostos por: *Carcharhinus brevipinna* (Müller & Henle, 1839), *C. limbatus* (Valenciennes, 1839), *C. obscurus* (Lesueur, 1818), *C. porosus* (Ranzani, 1839), *C. signatus* (Poey, 1868), *Carcharhinus spp*, *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834), *S. zygaena* (Linnaeus, 1785), *S. mokarran* (Rüppell, 1837), *Carcharias taurus* e as raias *Mobula hypostoma* (Bancroft, 1831) e *Myliobatis spp*, todas consideradas espécies costeiras. No entanto, também ocorreram *P. glauca* (Linnaeus, 1758) e *Isurus oxyrinchus* (Rafinesque, 1810) que são espécies oceânicas e capturadas próximas ao talude continental (Kotas *et al.*, 1997).

Registros de captura no emalhe de fundo, mostraram a ocorrência de raias *Raja agassizi* (Müller & Henle, 1841), *R. castelnau*, (Ribeiro, 1907) e *R. cyclophora* (Regan, 1903), além dos tubarões *Carcharhinus plumbeus* (Nardo, 1827), *Rhizoprionodon porosus* (Poey, 1861), *Squalus cubensis* (Howell Rivero, 1936), *Squatina occulta* (Vooren & da Silva, 1991), *S. guggenheim* (Marini, 1936), *Mustelus*

schmitti (Springer, 1940) e *Sphyrna lewini*, sendo esta última a mais abundante nas pescarias com esse petrecho, tanto de fundo quanto de superfície.

A identificação das espécies desembarcadas, principalmente as espécies de pequeno porte, demonstra um grande problema na sua classificação correta, onde praticamente todas são classificadas apenas como cações.

No caso das raias, duas espécies (*Pteroplatytrigon* e *Mobula hypostoma*) são capturadas com espinhéis e desembarcadas em Santos (SP) (Amorim et al., 1998). As espécies que apresentam maior freqüência nas capturas, além de *P. glauca*, foram *Alopias superciliosus* (Lowe, 1840), *Carcharhinus longimanus* (Poey, 1861), *C. signatus*, *Isurus oxyrinchus*, *Sphyrna lewini* e *S. zygaena* que sofreram decréscimos nos desembarques relacionados também à prática do *finning*, processo de cortar as barbatanas de um tubarão, e depois, lançar o resto não utilizado da carcaça ao mar, é uma prática associada a um enorme desperdício e crueldade, contrariando todos os conceitos de conservação e pesca sustentável de tubarões.

Segundo relatório do GPE de atuns e afins, os tubarões chegaram a atingir 62,5% das capturas com espinhéis, em 1993, com média de 44% entre 1977 e 1997. Vooren (1997) estimou que a frota espinheira do Sudeste e Sul foi responsável, conjuntamente, pela captura de 186.000 exemplares de tubarões, em 1997, dos quais 156.000 foram descartados através do *finning*. Este número indica que 83% dos tubarões capturados não chegaram a ser desembarcados, o que implica que estatísticas pesqueiras não representam à produção real.

Em 1998, com o aumento do valor comercial do espadarte (*Xiphias gladius*, Linnaeus, 1758), a frota espinheira de Santos, se dirigiu a captura desta espécie com barcos arrendados, o que também provocou o aumento nas capturas de tubarões, que por muitas vezes, devido ao baixo valor para a carne em contraste com o alto valor das nadadeiras no mercado internacional, os tubarões têm apenas suas nadadeiras

cortadas e o restante das carcaças são jogados fora, até mesmo com o animal ainda vivo.

Desta forma, observou-se que o número de tubarões desembarcados não corresponde à captura, sendo sabido que os espécimes dos espinhéis representam de 50 a 60% do total capturado, percentual maior, inclusive, que o de espadartes e atuns, na década de 1990 (Paiva, 1997; Amorim *et al.*, 1998; Hazin *et al.*, 1998;).

Mesmo com a crescente conscientização sobre a vulnerabilidade à exploração pesqueira da maioria das espécies de tubarões (Castro *et al.*, 1987; Camhi *et al.*, 1998) e sobre a notória prática extremamente predatória do “finning” perpetuada em todo o mundo, trabalhos de controle e manejo da exploração das espécies deste grupo são raros, tendo como maior entrave à falta de informações básicas sobre captura, desembarque e comercialização. Essa escassez de dados é gerada principalmente pela ineficiência na identificação da maioria das espécies pescadas.

De um modo geral, a pesquisa no Brasil não vem acompanhando a necessidade real, devido às características biológicas e à inexistência de política de conservação para os elasmobrânquios, que têm alcançado o ponto de colapso sem que medidas de manejo tenham sido tomadas, mesmo tendo vários exemplos desse fato registrados no país (Kotas *et al.*, 1995; Vooren, 1997).

Ao longo do tempo, a postura adotada pelos órgãos governamentais resguarda os interesses da exploração, evitando questionamentos sobre conservação. Essa postura contrasta com as observadas nos demais países onde esse tipo de pescaria é objeto de pesquisa, o que pode ser comprovado pelo crescente número de trabalhos científicos publicados (e.g. Buencuerpo *et al.*, 1998; Goodyear, 1999) e por várias medidas de manejo já adotadas para essas pescarias, em diversos países. No Brasil, os trabalhos gerados sobre essas atividades pesqueiras, sequer mencionam a existência da prática corriqueira dos descartes de tubarões e têm a pretensão de

afirmar que o volume de “carcaças” desembarcadas, fornecido pelos mapas de bordo, corresponde às capturas, o que sabidamente não ocorre (Evangelista *et al.*, 1998).

1.3 Principais características das espécies com maior frequência nos desembarques

1.3.1 Ordem Carcharhiniformes

Tubarões da ordem Carcharhiniformes são os mais abundantes em número de indivíduos e espécies, já que deste grupo fazem parte algumas famílias numerosas e abundantes, sobretudo tropicais e subtropicais. A mais numerosa família de tubarões no Brasil é a Carcharhinidae, representada por 21 espécies (52,5% dos Carcharhiniformes brasileiros). São oito os Carcharhinidae de ocorrência costeiros e mais oito de ocorrência oceânico-costeiros (19,7% dos elasmobrâquios costeiros do Brasil). O gênero *Carcharhinus* possui 15 espécies no Brasil (Gadig, 1998), sendo quatro estritamente costeiros e sete oceânico-costeiro (ambos somam 13,6% do total da fauna costeira do Brasil). A maioria tem distribuição ampla na costa brasileira.

Pertencentes a família Carcharhinidae, o gênero *Rhizoprionodon* Whitley, 1929 é representado por sete espécies de pequeno porte (até cerca de 140cm), com ampla distribuição nos mares tropicais e subtropicais do Pacífico, Índico e Atlântico (Springer 1964; Compagno, 1984). Habitam normalmente águas costeiras, em baías, enseadas, passagens de ilhas e águas salobras (Gadig, 1994). Na costa brasileira são conhecidas duas espécies: *Rhizoprionodon lalandii* (Muller e Henle, 1839), observada na plataforma continental do oceano Atlântico Ocidental, desde o Panamá (América Central) até o sul do Brasil, esta espécie apresenta dados insuficientes de acordo com a lista de espécies ameaçadas, ou seja, as informações sobre sua abundância e

distribuição são inadequadas para classificá-la em uma categoria de ameaça (IUCN, 2010) e *Rhizoprionodon porosus*, ocorrendo desde a costa central Atlântica dos Estados Unidos, Caribe até o sul do Uruguai (Springer, 1964; Figueiredo, 1977 e Compagno 1984). *Rhizoprionodon porosus* é classificado como pouco preocupante na lista de espécies ameaçadas da IUCN (IUCN, 2010)

Devido a sua ampla distribuição e hábitos associados à região litorânea, as espécies de *Rhizoprionodon* desempenham papel central como predadores do sistema trófico costeiro e são alvo de pescarias realizadas em várias partes do mundo. São conhecidos ao longo da costa brasileira como cações-frango ou rabo-seco, os tubarões do gênero *Rhizoprionodon*, constituem-se num importante recurso econômico para a pesca, onde representam frequentemente, cerca de 50 a 60% das cações capturados (Motta, 2001). Em um estudo realizado por Sadowski (1967), observou maior freqüência nas capturas de *Rhizoprionodon porosus* em Cananéia, extremo sul do litoral de São Paulo, indicando que ao menos naquela época essa espécie era mais comum do que *Rhizoprionodon lalandii* nessa região, fato que pode ser explicado pela excessiva exploração pesqueira.

Rhizoprionodon lalandii é a espécie mais capturada pela pesca artesanal no litoral sul do estado de São Paulo, em Itanhaém, representando quase 60% da captura total de cações, seguido pela espécie *Rhizoprionodon porosus* representando 16% da captura (Namora, 2001).

O tubarão-azul, *Prionace glauca* é uma espécie de grande porte, cerca de 3,5 m de comprimento total, caracterizada pelo corpo esbelto, focinho longo e afilado, nadadeiras peitorais muito longas, primeira nadadeira dorsal situada posteriormente em relação às nadadeiras peitorais, olhos grandes, dentes superiores curvos e serrilhados e os inferiores oblíquos e levemente serrilhados e, finalmente, pela característica coloração azul índigo muita marcante em animais vivos e recém mortos

(Compagno, 1984). Distribui-se globalmente, principalmente em áreas oceânicas epipelágicas entre 80 e 220 m de profundidade, desde regiões tropicais até temperadas frias (principalmente e temperaturas variando entre 13 e 18°C), usualmente na zona epipelágica, porém há registros de espécimes muito próximos da costa, principalmente em áreas onde a plataforma continental é estreita e também a até 600 m de profundidade (Compagno, 1984; Carey & Scharold, 1990).

Kotas *et al.* (1999), observaram que os tamanhos médios de *Prionace glauca* desembarcado em Santos (1971 a 1988) e Itajaí (1997 e 1998), apresentaram diferença de tamanho em 14 cm nos exemplares desembarcado em Itajaí. Analisando a frota de Santos entre 1971 a 1988, houve queda de 20 cm nos comprimentos médios anuais, atribuindo isto ao aproveitamento de exemplares menores, ao menor tamanho dos anzóis utilizados nos últimos dez anos e ao aumento da pressão pesqueira sobre o estoque (Amorim, 1992). A diminuição dos comprimentos médios anuais é um dos fortes indícios de ocorrência de sobrepesca (Gulland, 1983); sendo importante lembrar, que a maioria dos tubarões-azuis chegam vivos a bordo (97, 2%) (Kotas *et al.*, 1999), e medidas que proporcionassem a soltura de um percentual desses animais ainda vivos, minimizariam o impacto da pesca de espinhel sobre este recurso.

Segundo Hilton-Taylor (2000), a espécie é considerada um predador apical no seu ecossistema e anualmente ocorre captura estimada entre 10 á 20 milhões de indivíduos da espécie, tornando-se necessário um monitoramento mais adequado que vise à avaliação do declínio das populações. O tubarão azul está classificado na categoria de “quase ameaçada” na lista de espécies ameaçadas da IUCN, (IUCN, 2010). Alguns estoques poderão ser ameaçados num futuro próximo devido à elevada captura da espécie como fauna acompanhante associada a pescarias oceânicas (Camhi *et al.*, 1998).

Os tubarões-martelo, família Sphyrnidae, gênero *Sphyrna*, distribuem-se ao longo de todo o litoral brasileiro em seis espécies, das quais três costeiras (menor porte - máximo 1,5 m, *S. media* Springer, 1940, *S. tiburo* Linnaeus, 1758, e *S. tudes* Valenciennes, 1822) e três oceânicocosteiras (maior porte- no mínimo 3 m, *S. lewini*, *S. mokarran* e *S. zygaena*) (Sadowsky, 1965; Gadig, 1994). Caracterizada pela expansão lateral da região pré-branquial da cabeça, em algumas espécies semelhante a um martelo. A forma da cabeça tem sido caráter importante na identificação das espécies, no entanto devem ser consideradas as variações ontogenéticas (Gadig, 2001). As espécies de menor porte são mais abundantes no Norte (Maranhão) (Lessa, 1986; Stride *et al.*, 1992) e Nordeste (Rosa e Gadig, 1994). Quanto às espécies maiores, *Sphyrna lewini* ocorrem neonatos e jovens durante o verão na faixa costeira do Sudeste, quando fêmeas adultas se aproximam para o parto. Idêntico padrão aparece em estudos conduzidos no Maranhão com a presença de jovens em baías e reentrâncias (Lessa *et al.*, 1995). A espécie apresenta uma distribuição bastante ampla, sendo a mais abundante do gênero, ocorrendo em toda a costa, da região norte ao sul do Brasil (Sadowsky, 1971; Vooren & Lessa, 1981; Lessa, 1986; Barletta & Corrêa, 1989; Kotas *et al.*, 1995; Queiroz & Rebouças, 1995; Hazin *et al.*, 1997b; Louro, 1997; Lessa *et al.*, 1998). Pode, também, ser capturada em regiões oceânicas ou próximas ao talude continental e em bancos oceânicos.

Capturas obtidas com redes de emalhar de deriva, ao largo da região Sul do Brasil, revelam que em um curto espaço de tempo, os estoques do tubarão martelo, *Sphyrna lewini*, deram sinais de sobrepesca (Kotas *et al.*, 1995). Essa espécie de tubarão martelo está classificada na categoria de “em perigo” na lista de espécies ameaçadas da IUCN, (IUCN, 2010).

Nos estados de São Paulo, observou-se que os desembarques totais de elasmobrânquios, em peso, das frotas de emalhe de superfície sediadas em Ubatuba (SP), tiveram *Sphyrna lewini* representando 77,8%, em 1993.

Podemos considerar o tubarão-martelo como um recurso altamente migratório e sazonal, que vem sendo capturado como fauna acompanhante (*by-catch*) por diversas artes de pesca no sudeste e sul, e como uma das espécies-alvo das pescarias de emalhe e com espinhel de superfície. A espécie *Sphyrna zygaena* também é capturada no sudeste e sul, porém está associada às temperaturas mais frias (média de 15° C) (Vooren & Britto, 1998). Infelizmente as estatísticas existentes não discriminam as diferentes espécies de tubarão-martelo, o que dificulta a interpretação dos dados.

1.3.2 Ordem Lamniformes

A Ordem Lamniformes agrupa sete famílias, todas representadas no Brasil, da qual também faz parte o famoso tubarão-branco (*Carcharodon carcharias*, Linnaeus, 1758) (Soto, 2001). São tubarões de grande porte que ocorrem em ambientes oceânicos e costeiros. No Brasil, a pesca com espinhel pelágico surgiu no final da década de 50 (Amorim, 1992). Desde então tubarões oceânicos têm sido capturados e comercializados, porém pouco conhecimento tem sido gerado acerca da ecologia e biologia da maioria das espécies.

Em um estudo realizado por Montealegre-Quijano *et al.* (2005), que avaliaram as capturas por espinhel pelágico de superfície, foram encontrados tubarões Lamniformes de quatro famílias, cinco gêneros e seis espécies, entre eles, *Carcharias taurus*, *Pseudocarcharias kamoharai* (Matsubara, 1936), *Alopias superciliosus*, Lamnidae *Isurus oxyrinchus*, *Isurus paucus* (GuitartManday, 1966) e *Lamna nasus* (Bonnaterre, 1788). Observou-se que neste tipo de pesca, a Ordem Lamniformes está representada principalmente pelo tubarão-anequim (*Isurus oxyrinchus*) sendo a segunda espécie de tubarão mais capturada depois do tubarão-azul (*Prionace glauca*).

A família Alopiidae é representada por um gênero, no Brasil ocorrem duas espécies, *Alopias vulpinus* Bonnaterre, 1788, e *Alopias superciliosus* (Gadig, 2001). *Alopias vulpinus* conhecido vulgarmente como tubarão-raposa, é uma espécie circumglobal, habitando desde as águas tropicais até temperadas. Oceânico-costeira, pode ser encontrada desde a superfície até cerca de 400 mt de profundidade.

Os registros no Brasil referem-se a animais capturados pela frota de barcos espinheiros no Sudeste/Sul do Brasil, embora em quantidades muito inferiores às das capturas de *A. superciliosus*. Na região oceânica da costa Nordeste a espécie ainda não foi identificada, embora sua ocorrência não deva ser descartada (Hazin, 1990). Na costa Sul tem sido registrado como elemento ocasional da fauna de elasmobrânquios demersais. Existem vários casos de capturas de exemplares jovens na faixa costeira da costa Sudeste e Sul. Durante um estudo realizado por Gadig em 2001 foram capturados 11 exemplares muito próximos da faixa costeira na costa sul de São Paulo. Os exemplares, medindo cerca de 1,8 m, foram capturados em intervalos curtos de tempo, sugerindo a formação de cardume para esta espécie.

A outra espécie *Alopias superciliosus* é considerada uma espécie Circumglobal, podendo eventualmente fazer incursões sobre a plataforma continental e é encontrada desde a superfície até cerca de 500 m de profundidade. Tem sido capturada com freqüência pelos barcos espinheiros no Nordeste, costa Central, Sudeste e Sul. Provavelmente habita a costa Norte, considerando-se sua ampla distribuição geográfica (Gadig, 2001).

Representantes da Família Lamnidae também são comuns em águas oceânicas; dentre esses o tubarão-anequim, *Isurus oxyrinchus* nas regiões nordeste, sudeste e sul foi registrado por Sadowsky *et al.*, 1989; Hazin *et al.*, 1990; Amorim, 1992; Antero Silva, 1993; Pimenta *et al.*, 1993; Piske *et al.*, 1993; Gadig, 1994; Kotas *et al.*, 1995; Ficher e Vooren, 1997; Lessa *et al.*, 1997; Vaske-Jr. e Rincón, 1998.

O desembarque de emalhe de superfície no estado de São Paulo é composto por várias espécies de tubarões e raias, incluindo *Isurus oxyrinchus*, que é uma espécie oceânica e capturada próximo ao talude continental (Kotas *et al.*, 1997), essa espécie também foi uma das que apresenta maior freqüência na captura com espinhel e desembarcada em Santos (Amorin *et al.*, 1998).

Do ponto de vista da pesca comercial e recreativa do mundo a espécie *Isurus oxyrinchus* é um dos tubarões mais importantes (Casey & Kohler, 1992; Compagno, 1984; Holts, 1988). O tubarão-anequim, como é chamado popularmente, assim como muitas espécies de tubarões, apresenta baixa fecundidade (Holden, 1973, 1974; Hoff & Musick, 1990), onde produz uma média de 2-4 filhotes em uma única temporada (Stevens, 1983), o que o torna particularmente suscetível a sobrepesca.

1.4 Uso de Marcadores Moleculares no Estudo de Elasmobrânquios

O monitoramento do comércio de tubarões continua a ser extremamente difícil, em grande parte devido às dificuldades consideráveis associados com a identificação das carcaças de tubarões processadas, e outros produtos comercializados do corpo dos tubarões, peças como barbatanas secas e filés (Rose, 1996; Compagno *et al.*, 1997; Vannuccini, 1999; FAO, 2000; Ambiente Austrália 2001a; Ambiente Austrália, 2001b).

Em alguns casos, produtos de tubarão (por exemplo, carne, pílulas de cartilagem), pode ainda consistir de um mix de tecidos de várias espécies, exacerbando problemas de identificação (Vannuccini, 1999; Hoelzel, 2001).

Um dos principais obstáculos à obtenção de dados sobre captura e comércio de tubarões e a implementação de planos de manejo para conservação em uma

espécie de forma específica, no entanto, é a dificuldade de identificar com precisão muitas espécies geralmente exploradas. Espécies de tubarões economicamente importantes de famílias como a Carcharhinidae e Lamnidae, por exemplo, pode apenas diferir ligeiramente em sua morfologia e muitas vezes confundidos com os outros tubarões (Bonfil, 1994). A identificação precisa das espécies com base em características morfológicas de barbatanas de tubarões na maioria dos casos é difícil (uma possível exceção é barbatanas de tubarão azul) (Vannuccini, 1999). Essa dificuldade de identificação de espécies é um fator importante que contribui para a escassez mundial de registros específicos de espécies sobre captura e comércio de tubarões (Bonfil 1994, Castro *et al.* 1999).

Técnicas de biologia molecular são comumente utilizadas para identificação de espécies e para contornar os inconvenientes da morfologia complexa baseada em chaves de identificação. Para identificação de espécies de tubarões, estudos recentes (Shivji *et al.* 2002; Abercrombie *et al.* 2005; Shivji *et al.* 2005, Clarke *et al.* 2006; Magnussen *et al.* 2007, Mendonça *et al.*, 2009; De-Franco *et al.*, 2009) foram baseados no sucesso da reação em cadeia de polimerase multiplex (PCR) ensaios usando primers espécie-específico. Esta técnica é rápida e barata tornando-a passível no uso em situações onde os recursos são limitados, mas é limitada a testes para pequenos grupos de espécies onde primers espécie-específicos ainda precisam ser desenvolvidos para identificar tais espécies (Mendonça *et al.*, 2009).

Entre as espécies de tubarões alvo da pesca existe uma natural similaridade morfológica que prejudica sua correta identificação. Além disso, há a prática de remoção pelos pescadores de partes dos animais como cabeça, cauda e nadadeiras, caracteres morfológicos chave para identificação (Shivji *et al.*, 2002). Esses eventos trazem prejuízo para a conservação e gestão dos tubarões, pois inviabilizam a correta identificação dos animais capturados e a fiscalização da pesca, quando esta existe.

A aplicação de técnicas de genética molecular para o controle do comércio da fauna marinha aguarda urgentemente o desenvolvimento de abordagens robustas mais rápidas e mais fáceis de implementação (Palumbi & Cipriano, 1998; FAO, 2000; Shivji *et al.*, 2002).

Para resolver problemas de identificação de espécies similares importante na conservação e monitoramento, análises genéticas têm sido utilizadas com sucesso e precisão na identificação de partes do corpo de animais marinhos muito explorados (Martin, 1993; Malik *et al.*, 1997; Baker *et al.* 1998; Innes *et al.*, 1998; Palumbi & Cipriano, 1998; Heist & Gold, 1999; Dizon *et al.*, 2000).

As pesquisas publicadas sobre o uso de técnicas moleculares para discriminação de espécies de tubarões foram predominantemente baseadas em regiões do DNA nuclear e mitocondrial ou pela associação de ambas. Pank *et al.* (2001), aplicaram a reação de PCR multiplex para regiões do DNA nuclear (ITS 2, internal transcribed spacer 2) e mitocondrial (citocromo b) na discriminação das espécies *Carcharhinus obscurus* e *C. plumbeus*. Outras seis espécies de tubarões, sendo três espécies da família Lamnidae (*Isurus oxyrinchus*, *I. paucus* e *Lamna nasus*) e três da família Carcharhinidae (*Prionace glauca*, *Carcharhinus obscurus* e *C. falciformis*) puderam ser também discriminadas a partir dessa metodologia (Shivji *et al.*, 2002). Abordagem semelhante foi utilizada por Chapman *et al.* (2003) e mais recentemente por Shivji *et al.* (2005) em amostras com o nome genérico de “caçao”, obtidas nos mercados asiáticos. Estes dois trabalhos constataram a presença de carne e nadadeiras do tubarão-branco (*Carcharodon carcharias*) entre as espécies comercializadas, visto que esta espécie é protegida por lei em vários países.

Abercrombie *et al.* (2005) igualmente validaram regiões do DNA ribossomal nuclear e mitocondrial para identificação de três espécies de tubarões-martelo (*Sphyrna lewini*, *S. zygaena* e *S. mokarran*) confirmado sua comercialização em nível

mundial. Por sua vez Clarke *et al.* (2006) estimaram a proporção de cada táxon dos tubarões no total de carne e nadadeiras comercializados nos mercados asiáticos, também por diagnóstico molecular.

Em outros trabalhos a reação de PCR multiplex de seqüências de DNA mitocondrial foi associada à técnica de restrição enzimática (RFLP) para gerar fragmentos espécie específicos que possibilitaram a discriminação de várias espécies de tubarões da Costa Atlântica dos EUA e da Austrália (Heist & Gould, 1999b). Depois de seqüenciadas, regiões do genoma mitocondrial foram validadas por Greig *et al.* (2005) para discriminação de 35 espécies de tubarões do Atlântico Norte com verificação de suficiente similaridade intraespecífica e variedade interspecífica. Ward *et al.* (2005) seqüenciaram regiões do DNA mitocondrial (citocromo oxidase subunidade 1 ou cox 1) de 61 espécies de tubarões e raias, e padronizaram essas regiões como marcadores para identificação de espécies.

Buscando a unificação de um sistema de informações do mundo dedicado à identificação genética taxonômica, Mendonça *et al* (2009), descreveu um recurso metodológico para caracterizar nove espécies de tubarões comumente explorados e comercializados em todo o Brasil, desenvolvido a partir das características exclusivas de cada espécies e expressos nas seqüências do gene COI, metodologia que inclui espécies costeiras que atualmente são desconsideradas pelas estatísticas pesqueiras como as espécies do gênero *Rhizoprionodon*.

De-Franco *et al* (2009), utilizou protocolos de PCR-multiplex para identificar três diferentes espécies de raias pescadas e comercializadas no litoral Brasileiro, *Rhinobatos horkelli*, *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792), e *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841).

Já há algum tempo, os padrões de DNA mitocondrial (mtDNA), vêm sendo reconhecidos potencialmente importantes em estudos de linhagens comerciais de

peixes (Ferris & Berg, 1987; Toledo Filho *et al.*, 1992). Hebert *et al.* (2003) propuseram que uma única seqüência gênica poderia ser suficiente para diferenciar todas, ou pelo menos a grande maioria, das espécies animais, e propuseram o uso do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I (COI) como um sistema global de identificação para animais.

Esta nova iniciativa é conhecida como *DNA Barcoding* ou “código de barras do DNA”. A idéia em se utilizar um gene mitocondrial, baseou-se nas características apresentadas pelo genoma mitocondrial tais como, ser amplamente distribuído entre os animais, alto número de cópias por célula, apresentar taxa de mutação diferente entre espécies, não sofrer recombinação, ter uma herança predominantemente materna além de possuir baixo polimorfismo ancestral. Devido a tais características o gene COI permite identificar corretamente um indivíduo dentro de uma espécie, ou identificar a amostra como pertencente a uma nova espécie, ainda não descrita.

Considerando a crescente demanda pela carne e pelas nadadeiras de tubarões e o reconhecimento de que diferentes espécies respondem de forma diferente à exploração, torna-se imperativa a criação de ferramentas práticas de identificação ao seu menor nível taxonômico. Buscando gerar ferramentas práticas de identificação, foram criadas bibliotecas de sequências de DNA mitocondrial utilizando o gene citocromo oxidase subunidade I (COI) de diversas espécies de tubarões comumente pescados no litoral de São Paulo e a partir das características genéticas particulares de cada táxon foram desenhados primers de reconhecimento espécie-específico que em reação de PCR-multiplex produziram fragmentos de tamanhos característicos para cada espécie possibilitando, após corrida eletroforética, a identificação simultânea de diversas amostras.

OBJETIVOS



2 Objetivos

O presente estudo objetivou caracterizar amostras decorrentes da exploração pesqueira de tubarões no litoral do estado de São Paulo, utilizando marcadores genéticos de identificação espécie-específica, fornecendo dados de captura e comercialização por espécies.

Para o desenvolvimento do trabalho foram listados os seguintes objetivos específicos:

- ❖ Aplicar os protocolos de PCR-multiplex para identificação espécie-específica em amostras de tubarões capturados pelas frotas de pesca costeiras e industriais da costa de São Paulo;
- ❖ Validar os primers descritos por Mendonça *et al.*, 2009;
- ❖ Subsidiar programas de manejo adequados à exploração sustentável dos estoques pesqueiros das espécies de tubarões capturadas no litoral de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS



3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das Amostras

As amostras foram obtidas junto a desembarques de frotas artesanais, frotas industriais e em mercados de peixes, nas cidades de Ubatuba, Santos e Cananéia (Figura 1), no período de dezembro de 2007 a maio de 2009 totalizando 1000 exemplares (Tabela 1).

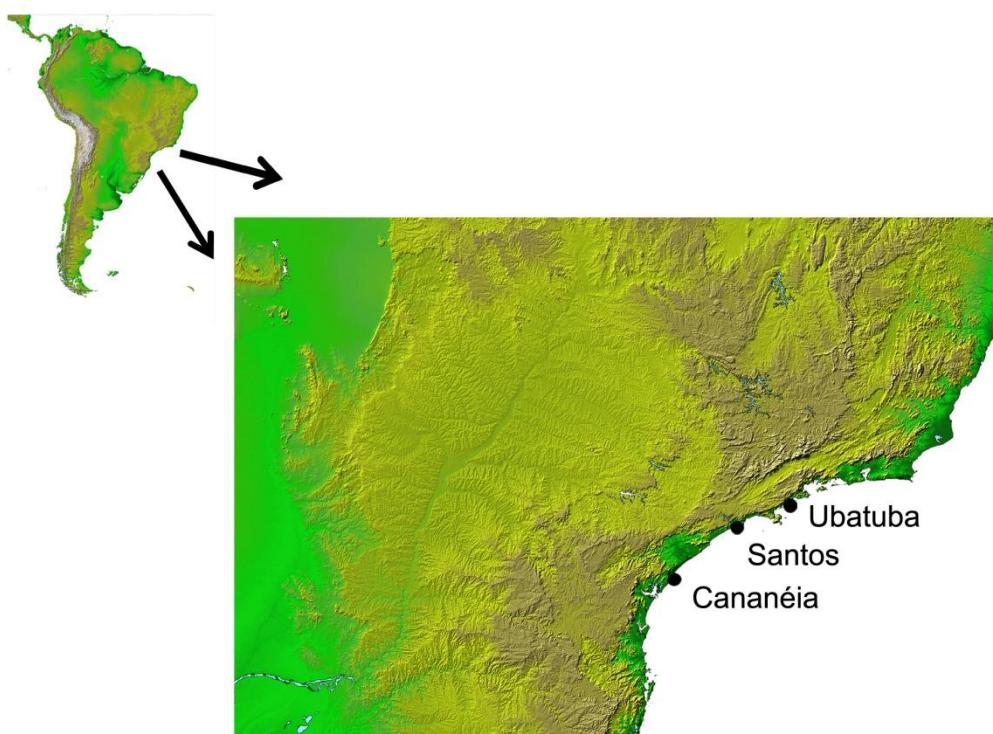


Figura 1- Pontos de coleta. Cananéia e Santos litoral sul de São Paulo e Ubatuba, litoral norte de São Paulo

Tabela 1. Quantidade de exemplares coletados por município.

Município	Quantidade de amostras coletadas
Ubatuba	249
Santos	427
Cananéia	324
Total	1000

Foram coletadas amostras de tecido muscular dos chamados charutos de tubarões e mesmo de carnes expostas a venda já cortada em peças entre os anos de 2007 e 2009 (Figura 2). Todas as amostras foram identificadas apenas como cações ou tubarões. O acondicionamento das amostras foi feito em tubos preferencialmente separados em álcool 95% para garantir a integridade do tecido.



Figura 2 - Mercado municipal de peixes no município de Ubatuba-SP, onde se encontram os “charutos” e filés de tubarões expostos para a venda.

3.2 Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído a partir do tecido muscular, utilizando a metodologia de extração salina descrita por Aljanabi *et al.* (1997), que dispensa o uso de substâncias tóxicas como fenol e clorofórmio.

Protocolo para extração:

- Adicionar 290µl do tampão (30mM Tris HCl, 10mM EDTA, SDS 10%) + 10µl de proteinase K (10mg/mL) em um tubo de 1,5ml juntamente com um pequeno fragmento da amostra e levar à uma temperatura de 55°C por 2 a 3 horas.
- Acrescentar 100µl de NaCl (5M) e inverter os tubos para homogeneização.
- Centrifugar a 10000 rpm por 10 minutos a 25°C.
- Transferir o sobrenadante para outro tubo de 1,5ml, cerca de 300µl.
- Adicionar 600µl de etanol 100% gelado, inverter os tubos cuidadosamente para homogeneização e manter no freezer -70°C mantendo a suspensão por 20 minutos.
- Centrifugar por 30 minutos a 14000 rpm a 4°C e em seguida descartar o sobrenadante.
- Adicionar 1 ml de etanol 70% gelado.
- Centrifugar por 5 minutos a 14000 rpm a 4°C e em seguida descartar o sobrenadante.
- Secar por 30 minutos na estufa a 37°C
- Ressuspender a amostra em 200µl de água ultrapura autoclavada e manter em temperatura ambiente por pelo menos 24 horas, para hidratação.

- Aliquotar o DNA e guardar cerca de 150ul no freezer (-20°C - solução estoque) e o restante na geladeira (4°C - solução de trabalho).

A qualidade das amostras de DNA obtidas foi analisada através de eletroforese em gel de agarose 1% visualizado em transluminador (Hoefer UV-25), sob luz ultravioleta (Figura 3). As amostras de DNA obtidas encontram-se depositadas no Laboratório de Biologia e Genética de Peixes – Departamento de Morfologia – Botucatu-SP.

3.3 Eletroforese em Gel de Agarose

A análise em gel de agarose foi realizada seguindo o protocolo:

- Diluir a agarose (Ultra PureTM Agarose – Invitrogen Life Technologies) em um dado volume de Tampão TAE 1x (Tris-Ácido acético-EDTA) para que sua concentração fique a 1%.
- Aquecer a solução até que ela fique translúcida.
- Deixar esfriar e em seguida aplicar na bandeja de suporte da cuba de eletroforese horizontal.
- Ajustar o pente na cuba e deixar esfriar até completa solidificação.
- Aplicar as amostras no gel juntamente com o corante BlueGreen.
- Efetuar a eletroforese a 100V/150A por aproximadamente 2 horas.
- Visualizar o gel em transluminador (Hoefer UV-25), sob luz ultravioleta e fotografar utilizando o programa Kodak.

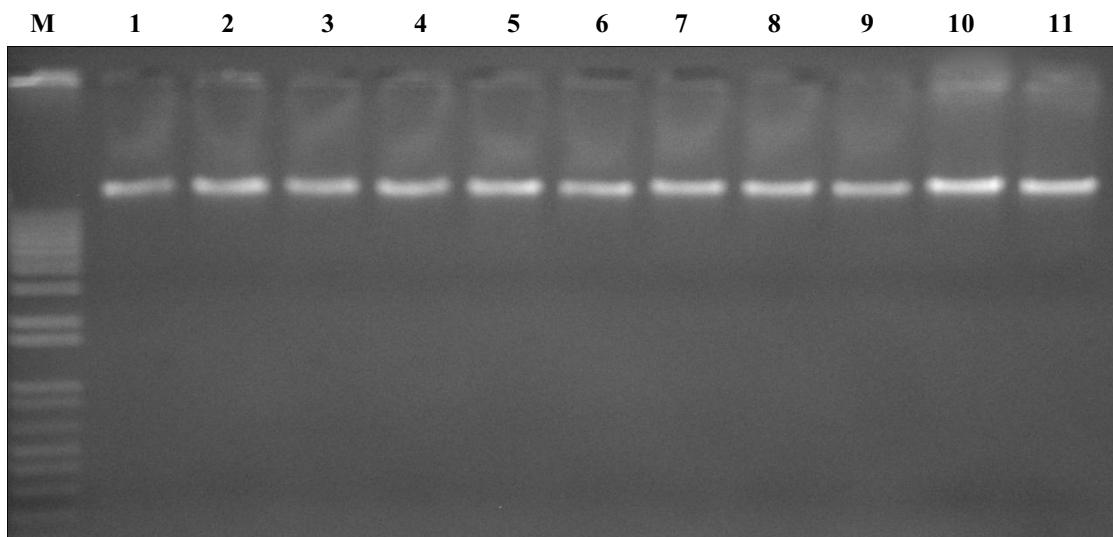


Figura 3 - Eletroforese em gel de agarose a 1%. Extração de DNA em amostras de tubarões sem nenhuma classificação quanto à espécie. M - Marcador de peso molecular 1Kb. 1-11 amostras coletadas no município de Ubatuba-SP.

3.4 PCR Multiplex

A partir da composição de nucleotídeos do gene COI, cujas características eram exclusivas, os sítios polimórficos entre as espécies foram identificados, e os primers espécie-específicos utilizados foram obtidos em Mendonça *et al.* (2009).

As reações de amplificação foram realizadas incluindo o primer F1 (Forward 5' – TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC - 3'), utilizado como controle positivo da reação, o primer R1 (Reverse 5' – TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA - 3'), ambos descritos por Ward *et al.* (2005), além de todos os 9 primers espécie-específico para identificação e o DNA genômico de cada uma das amostras.

As reações de amplificação foram efetuadas em termocilador, utilizando 25 μ l de solução contendo 0,8mM de dNTP, 1,5mM de MgCl₂, tampão de enzima *Taq* DNA polimerase (Tris-HCL 20 mM pH 8,4 e KCl 50mM), 1 unidade de enzima *Taq* Polymerase (Invitrogen) e 0,5 ng de primers dos primers universais. As reações de PCR para a amplificação dos fragmentos específicos de cada espécie seguem as seguintes condições de tempos de ciclagem e temperatura:

- | | |
|---|------|
| 1) 95° C por 5 minutos (desnaturação inicial) | 35 X |
| 2) 95° C por 30segundos (desnaturação) | |
| 3) 50° C por 30 segundos (anelamento dos <i>primers</i>) | |
| 4) 72° C por 1 minuto (extensão da cadeia nucleotídica) | |
| 5) 72° C por 7 minutos (extensão final) | |

Os primers desenvolvidos para cada espécie e o tamanho estimados dos segmentos de DNA amplificados são apresentados na Tabela 2.

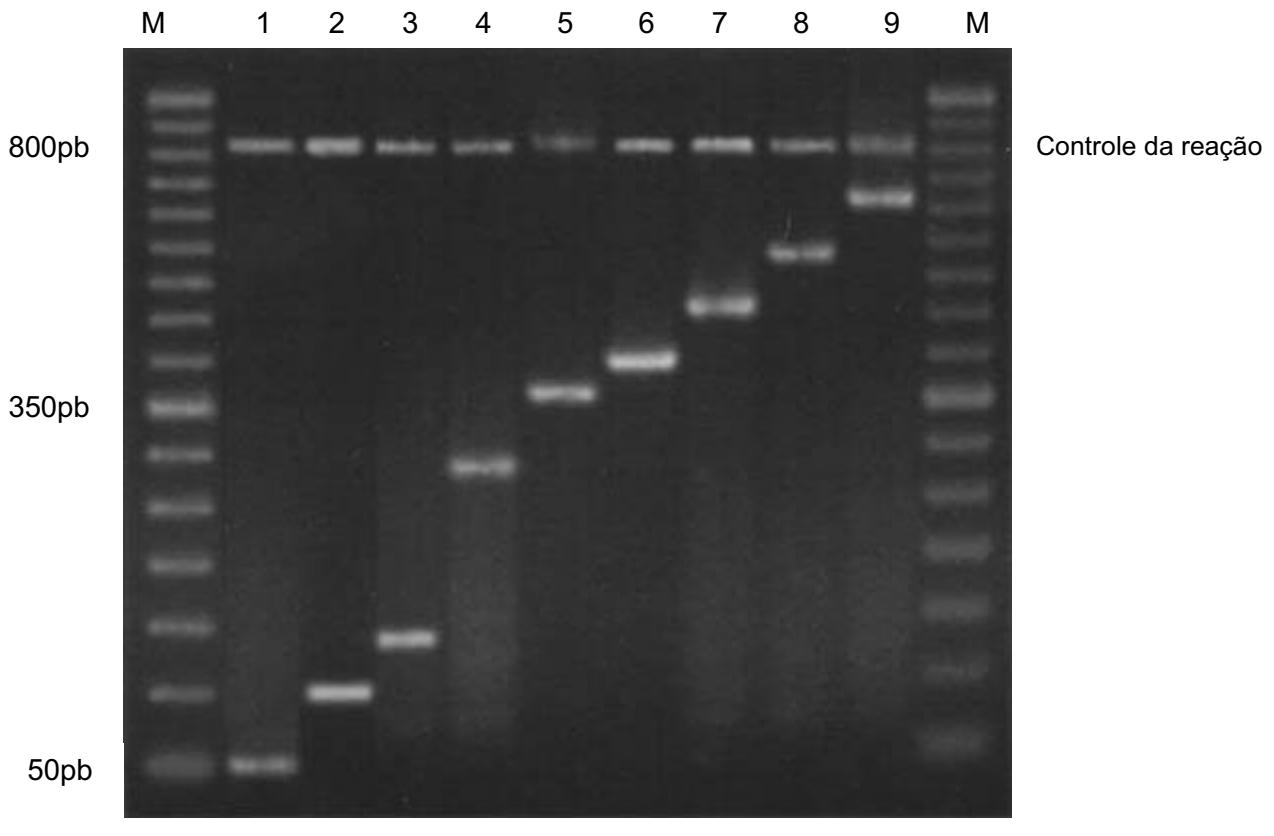
Tabela 2: Primers desenvolvidos para cada uma das 9 espécies e o tamanho das bandas geradas em gel de agarose.

Espécie	Primers	Fragmento(bp)
Lamniformes		
<i>Isurus oxyrinchus</i>	CTTCCACTTGGCTGGGTATCTG	280
<i>Alopias vulpinus</i>	CCTCAGCTGGAGTTGAAGCC	400
<i>Alopias superciliosus</i>	GGTTATAACCGTAATAATTGGG	540
Carcharhiniformes		
<i>Galeocerdo cuvier</i>	ACTACATTCTTGATCCAGCG	50
<i>Prionace glauca</i>	TCCAGTTCTTGCAGCAGGT	100

<i>Carcharhinus falciformis</i>	GATCTATTCTTGTAAACCACG	140
<i>Rhizoprionodon porosus</i>	CCCATTAGCTAGTAATA	340
<i>Sphyrna lewini</i>	GGCCTTCCCACGAATAAAC	450
<i>Rhizoprionodon lalandii</i>	TCAACCTGGATCTCTTTAGGT	620

3.5 Eletroforese para identificação das espécies

Após a reação de PCR-Multiplex é feita checagem do produto amplificado em gel de agarose (1%), corado em solução de Brometo de Etídeo (10mg/ml) diluída a 0.1% em tampão TAE 1x, sendo visualizados fragmentos de tamanhos característicos para cada espécie possibilitando a identificação simultânea de diversas amostras (Figura 4).



Mendonça et al., 2009

Figura 4 - PCR-multiplex para a identificação simultânea de 9 espécies comumente encontradas no litoral brasileiro. A espécie *Galeocerdo cuvier* apresenta banda de 50pb (1), *Prionace glauca* 100pb (2), *Carcharhinus falciformes* 140pb (3), *Isurus oxyrinchus* 280pb (4), *Rhizoprionodon porosus* 340pb (5), *Alopias vulpinus* 400pb (6), *Sphyrna lewini* 450pb (7), *Alopias superciliosus* 540pb (8), *Rhizoprionodon lalandii* 620pb (9) todas estas também amplamente exploradas pela pesca e apresentando problemas de identificação morfológica, marcador de peso molecular (M).

3.6 Análise dos dados

Foram determinadas as freqüências relativas por espécie expressas em porcentagem.

As análises feitas foram separadas por região, devido ao fato da diferenciação da arte de pesca entre as três localidades. Em Ubatuba as amostras foram obtidas com barcos que realizaram pesca oceânica e costeira, e algumas poucas amostras ainda foram obtidas no mercado municipal. Em Santos, os barcos realizaram pesca oceânica, e muitas amostras foram obtidas

no mercado municipal, e na região de Cananéia foi realizada coleta em barcos que realizaram somente pesca artesanal. Fato esse que caracteriza as diferentes espécies encontradas em cada região.

RESULTADOS E DISCUSSÃO



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a captura e comercialização de tubarões na região Norte do Litoral Paulista, foram selecionados três pontos estratégicos de coleta localizados no município de Ubatuba (região Norte do Litoral Paulista), município de Santos / São Vicente (região mediana do Litoral Paulista) e município de Cananéia (região Sul do Litoral Paulista). Cabe ressaltar que as amostras foram coletadas em desembarques de frotas artesanais, frotas industriais e em mercados de peixes. O número de amostras em cada ponto foi: 249 amostras em Ubatuba, 427 amostras em Santos e 324 amostras em Cananéia, totalizando 1000 amostras coletadas no Litoral Paulista.

A partir da composição de nucleotídeos do gene COI, cujas características eram exclusivas para cada espécie, foram realizadas as análises aplicando a técnica de PCR-Multiplex nas amostras coletadas. Os resultados mostraram que foi possível identificar 837 amostras, das 1000 existentes. Várias tentativas foram realizadas no intuito de identificar as outras 163 não identificadas, porém, não foram visualizados fragmentos nas amplificações de identificação simultânea das diversas amostras coletadas.

Isso pode ter ocorrido nessas amostras por serem de espécies a qual não possuíam marcadores espécie específico ocasionando a não amplificação, ou também podem ser produtos comercializados na forma fraudulenta onde indivíduos de outros grupos, outras espécies tem sua carne comercializada como carne de tubarão. Esses resultados, acima de tudo, mostraram que novas análises devem ser realizadas nessa região, assim como novos

marcadores genéticos para outras espécies que não o possuem, devem ser realizados.

Através dos resultados das 837 amostras analisadas, foi possível observar que essas pertencem a 6 espécies diferentes, provenientes da pesca oceânica, costeira e de coletas realizadas no mercado municipal.

A caracterização das amostras de tubarões de acordo com as espécies, realizada pela aplicação de marcadores moleculares genéticos específicos obtidos pela técnica da PCR-Multiplex, se encontra descrito na tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização das amostras de tubarão coletadas nos municípios de Ubatuba, Santos e Cananéia, entre 2007 e 2009, identificadas com marcadores genéticos específicos pela técnica de PCR-Multiplex.

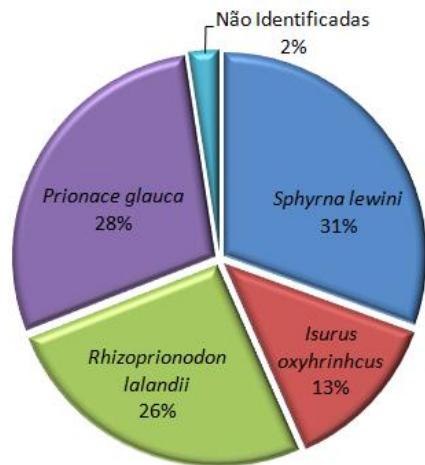
Espécie	Ubatuba	Santos	Cananéia	Total
<i>Prionace glauca</i>	71	150	-	221
<i>Isurus oxyrinchus</i>	32	-	-	32
<i>Rhizoprionodon porosus</i>	-	04	51	55
<i>Alopias vulpinus</i>	-	43	-	43
<i>Sphyrna lewini</i>	76	62	98	236
<i>Rhizoprionodon lalandii</i>	64	35	151	250
Total	243	294	300	837

A seguir será descrito de forma mais detalhada os resultados encontrados em cada ponto separadamente.

No município de Ubatuba foram identificadas 4 espécies de tubarões capturadas com barcos de pesca oceânica e artesanal, com algumas amostras

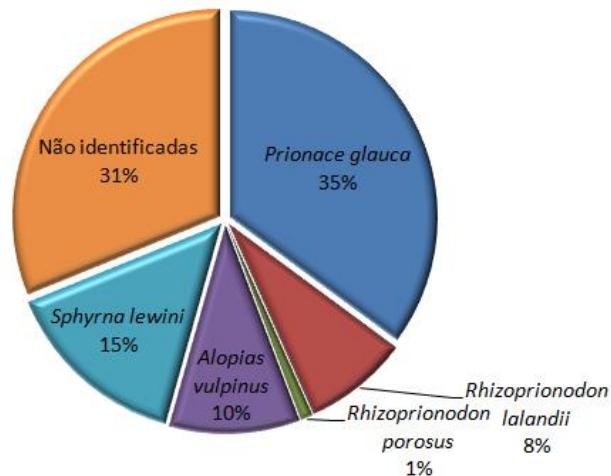
coletadas no mercado municipal nos períodos de novembro/2007 e dezembro/2008. A espécie mais abundante foi *Sphyrna lewini* (31%), seguida por *Prionace glauca* (28%), *Rhizoprionodon lalandii* (26%) e *Isurus oxyrinchus* com freqüência relativa de 13% (Figura 5). Os produtos da pesca são comercializados principalmente no mercado municipal de pesca em Itaguá.

Figura 5 - Freqüência relativa por espécie das amostras capturadas e comercializadas em mercados municipais no município de Ubatuba litoral Norte do estado de São Paulo.



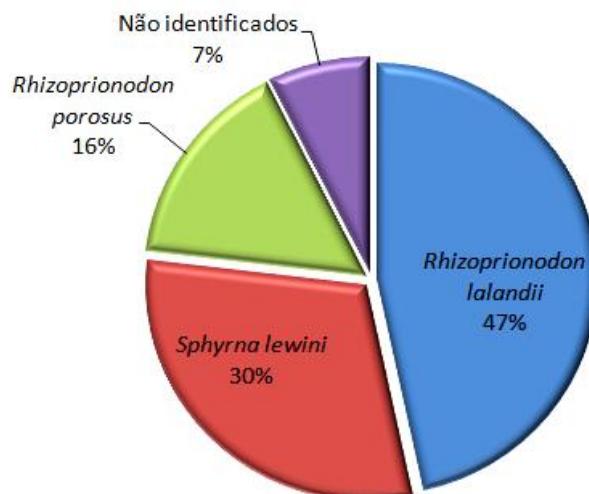
Já no município de Santos foram identificadas 5 espécies de tubarões capturados pela pesca oceânica e amostras obtidas do mercado municipal, sendo provavelmente obtidas de pesca artesanal devido à presença de espécies costeiras nos períodos de setembro/2008 e maio/2009. A espécie que apresentou maior freqüência relativa foi *Prionace glauca* (35%), seguido por *Sphyrna lewini* (15%), *Alopias vulpinus* (10%), *Rhizoprionodon lalandii* (8%) e *Rhizoprionodon porosus* (1%) (Figura 6). O pescado obtido da pesca oceânica é distribuído no comércio do município e grande parte levado para o CEAGESP (São Paulo), e outras regiões.

Figura 6 - Freqüência relativa por espécie das amostras capturadas e comercializadas em mercados municipais no município de Santos, litoral do estado de São Paulo.



E por fim, os resultados para a região de Cananéia, se apresentaram de forma diferente, onde pudemos notar uma menor variedade de espécies encontradas sendo estas amostras obtidas da pesca artesanal coletadas no período de março/2009. Apenas 3 espécies para essa região foram identificadas sendo *Rhizoprionodon lalandii* a mais abundante (47%), seguido por *Sphyrna Lewini* (30%) e *Rhizoprionodon porosus* (16%).

Figura 7 - Freqüência relativa por espécie das amostras capturadas e comercializadas no município de Cananéia litoral Sul do estado de São Paulo.



Diante dos dados observados, pudemos notar que o município (Ponto de Coleta) com maior quantidade de amostras e também com maior freqüência relativa por espécies foi o de Santos, onde a demanda de produtos de elasmobrânquios se mostrou maior talvez pelo fato do porto deste município ser relativamente maior comparado com os outros municípios amostrados. Esse fator mostra que este município merece uma maior atenção em relação à conservação e manejo da captura das espécies mais exploradas, que possivelmente estariam na lista de espécies ameaçadas.

Observou-se também nas amostras capturadas no município de Santos, um panorama de pesca industrial, podendo ser identificadas espécies oceânicas presentes nos desembarques como *Prionace glauca*, *Alopias vulpinus* e *Sphyrna lewini*, porém também foram identificadas espécies costeiras como *Rhizoprionodon lalandii* e *Rhizoprionodon porosus*, o que indica que as amostras coletadas em mercados municipais foram provenientes de pescarias artesanais.

Para o município de Ubatuba as amostras identificadas mostraram também um panorama tanto de pesca artesanal como de pesca industrial com espécies oceânicas e costeiras. Isso foi possível, pois pudemos observar nas análises espécies como *Prionace glauca*, *Isurus oxyrinchus*, *Rhizoprionodon lalandii* e *Sphyrna lewini*. O município de Cananéia, por outro lado, apresentou um panorama somente envolvendo a pesca artesanal, sendo caracterizado somente por espécies costeiras como, *Rhizoprionodon lalandii*, *Rhizoprionodon porosus* e *Sphyrna lewini*, não ocorrendo a espécie *Prionace glauca*, conforme observado nas amostras de Ubatuba. Pode-se observar que não houve diferenças de espécies por localidade, a não ser aquelas que diferem de

acordo com o tipo de pesca, onde espécies oceânicas são freqüentes nas pescarias industriais e espécies costeiras freqüentes em pescarias artesanais.

As espécies que puderam ser identificadas no presente trabalho correspondem a dois grupos muito explorados, Lamniformes e Carcharhiniformes e representa uma grande parcela das espécies capturadas no Brasil. A ordem Lamniformes agrupa grandes tubarões oceânicos epipelágicos, e representa grande porcentagem de capturas também no mundo. Podemos destacar a espécie *Isurus oxyrinchus* entre as capturas pela frota de espinhel, saltando de 13 toneladas em 1975, para 138 toneladas em 1990, com base nas embarcações que realizam capturas nas regiões sul e sudeste do Brasil (Costa *et al.*, 1996).

A ordem Carcharhiniforme, foi representada pelos tubarões das famílias Carcharhinidae e Sphyrnidae, sendo *Prionace glauca* (Carcharhinidae), a espécie de tubarão mais capturado no ambiente pelágico pela frota de espinhel principalmente no Brasil (Hazin & Lessa 2005). Os tubarões do gênero *Rhizoprionodon* (Carcharhinidae), representam mais de 50% dos pequenos tubarões capturados na zona costeira pela frota artesanal (Motta *et al.*, 2005).

A família Sphyrnidae foi representada no presente trabalho pela espécie *Sphyraena lewini*, que assim como *Prionace glauca* são grandes alvo de pesca no Sudeste e Sul do Brasil (Vooren, 2005), tanto em ambientes costeiros onde indivíduos jovens são alvos da pesca quanto oceânicos, onde são capturados indivíduos adultos.

Estudos envolvendo a utilização de marcadores moleculares na identificação de tubarões tem sido relatada em diversos trabalhos (Ward *et al.*, 2005; Hubert *et al.*, 2008; Valdez-Moreno *et al.*, 2009), demonstrando grande

eficiência. Mendonça *et al* (2009) utilizando técnicas de PCR-multiplex com o uso do gene COI, o mesmo utilizado no presente estudo, descreveu este método para caracterizar a exploração da pesca de diferentes espécies de tubarões.

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram que o uso de mais de dois *primers* em ensaios de PCR-Multiplex, é um método rápido e confiável para discriminar seis espécies difundidas globalmente e intensivamente coletadas. Características morfológicas semelhantes nas espécies causam uma problemática quando se trata de identificação de espécies, ainda mais nas condições em que chegam ao desembarque, sem cabeça e nadadeiras. Esses dados são corroborados por um estudo realizado por Pank *et al.* (2000), onde identificaram duas espécies de tubarões altamente capturados e morfologicamente muito semelhantes *Carcharhinus obscurus* e *Carcharhinus plumbeus*, através da técnica de PCR-Multiplex.

A técnica de multiplex se caracteriza por ser mais rápido e com baixo custo diferindo dos métodos que exigem etapas de restrição enzimática e seqüenciamento, encarecendo a metodologia (Martin, 1993; Shivji *et al.*, 1996; Heist & Gold, 1998).

Em um estudo realizado por Sebastian *et al.* (2008), utilizando o método multiplex de identificação com o uso de *primers* espécie-específico, obtendo rápida e precisa identificação de espécies, a partir de nadadeiras comercializadas em mercados do Chile. Shivji *et al.* (2005) analisando o comércio de nadadeiras em Hong Kong, com o uso de PCR-multiplex de identificação de espécies, indicaram que esse comércio era composto de apenas 14 espécies de tubarões, onde foi possível indicar ainda que os

tubarões-azuis formam um componente particularmente importante do mercado. Esses dados podem ser considerados um achado consistente com o fato de que os tubarões-azuis formam uma grande parte das capturas acessórias de tubarões na pesca com espinhel pelágico dirigida ao atum e espardate (Nakano & Seki, 2003).

O tubarão azul, *Prionace glauca*, é uma espécie oceânica amplamente distribuída nos oceanos do mundo, sendo o mais abundante nas capturas do espinhel pelágico, fator que explica a inexistência desta espécie na pesca artesanal de Cananéia. Fato que não ocorreu em Ubatuba em Santos onde pode-se observar que na pesca oceânica realizadas nesses municípios a freqüência de *Prionace glauca* foi de 32% e 68%, respectivamente.

Vooren (2000) estimou que a frota atuneira do Sudeste e Sul do Brasil foi responsável pela captura de 186.000 exemplares de tubarão em 1997, dos quais 156.000 foram descartados através do *finning*. Este número indica que 83% dos tubarões capturados não chegaram a ser desembarcados, o que implica que a estatística pesqueira não representou a produção real de 1997.

Aproximadamente cinco mil toneladas de tubarões são capturadas pela frota atuneira brasileira anualmente, sendo que deste montante o tubarão-azul representa aproximadamente 60% (ICCAT, 2005).

A estatística pesqueira para o Estado de Santa Catarina entre os anos de 2000 e 2005 (Univali 2001, 2002, 2003, 2004, 2007) mostrou que *Prionace glauca* é a espécie de tubarão que mais se destacou no volume desembarcado pela frota de espinhel-de-superfície industrial, representando em média 33,8 % da produção mensal dessa pescaria.

A espécie *Prionace glauca* está entre as espécies mais vulneráveis as extensivas e produtivas pescarias oceânicas, que em geral apresentam altas taxas de exploração. Mundialmente, em torno de 10 a 20 milhões de tubarões-azuis são retirados dos oceanos (Hilton-Taylor, 2000). Pelo fato dos monitoramentos serem muitas vezes inadequados, fica praticamente impossível de se avaliar o declínio populacional (Walker, 1998; Hilton-Taylor, 2000; Velasco *et al.*, 2007).

O tubarão mako, *Isurus oxyrinchus*, é uma espécie oceânica com hábitos epipelágicos e ocorre ao redor do planeta em águas tropicais e temperadas, e freqüentemente são encontrados em águas entre 16°C e 22° C (Compagno, 2001; Stevens, 2008). Ocorre em toda a costa do Brasil, principalmente nas áreas oceânicas, onde é freqüentemente capturada pelos barcos espinheiros.

Em um trabalho realizado por Montealegre-Quijano (2005), em Itajaí-SC com capturas com espinhel pelágico, ocorreu a presença de *Isurus oxyrinchus*, sendo a segunda espécie de tubarão mais capturada depois do tubarão azul (*Prionace glauca*), indicando grande ocorrência desta espécie na costa Sul.

Isurus oxyrinchus representa uma porcentagem importante das capturas dos grandes tubarões oceânicos epipelágicos, e se destacam entre as espécies capturadas pela frota de espinhel, saltando de 13 toneladas em 1975, para 138 toneladas em 1990, com base nas embarcações que operam no Sudeste e Sul do Brasil (Costa *et al.*, 1996), que corrobora os dados do presente trabalho, onde o único município que teve a ocorrência da espécie *Isurus oxyrinchus* foi Ubatuba localizado na costa Sudeste, onde as coletas

foram realizadas em barcos que realizaram a pesca oceânica, representando 13% da captura total deste município.

A espécie *Alopias vulpinus*, cação-raposa, teve ocorrência somente nos desembarques de Santos, onde foi realizada pesca oceânica nos períodos de setembro/2008 e maio/2009, com freqüência relativa de 10% do total das amostras.

Mancini (2005) relatou que a frota de espinhel de Santos e Guarujá era a segunda frota que mais capturava *Alopias vulpinus* no ano de 2003.

Sphyrna lewini, com ocorrência nos 3 municípios estudados, é uma espécie oceânicocosteira (Sadowsky, 1965; Gadig, 1994) muito visada pelo mercado de exportação devido ao alto valor comercial de suas nadadeiras, além da carne dos neonatos terem boa aceitação no mercado interno, nos estados de São Paulo e Santa Catarina. Observou-se ainda que os desembarques totais de elasmobrânquios, em peso, das frotas de emalhe de superfície, tiveram *Sphyrna lewini* representando 77,8% e 28,5%, em 1993 e 1995, respectivamente (SBEL, 2005), corroborando com os dados do presente trabalho, onde a pesca artesanal e industrial total de *Sphyrna lewini* foi de 31%, espécie mais capturada.

Barcos sediados nos portos de Ubatuba (SP) e Navegantes/Itajaí (SC) (Kotas, 1995; Zerbini e Kotas, 1998) têm como espécies-alvo os tubarões, que representam aproximadamente 98% das capturas, sendo os tubarões-martelo (*Sphyrna lewini* e *Sphyrna zygaena*) as principais espécies capturadas. No presente estudo, as análises realizadas nas amostras coletadas em Ubatuba, demonstraram que esse foi o segundo município com maior freqüência de *Sphyrna lewini*, representando 31% da captura total.

Ocorre nas capturas de grandes tubarões-martelo a prática do *finning*, fazendo com que as estatísticas sejam referentes somente de acordo com as carcaças desembarcadas (Kotas, 2004). No sul do Brasil as estatísticas de desembarque se referem a *Sphyrna lewini* e *Sphyrna zygaena* em conjunto, representando assim uma proporção desconhecida da captura real dessas espécies (Vooren, 2005).

Na região Sudeste e Sul do Brasil, Kotas (2004), analisando a pesca com rede de emalhar de superfície observou que 76% do total da produção eram representadas por *Sphyrna lewini*. Capturas com rede de emalhar de deriva, ao longo da região Sul do Brasil, revelaram que em um curto espaço de tempo, os estoques do tubarão-martelo deram sinais de sobrepesca (Kotas et al., 1995).

Sadowsky (1965 a 1971) e Gonzalez (1995) relataram a presença de *Sphyrna lewini* em Cananéia, corroborando com os dados do presente estudo sendo responsável pela captura de 42% do total capturado pela pesca oceânica e artesanal. O fato de a espécie *Sphyrna lewini* ser oceânicocosteira pode explicar a grande ocorrência em todas as localidades do presente estudo, tendo em vista a diferença nas artes de pesca utilizadas.

Os tubarões do gênero *Rhizoprionodon* constituem-se num importante recurso econômico para a pesca, onde representam freqüentemente, cerca de 50 a 60% dos cações capturados (Motta, 2001), mostrando a grande importância do uso sustentável desse recurso, com correto monitoramento.

Gadig (1994), em um estudo da fauna de tubarões da costa norte e nordeste do Brasil, afirma que *Rhizoprionodon porosus* é mais abundante nessas regiões, sendo *Rhizoprionodon lalandii* mais comum no sudeste. Essas

afirmações foram corroboradas por trabalhos realizados em alguns pontos da faixa costeira no sudeste brasileiro (Ferreira, 1988; Silva & Gadig, 1994) e também pelo presente trabalho, onde foi encontrado um número maior de indivíduos para *Rhizoprionodon lalandii*.

Lessa *et. al.* (1999) citam que a pesca artesanal é responsável por boa parte da captura de elasmobrânquios ao longo de toda a costa brasileira, com espécie do gênero *Rhizoprionodon* sendo comum nestas pescarias, corroborando com os dados do presente trabalho onde foi encontrada maior freqüência de espécies do gênero *Rhizoprionodon* nos locais onde foram realizadas pescas artesanais.

Rhizoprionodon lalandii é a espécie mais capturada pela pesca artesanal no litoral sul do estado de São Paulo, em Itanhaém, representando quase 60% da captura total de cações, seguido pela espécie *Rhizoprionodon porosus* representando 16% da captura (Namora, 2001), no presente estudo os resultados apresentados para região de Cananéia, revelaram que a espécie mais freqüente no desembarque de pesca artesanal foi *Rhizoprionodon lalandii*, representando 47%, os trabalhos de Sadowsky (1965 a 1971) e Gonzalez (1995) também corroboram com esses resultados, onde relataram a presença de *Rhizoprionodon lalandii* e *Rhizoprionodon porosus* nessa mesma região.

Segundo Motta *et al.* (2005), a espécie *Rhizoprionodon lalandii* é a mais capturada, representando 60% de todos os tubarões capturados em toda a costa de São Paulo, e 50% da captura na zona costeira pela frota artesanal em todo o Brasil, no presente estudo os resultados apresentados para região de Cananéia, revelaram a ocorrência de 47% do total capturado pela frota artesanal, seguido de Ubatuba com 26% e Santos com 8%.

Kotas (2004) analisou a pesca com redes de emalhar de superfície nas regiões sudeste e sul do Brasil, e observou que apesar da pesca ser direcionada principalmente para os tubarões-martelo, existe a captura incidental de outras espécies de elasmobrânquios como *Rhizoprionodon lalandii* e *Rhizoprionodon porosus*.

As medidas de manejo e preservação tomadas em favor de espécies de interesse comercial são raras, e atualmente é observado que muitos estoques pesqueiros já alcançaram seus limites de exploração. Se considerarmos as perspectivas anunciadas sobre o aumento mundial da demanda de produtos pesqueiros, chegaremos a um quadro extremamente alarmante. Com a inexistência de mecanismos apropriados para a fiscalização da pesca e de planos para manejo sustentável das espécies mais exploradas, torna-se urgente e necessária a formulação de instrumentos que possam colaborar para reversão desse processo.

Deve ser ressaltado que a técnica molecular utilizada constitui uma ferramenta de ampla aplicação, podendo ser utilizadas na identificação de material já processado ou em processo de comercialização, fornecendo informações para o estabelecimento de programas de conservação e manejo dos tubarões e até dos Elasmobrânquios de forma geral.

CONCLUSÕES



5 Conclusões

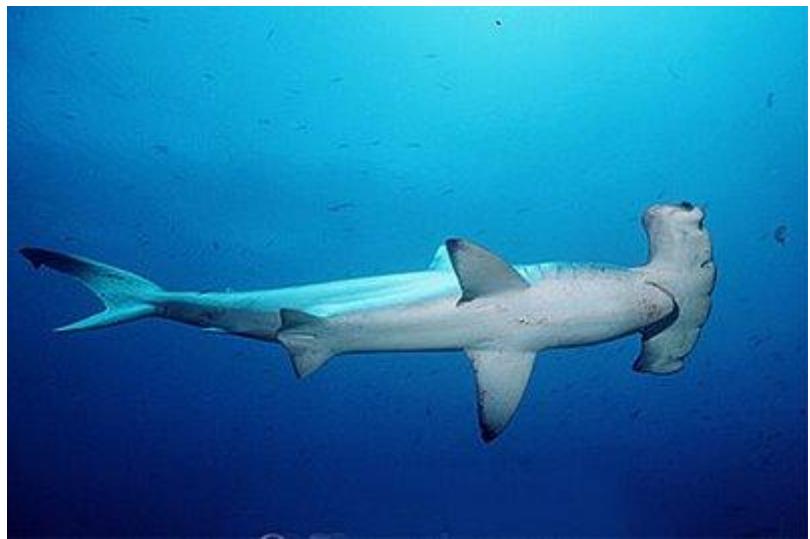
É de fundamental importância o monitoramento contínuo das capturas de elasmobrânquios, para garantir que a pesca não exceda a capacidade de reposição do estoque. Entretanto, o monitoramento dessas capturas na maioria dos países é deficitária, principalmente por ser tratar de identificação baseadas em dados morfológicos. Nesse sentido o presente projeto visou a utilização de um protocolo viável e de baixo custo para a caracterização confiável dos tubarões com o uso de marcador genético molecular onde pudemos concluir que:

1. A técnica de PCR-multiplex utilizada mostrou-se de fácil aplicabilidade e eficaz no que diz respeito à identificação de espécies de tubarões;
2. A ordem Carcharhiniformes foi a mais representativa, com 762 amostras identificadas pertencentes a esta ordem, sendo encontradas nos 3 municípios estudados.
3. No município de Ubatuba com amostras capturadas pela pesca oceânica e costeira foi possível a identificação de 4 espécies utilizando a técnica de PCR-multiplex, sendo a mais abundante nesse desembarque *Sphyrna lewini* 31% de frequência.
4. O município de Santos foi o mais abundante em relação as espécies identificadas por PCR-multiplex, 5 no total, onde *Prionace glauca* foi a

mais freqüente com 35% de freqüência no desembarque que utilizou a pesca oceânica.

5. *Rhizoprionodon lalandii* foi a espécie identificada pela PCR-multiplex com maior ocorrência no município de Cananéia, representando 47% da captura total na pesca artesanal deste município.
6. Apesar da comprovada eficácia de métodos de genética, sua aplicação em projetos de monitoramento, conservação e gestão da pesca marítima ainda é raro.
7. Esses são os primeiros relatos de captura de elasmobrânicos no estado de São Paulo.
8. Tal técnica, além de viabilizar a identificação das espécies de tubarões a partir da carne comercializada, se mostrou de fácil aplicabilidade e baixo custo, possibilitando sua utilização no manejo adequado dos estoques explorados na costa brasileira.

REFERÊNCIAS



6. REFERÊNCIAS

- Abercrombie DL, Clarke SC, Shivji MS (2005) Global-scale genetic identification of hammerhead sharks: application to assessment of the international fin trade and law enforcement. *Conservation Genetics*, 6, 755–788.
- Amorim, A. F. de, 1992. Estudo da pesca e reprodução do cação-azul *Prionace glauca* Linnaeus, 1758, capturado no sudeste e sul do Brasil. Rio Claro. Tese para obtenção do Título em Doutor em Ciências Biológicas. Departamento de Zoologia da Universidade Estadual Paulista, 205p.
- Amorim, A. F.; Arfelli, C. A.; Fagundes, L., 1998. Pelagic elasmobranches caught by longliners off southern Brazil during 1974-97: an overview. *Mar. Freshwater Research*, 49, 621-632.
- Antero Silva, J. N.. 1993. Ocorrência de tubarões nas frotas atuneiras com desembarques no Rio Grande do Sul. VI Reunião do grupo de trabalho sobre pesca e pesquisa de tubarões e raias no Brasil. Resumos. Recife, PE. p. 48.
- Baker CS, Cipriano F, Palumbi SR (1998) Molecular genetic identification of whale and dolphin products from commercial markets in Korea and Japan. *Mol. Ecol.*, 5, 671–685.
- Barleta, M.; Corrêa, M. F. M.; Sunyé, P. S. 1989. First record of occurrence of a female of *Mobula rochebrunei* (Vaillant, 1879) in western Atlantic Paraná state Brazil. IV Reunião do Grupo de trabalho sobre pesca e pesquisa de tubarões e raias no Brasil. Resumos. Tamandaré, PE, p. 23.
- Bonfil, R.. 1994. Overview of world elasmobranch fisheries. FAO Technical Paper, No. 341, 119p.

Buencuerpo, V.; Ríos, S.; Morón, J., 1998. Pelagic sharks associated with the swordfish, *Xiphias gladius*, fishery in the eastern North Atlantic Ocean and the Strait of Gibraltar. Fish. Bull. 96: 667 – 685.

Camhi, M., S. Fowler, J. Musick, A. Bräutigam, and S. Fordham. 1998. Sharks and their relatives: ecology and conservation. Occasional paper 20. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.

Carey, F. G. and Scharold, J. A. 1990. Movements of blue sharks in depth and course. Mar. Biol., 109: 329-342.

Casey, J.G., and Kohler, N.E. 1992. Tagging studies on the shortfin mako shark (*Isurus oxyrinchus*) in the western North Atlantic. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 43: 45–60.

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

Castro J, Pardo BG, Sánchez L and Martínez P (1999) rDNA RFLPs as genetic markers for resource management in brown trout. J Fish Biol 55:221-225.

Chapman DD, Abercrombie DL, Douady CJ, Pikitch EK, Stanhope MJ and Shivji MS (2003) A streamlined, bi-organelle, multiplex PCR approach to species identification: Application to global conservation and trade monitoring of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. Conserv Genet 4:415-425.

Clarke SC, McAllister MK, Milner-Gulland EJ *et al.* (2006) Global estimates of shark catches using trade records from commercial markets. *Ecology Letters*, 9, 1115–1126.

Clarke SC, Magnussen JE, Abercrombie DL, McAllister MK and Shivji MS (2006) Identification of shark species composition and proportion in the Hong Kong shark fin market based on molecular genetics and trade records. *Conserv Biol* 20:201-211.

Compagno, L.J.V. 1984. FAO species catalog. Vol. 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1. FAO Fish. Synop. No. 125.

Compagno, L. J. V. FAO Species Catalogue. Sharks of the World. A, Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Part 2. Carcharhiniformes. FAO Fish. Synop., v. 4, n. 125, p. 251-655, 1984.

Compagno L.J.V, MA Marks, IK Fergusson (1997) Threatened fishes of the world: *Carcharodon carcharias* (Linnaeus, 1758) (Lamnidae). *Environ. Biol. Fishes*, 50, 61–62.

Compagno, L.J.V. (1999). Checklist of living elasmobranchs. In: Hamlett, W.C. (ed.) Sharks, Skates, and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes. The Hopkins University Press, Baltimore: 470-498.

Compagno, L.J.V. 2001. *Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date*. Volume 2. Bullhead, mackerel and carpet sharks (Heterodontiformes, Lamniformes and Orectolobiformes). FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. No. 1, Vol. 2. Rome, FAO. 108 - 117.

Compagno, R. (2005). Geração automática de políticas para detecção de intrusões baseadas em evidências de ataque. Dissertação de Mestrado-Universidade de Campinas – UNICAMP, São Paulo. Disponível em : <http://www.las.ic.unicamp.br/paulo/ronaldo.compagno-temp.pdf>

Costa FES, Braga FMS, Amorim AF, Arfelli CA (1996) Fishery analysis on Shortfin Mako, *Isurus oxyrinchus*, off southeast and south of Brazil (Elasmobranchii: Lamnidae). Arq de Ciências do Mar 30:5–12

Costa, L. and Chaves, P. T. C. Elasmobrânquios capturados pela pesca artesanal na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina, Brasil. v6 (n3)- Biota Neotropica. 2006.

De-Franco, B.A.; Mendonça, F.F.; Hashimoto, D.T.; Porto-Foresti, F.; Oliveira, C.; Foresti, F. (2009). Forensic identification of the guitarfish species *Rhinobatus horkelli*, *R. percellens* and *Zapteryx brevirostris* using Multiplex-PCR. Molecular ecology resources. 10 (1): 197-199.

Didier, D. A. Phylogenetic systematics fo extant chimaeroid fishes (Holocephali, Chimaeroidei). Amer. Mus. Novit., v. 3119, p. 1- 86, 1995.

Dizon A, CS Baker, F Cipriano, G Lento, P Palsboll, R Reeves (eds.) (2000) *Molecular Genetic Identification of Whales, Dolphins, and Porpoises: Proceedings of a Workshop on the Forensic Use of Molecular Techniques to Identify Wildlife Products in the Marketplace*. U.S. Dept. Commerce, NOAA Technical Memorandum, NOAA-TM-NMFS-SWFSC-286.

Ebert, D.A. & Compagno, L.J.V. (2007). Biodiversity and systematics of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). Environmental Biology of Fishes, 80: 111-124.

Environment Australia (2001) Draft recovery plan for the great white shark in Australia. <http://www.ea.gov.au/coasts/species/sharks/greatwhite.html>

Environment Australia (2001) CITES Appendix III listing of the white shark- Identification manual for the white shark (Attachment C).
<http://www.ea.gov.au/coasts/species/sharks/greatwhitemanual.HTML>

Evangelista, J. E. V.; Oliveira, G. M.; Vasconcelos, J. 1998. Evolução da pesca de atuns no Nordeste do Brasil. Boletim Técnico-Científico do CEPENE. Ed. IBAMA, vol. 6(1): 77-108.

FAO (2000) *Conservation and Management of Sharks*. FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries 4, Suppl. 1. Rome, 37 pp.

Ferreira, B. P. Ciclo reprodutivo de *Rhizoprionodon lalandei* (Valenciennes) e *R. porosus* (Poey) (Selachii, Carcharhinidae) na região de Barra de Guaratiba, RJ. An. Acad. bras. Ci., v. 60, n. 1, p. 91- 101, 1988.

Ferris, S.D. and Berg, W.J. (1987). The utility of mitochondrial DNA in fish genetics and management. In: Population Genetics and Fisheries Management (Ryman, N. and Utter, F., eds.). University of Washington Press, Seattle, WA, pp. 277-301.

Ficher, N. S.; Vooren, C. M. 1997. Estudo comparativo da diversidade de elasmobrânquios capturados por espinhel de superfície em duas diferentes áreas da região sul do Brasil na primavera. I Reunião da Sociedade Brasileira para estudo dos elasmobrânquios, Ilhéus, BA, Resumos. p. 176.

Figueiredo JL. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. I. Introdução. Cações, raias e quimeras. Museu de Zoologia – Universidade de São Paulo 1977 ; 104.

Gadig OFB. Fauna de tubarões da costa Norte/Nordeste do Brasil (Chondrichthyes: Elasmobranchii. João Pessoa. Dissertação de Mestrado em Zoologia, Universidade Federal da Paraíba 1994; 330.

Gadig, O. B. F. e Rosa, R. S. 1994. Fauna de arraias da costa Norte/Nordeste do Brasil. In; XX Congresso Brasileiro de Zoologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. RESUMOS: p. 89.

Gadig, O. B. F. 1998. Relatório de Atividades - REVIZEE Score Sul - Taxonomia e Sistemática de Elasmobrânquios. Cabo de Santa Marta – SC a Cabo Frio - RJ - Espinhel de fundo referente o ano de 1997.

Gadig, O. B. F. 1998. Peixes cartilaginosos da costa do estado de São Paulo. Ceciliiana, VIII (9):41-51.

Gadig OBF. Tubarões da Costa Brasileira. Tese de Doutorado, UNESP, Campus de Rio Claro, São Paulo, 2001; 343.

Gonzales, M.M.B. 1995. Diversidade de elasmobrânquios do litoral de Cananéia, Estado de São Paulo. VII Encontro do grupo de trabalho sobre pesca e pesquisa de tubarões e raias no Brasil. Resumos... Rio Grande, RS. p-35.

Goodyear, C. P., 1999. An analysis of the possible utility of time-area closures to minimize billfish by-catch by U.S. pelagic longlines. Fish. Bull. 97 (2): 243-255.

Greig TW, Moore MK and Woodley CM (2005) Mitochondrial gene sequences useful for species identification of western North Atlantic Ocean sharks. Fish Bull 103:516- 23.

Gulland, J.A., 1983. Fish stock assessment (FAO/Wiley series on food and agriculture). V.1, A Wiley Interscience publication.

Hazin, F. H. V., Couto, A. A., Kihara, K., Otsuka, K., Ishino, M. Distribution and abundance of pelagic sharks in the south-western equatorial Atlantic. *J. Tokyo Univ. Fisheries*, v. 77, n. 1, p. 51-64, 1990.

Hazin, F. H. V.; Lessa, R. P. T.; Vaske Jr., T.; Oliveira, P. G. V.; Portella, D. B.; Rangel, C. E. 1997. Levantamento da fauna de elasmobrânquios da reserva biológica do Atol das Rocas. I Workshop NEOCEANO. Resumos... Recife, PE. p. 76.

Hazin, F. H. V.; Fischer, A. F.; Brito, F. L. 1997. Estudos preliminares da biologia reprodutiva do tubarão martelo (*Sphyraena lewini*), capturados no Atlântico Sudoeste Equatorial. I Reunião da Sociedade Brasileira para estudo dos Elasmobrânquios. Resumos... Ilhéus, BA. p. 82.

Hazin, F. H. V.; Zagaglia, C. R.; Damiano, C., 1998. Dados preliminares sobre a biologia reprodutiva do tubarão-boca-de-velha, *Mustelus canis* (Mitchell, 1815), capturado no talude continental do Atlântico Sudoeste Equatorial. XXII Congresso Brasileiro de Zoologia. Resumos... p. 231.

Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S., de Waard, J.R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270: S596-S599.

Heist EJ, JR Gold (1999) Genetic identification of sharks in the U.S. Atlantic large coastal shark fishery. *Fish. Bull.*, 97, 53–61.

Hilton-Taylor, C. 2000. IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 61 p.

- Hoelzel AR (2001) Shark fishing in fin soup. *Conserv. Genet.*, 2, 69–72.
- Hoenig, J. M., Gruber, S. H. Life-history patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. In: Pratt, H. L., Gruber, S. H., Taniuchi, T. (eds.) *Elasmobranch as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of the Fisheries*. NOAA Tech, Rep., v. 90, p. 1-16, 1990.
- Hoff, T.B., and Musick, J.A. 1990. Western North Atlantic shark fishery management problems and informational requirements. *In Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries. Edited by H.L. Pratt, Jr., S.H. Gruber, and T. Taniuchi. NOAA Tech. Rep. NMFS No. 90. pp. 455–471.*
- Holden, M.J. 1973. Are long-term sustainable fisheries for elasmobranchs possible? *Rapp. P.V. Reun. Cons. Int. Explor. Mer*, 164: 360–367
- Holden, M. J. Problems in the rational exploitation of elasmobranch populations and some suggested solutions. In: Jones, F. R. H. (ed.) *Sea Fisheries Research*. New York, John Wiley and Sons, 1974. P. 117-137.
- Holts, D.B. 1988. Review of U.S. west coast commercial shark fisheries. *Mar. Fish. Rev.* 50: 1–8.
- Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Taylor E, Burridge M, Watkinson D, Dumont P, Curry A, Bentzen P, Zhang J, April J, Bernatchez L (2008) Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *Plos One* 3(6):2490
- IBAMA. Estatística da Pesca 2007 Brasil e Grandes Regiões e Unidades da Federação. Brasília-DF. Dezembro 2007.

- ICCAT. 2005. Report of the 2004 inter-sessional meeting of the ICCAT subcommittee on by-catches: shark stock assessment. Tokyo, Japan, 14-18 de junho, 2004. Col. Vol. Sci. Pap., ICCAT, Madrid, 58(3): 799-890.
- Innes BH, PM Grewe, RD Ward (1998) PCR-based genetic identification of marlin and other billfish. *Mar. Freshwat. Res.*, 49, 383–388.
- IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 23 March 2010.
- Kotas, J. Gamba, M. Da R.; Conoly, P. C.; Hostim-Silva, M.; Mazzoleni, R. C.; Pereira, J. A. 1995. A pesca de emalhe direcionada aos elasmobranquios com desembarques em Itajaí e Navegantes, S.C. VII Reunião do Grupo de Trabalho s/ Pesca e Pesquisa de Tubarões e Raias no Brasil. Rio Grande, 46p.
- Kotas, J. E.; Rocha-Gamba, M.; Conolly, P. C.; Hostim-Silva, M.; Mazzoleni, R. C.; Pereira, J., 1995. Gillnet Activities in Southern Brazil.. Centro de Pesquisa e Extensão Pesqueira do Sudeste, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: Itajaí, Santa Catarina, Brazil. 48 p.
- Kotas, J. E.; Santos, S. Dos; Azevedo, V. G. de, 1997. Relatório Anual Técnico-Científico. A pesca de emalhe no município de Ubatuba, litoral norte de São Paulo. Avaliação de Estoques de Elasmobrânquios.
- Kotas, J.E., 1997. Fauna acompanhante nas pescarias de camarão em Santa Catarina. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Centro de Pesquisa e Extensão Pesqueira do Sudeste-Sul. Coleção Meio Ambiente. Série Estudos Pesca; nº. 24. 76 p.

Kotas, J. E.; Azevedo, V. G.; Santos, S., 1999. A pesca de espinhel de superfície (“longline”) na região sudeste-sul do Brasil. Ano – 1998. Relatório Anual Técnico-Científico. Sub-Projeto – Avaliação Estatística de Elasmobrânquios. Programa REVIZEE – Score Sul. 183 pp.

Kotas, J.E. Dinâmica de populações e pesca do tubarão-martelo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834), capturado no mar territorial e zona econômica exclusiva do sudeste-sul do Brasil. Tese de Doutorado apresentada ao departamento de Ciências da engenharia ambiental, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos – SP. 377p, 2004.

Lessa, R. P. 1986. Levantamento faunístico dos Elasmobrânquios (Pisces: Chondrichthyes) do litoral ocidental do estado do Maranhão, Brasil. Bol. Lab. Hidrob., São Luís, 7:27-41.

Lessa, R.; Santana, F. M.; Souza, R. 1995. Abundância relativa, frequência e reprodução sexual das raias capturadas no litoral de Recife. VII Reunião do grupo de trabalho sobre pesca e pesquisa de tubarões e raias no Brasil. Resumos... Rio Grande, RS. p. 47.

Lessa, R. P.; Rincón, G.; Silva, F. M. S. da. 1997. Identificação das espécies e análise morfométrica dos tubarões capturados no Programa REVIZEE Nordeste. Relatório técnico REVIZEE- SCORE Nordeste, SubÁrea Dinâmica de Populações e Avaliação de Estoques. Capítulo 3. 29 p.

Lessa, R. P. T.; Menni, R. C.; Lucena, F. 1998. Biological observations on *Sphyrna lewini* and *Sphyrna tudes* (Chondrichthyes: Sphyrnidae) from Northern Brazil. Vie Milieu, 48(3):203-213.

Lessa, R.; Santana, F. M.; Rincón, G.; Gadig, O. B. F.; El-Deir, A. C. A.

Biodiversidade de elasmobrânquios do Brasil. In: Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, Recife, 1999.

Lessa, R. P. T.; Batista, V.; Almeida, Z., 1999a. Occurrence and biology of the daggernose shark, *Isogomphodus oxyrhynchus* (Chondrichthyes: Carcharhinidae) off the Maranhão coast (Brazil). *Bull. of Mar. Scien.*, 64(1): 115-128.

Lessa, R. P. T.; Santana, F.; Paglerani, R., 1999b. Age, growth and stock structure of the oceanic whitetip shark, *Carcharhinus longimanus*, from the southwestern equatorial Atlantic. *Fish. Res.*, Holland, v. 42, p. 21-30.

Louro, M. P.; Crispino, R. L. 1997 Aspectos da Distribuição, Reprodução e Alimentação de *Squalus cubensis* na Região de Ubatuba, SP. XII Encontro Brasileiro de Ictiologia. Resumos... p. 335.

Magnussen JE, Pikitch EK, Clarke SC et al. (2007) Genetic tracking of basking shark products in international trade. *Animal Conservation*, 10, 199–207.

Maisey, J. G. Heads and tail: a chordate phylogeny. *Cladistics*, v.2, p. 201-256, 1986.

Malik S, PJ Wilson, RJ Smith, DM Lavigne, BN White (1997) Pinniped penises in trade: A molecular-genetic investigation. *Conserv. Biol.*, 11(6), 1365–1374.

Mancini, P.L. 2005. Estudo biológico-pesqueiro do tubarão-raposa, *Alopias superciliosus* (LAMNIFORMES, ALOPIIDAE) capturado no sudeste-sul do

Brasil. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Rio Claro: 125p.

Martin AP (1993) Application of mitochondrial DNA sequence analysis to the problem of species identification of sharks. In: *Conservation Biology of Elasmobranchs* (ed. Branstetter S), pp. 53–59. U.S. Dept. Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration Technical Report NMFS-115.

Mendonça FF, Hashimoto DT, Porto-Foresti F, Oliveira C, Gadig OBF, Foresti F (2009) Identification of the shark species *Rhizoprionodon lalandii* and *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) by multiplex PCR and PCR-RFLP techniques. *Mol Ecol Resour* 9:771–773

Mendonça FF, Hashimoto DT, De-Franco, B.A.; Porto-Foresti F, Oliveira C, Gadig OBF, Foresti F (2009) Genetic Identification of Lamniform and Carcharhiniform Sharks using Multiplex-PCR. *Conservation Genetic Resour.* 5p.

Meneses, T.S.; Santod, F.N. & Chaves, L.C.T. (2003). Ocorrência da raia-viola, *Rhinobatus percellens* Walbaum, 1792 (Chondrichthyes; Rhinobatidae) no litoral de Sergipe. *Anais da Semana da Pesquisa da Universidade Tiradentes, Aracajú.*

Montealegre-Quijano, S.; Carvalho, R.I. & Vooren, C.M. 2005. Sobre a distribuição e abundância de elasmobrânquios pelágicos no sul do Brasil. XVI EBI:107.

Motta FS. A pesca artesanal e a reprodução de *Rhizoprionodon lalandii* (Elasmobranchii- Carcharhinidae) no litoral sul do estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, UNESP, Campus de Rio Claro, 2001; 88.

- Motta, F. S., O. B. F. Gadig, F. M. S. Braga & R. C. Namora. 2005. Size and sex compositions, length-weight relationship, and occurrence of the Brazilian sharpnose shark, *Rhizoprionodon lalandii*, caught by artisanal fishery from southeastern Brazil. *Fishing Research*, 74: 116-126.
- Namora RC, Motta FS, Gadig OBF. Hábitos alimentares do cação frango, *Rhizoprionodon lalandii* (Elasmobranchii-Carcharhinidae) na costa sul de São Paulo. In: Encontro Brasileiro de Ictiologia 2001; 14.
- Nakano H & MP Seki. 2003. Synopsis of biological data on the blue shark, *Prionace glauca* Linnaeus. *Bulletin of Fisheries Research Agency* 6: 18-55.
- Paiva, M. P., 1997. Recursos pesqueiros estuarinos e marinhos do Brasil. Universidade Federal do Ceará Edições. 286 p.
- Palumbi SR, F Cipriano (1998) Species identification using genetic tools: The value of nuclear and mitochondrial gene sequences in whale conservation. *J. Hered.*, 89, 459–464.
- Pank M, Stanhope M, Natanson L, Kohler N and Shivji M (2000) Rapid and simultaneous identification of body parts from the morphologically similar sharks *Carcharhinus obscurus* and *Carcharhinus plumbeus* (Carcharhinidae) using multiplex PCR. *Mar Biotechnol* 3:231-240.
- Pimenta, E. G.; Amorim, A. F.; Arfelli, C. A. 1993. Captura de cações e raias na região de Cabo-Frio-RJ (março/92). VI Reunião do Grupo de Trabalho sobre Pesca e Pesquisa de Tubarões e Raias no Brasil. Resumos... Recife, PE. p. 5.

Queiroz, E. L.; Rebouças, S. C.. 1995. Tubarão quem tu és? Salvador, GECET/UFBA/Fapex.

Rose D (1996) *An Overview of World Trade in Sharks and other Cartilaginous Fishes*. TRAFFIC International, Cambridge, United Kingdom.

Ross, R. A., Schafer, F. Freshwater stingrays. Germany, Verlag ACS, 2000.
192 p.

Sadowsky, V. 1965. The hammerhead sharks of the littoral zone of São Paulo, Brazil, with the description of a new species. *Bull. Mar. Sci.*, 15(1): 1- 12.

Sadowsky, V. 1967. The adult stage of the shark *Carcharhinus remotus* (Duméril, 1865). *Senck. biol.* 48 (5/6):327-334.

Sadowsky, V. 1971. Estudio economico sobre los Elasmobrânquios de la Zona litoral Paulista. CARPAS./5/D.Téc.1. 1-11.

Sadowsky, V. 1971. Estudio economico sobre los Elasmobrânquios de La Zona litoral Paulista. CARPAS./5/D.Téc.1. 1-11.

Sadowsky, V.; Amorim, A. F.; Arfelli, C. A.; Hazin, F. H. V. 1989. Registro de tubarão-cachorro, *Pseudocarcharias kamoharai* (Matsubara, 1936) no nordeste do Brasil. 41ª Reunião Anual-SBPC . Resumos- Suplemento de Ciência e Cultura. Fortaleza, CE. 4I.

Sadowsky, V.; Arfelli, C. A.; Amorim, A. F.; Rodrigues, E. S.; Oliveira, M. A. M. 1989. Aspectos sobre a biologia pesqueira da mangona, *Eugonophodus taurus*, capturada na região de Cananéia-SP. IV Reunião do grupo de trabalho de pesquisa e pesquisa de tubarões e raias do Brasil. Resumos... Tamandaré, PE. p. 20.

Santos, R. A. and M. Haimovici. 2002. Cephalopods in the trophic relations off southern Brazil. *Bulletin of Marine Science*, 71(2): 753–770.

Sebastian, H.; Haye, P.A.; Shivji, M.S. Characterization of the Pelagic Shark-fin trade in North-Central Chile by genetic identification and trader surveys.

Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias Del mar, Universidade Católica Del Norte, Coquimbo Chile. 2008.

Shivji M, Clarke S, Pank M et al. (2002) Genetic identification of pelagic shark body parts for conservation and trade monitoring. *Conservation Biology*, 16, 1036–1047.

Shivji M, Clarke S, Pank M, Natanson L, Kohler N, Stanhope M (2002) Genetic identification of pelagic shark body parts for conservation and trade monitoring. *Conserv. Biol.*, 16(4), 1036–1047.

Shivji MS, Chapman DD, Pikitch EK, Raymond PW (2005) Genetic profiling reveal illegal international trade in fins of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. *Conservation Genetics*, 6, 1035–1039.

Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios – SBEEL, Plano Nacioal de Ação para a Conservação e o Manejo dos estoques de Peixes Elasmobrânquios no Brasil. Recife (2005)

www.sbeel.org.br/downloads/plano.pdf

Springer VGA. A Revision of the Carcharhinidae shark genera *Scoliodon*, *Loxodon*, and *Rhizoprionodon*. Proc U S Natl Mus 1964; 115 (3493) 559-632.

Stevens, J.D. 1983. Observations on reproduction in the shortfin mako *Isurus oxyrinchus*. Copeia, 1983: 126–130.

Stevens, J.D. 2008. *The Biology and Ecology of the Shortfin Mako Shark, Isurus oxyrinchus*. In: Sharks of the Open Ocean: Biology, Fisheries and

Conservation. Edited by Cahmi, M. D.; Pikitch, E. K. and Babcock, E. A. Blackwell Publishing Ltd. Chapter 7. 87- 94 p.

Stride, R. K.; Batista, V. Da S.; Raposo, L. A. B. 1992. Pesca Experimental de Tubarão com redes de emalhar no litoral Maranhense. São Luís - Maranhão. 160p.

Thorson, T. B. The status of the bull shark, *Carcharhinus leucas*, in the Amazon River. *Copeia*, v.1972, v. 3, p. 601-605, 1972.

Toledo Filho, S., Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F., Galhardo, E., Donola, E. Conservação genética de peixes em projetos de repovoamento de reservatórios. São Paulo: USP, 1992. 39 p. USP. Cadernos de Ictiogenética.

Univali, 2001. Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina ano 2000: ações prioritárias ao desenvolvimento da pesca no sul do Brasil. Itajaí. /Relatório técnico Universidade do Vale do Itajaí. Pró-Reitoria de Ensino, Centro de Educação Superior de Ciências Tecnológicas, da Terra e do Mar. 61p.

Univali, 2002. Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina ano 2001: ações prioritárias ao desenvolvimento da pesca no sul do Brasil. Itajaí. /Relatório técnico Universidade do Vale do Itajaí. Pró-Reitoria de Ensino, Centro de Educação Superior de Ciências Tecnológicas, da Terra e do Mar. 89p.

Univali, 2003. Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina ano 2002: ações prioritárias ao desenvolvimento da pesca e aquicultura no sul do Brasil. Itajaí. Relatório técnico Universidade do Vale do Itajaí. Pró-Reitoria de Ensino, Centro de Educação Superior de Ciências Tecnológicas, da Terra e do Mar. 93p.

Univali, 2004. Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina ano 2003: ações prioritárias ao desenvolvimento da pesca no sul do Brasil. Itajaí. Relatório técnico Universidade do Vale do Itajaí. Pró-Reitoria de Ensino, Centro de Educação Superior de Ciências Tecnológicas, da Terra e do Mar. 80p.

Univali, 2007. Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina - ano 2005 e panorama 2001/2005: programa de apoio técnico e científico ao desenvolvimento da pesca no Sudeste e Sul do Brasil, Universidade do Vale do Itajaí. Relatório técnico Universidade do Vale do Itajaí. Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar. 80p.

Vannuccini S (1999) *Shark Utilization, Marketing and Trade*. FAO Technical Fisheries Paper 389. Rome, 470 pp.

Valdez-Moreno M, Ivanova NV, Eliás-Gutiérrez M, Contreras-Balderas S, Hebert PDN (2009) Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. J Fish Biol 74:377–402

Vaske Jr. T.; Rincón-Filho, G. 1998. Conteúdo estomacal dos tubarões azul (*Prionace glauca*) e anequim (*Isurus oxyrinchus*) em águas oceânicas no sul do Brasil. Rev. Brasil. Biol., 58(3):445-452.

Velasco, G., Araújo, J. N., Castello, J. P & Oddone, M. C. 2007. Exploring MSY strategies for elasmobranch fishes in an ecosystem perspective. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 2(2): 163-178.

Vooren, C. M., 1997. Demersal Elasmobranchs. Subtropical Convergence Environments: the coast and sea in the Southwestern Atlantic. (Eds. Seeling, U.; Odebrecht, C.; Castello, J. P.). Rio Grande, RS.

Vooren, C.M.; R. Lessa. 1981. Distribuição e abundância de elasmobrânquios na plataforma continental do Rio Grande do Sul. 33a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia, Salvador, Julho de 1981. Livro de Resumos, pg. 573.

Vooren, C. M.; Britto, E. N., 1998. Projeto ARGO. Relatório Nº. 02 . Período: maio de 1997 a fevereiro de 1998. Fundação Universidade do Rio Grande (FURG).209 p.

Vooren, C. M. 2000. A frota espinheleira do sudeste-sul descartou 156.000 tubarões no ano de 1997. In: Resumos da II Reuniao da Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobranquios - SBEEL, Santos-SP, pag. 3.

Vooren CM, Klipper S, Galina AB (2005) Biologia e status de conservação dos tubarões-marelo, *Sphyrna lewini* e *Sphyrna zygaena*. In: Vooren CM, Klipper. Ações para conservação de tubarões e raias no Sul do Brasil. Editora Igaré, Porto Alegre. 262

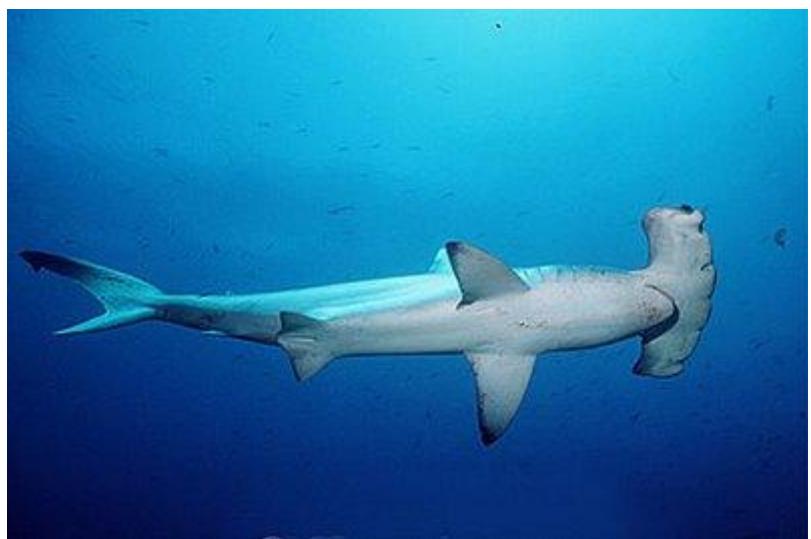
Walker, T. I. 1998. Can shark resources be harvested sustainably? A question revisited with a review os shark fisheries. Marine and Freshwater Research, 49: 553-572.

Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN (2005) DNA barcoding Australia's fish species. Philos Trans Royal Soc 1-11

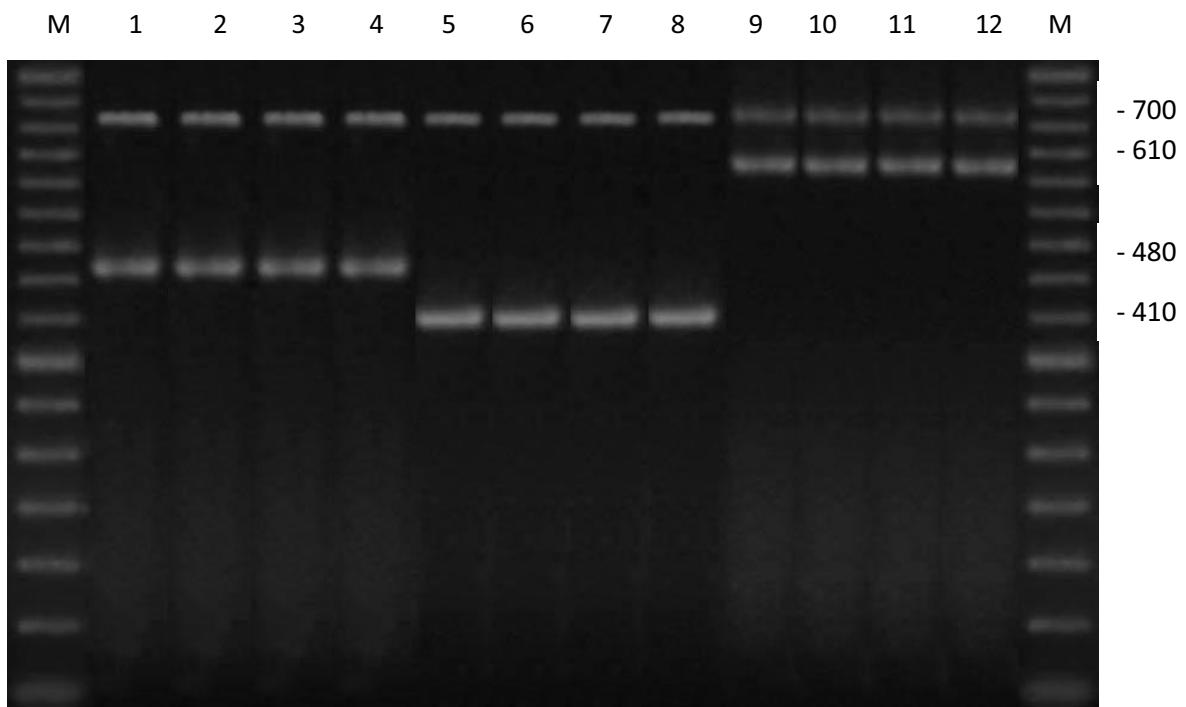
Werder, U., Alhanati, C. E. Informe sobre um tubarão (*Carcharhinus leucas*), capturado no Amazonas com alguns detalhes de sua morfologia externa. Acta Amazonica, v.11, n. 1, p. 193-196, 1981.

Zerbini A. N.; Kotas, J. E., 1998. A note on Cetacean Bycatch in Pelagic Driftnetting off Southern Brazil. Rep. Int. Whal. Commn. 48. SC/49/SM7. 519-524.

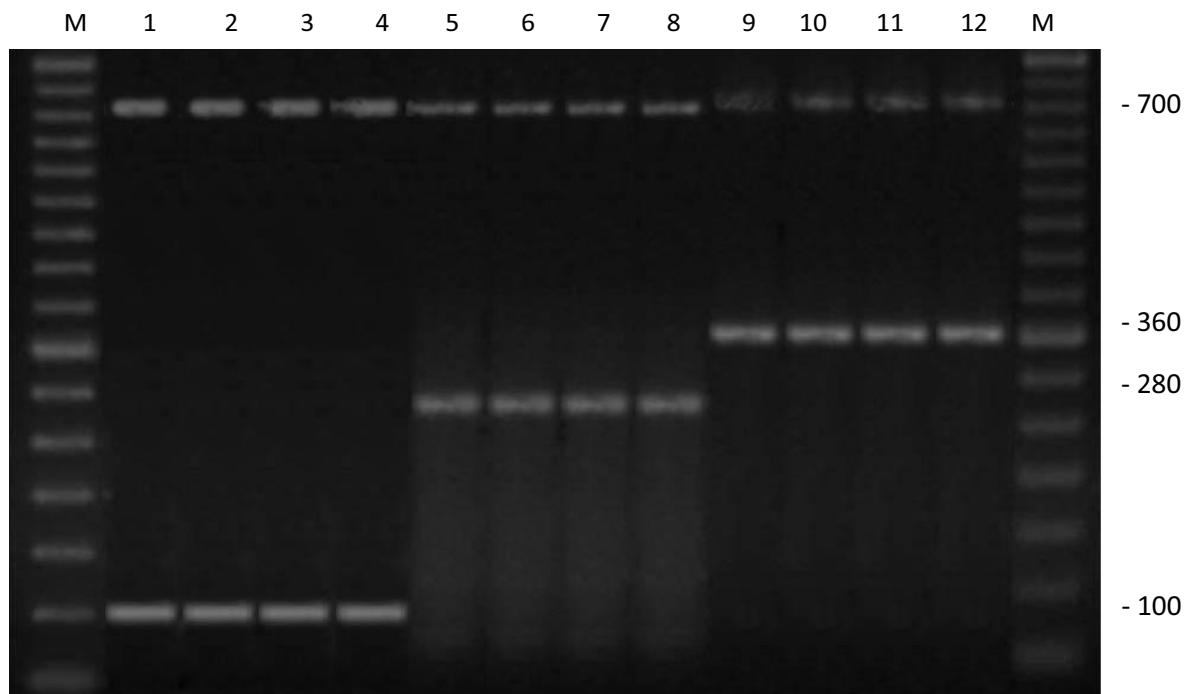
ANEXOS



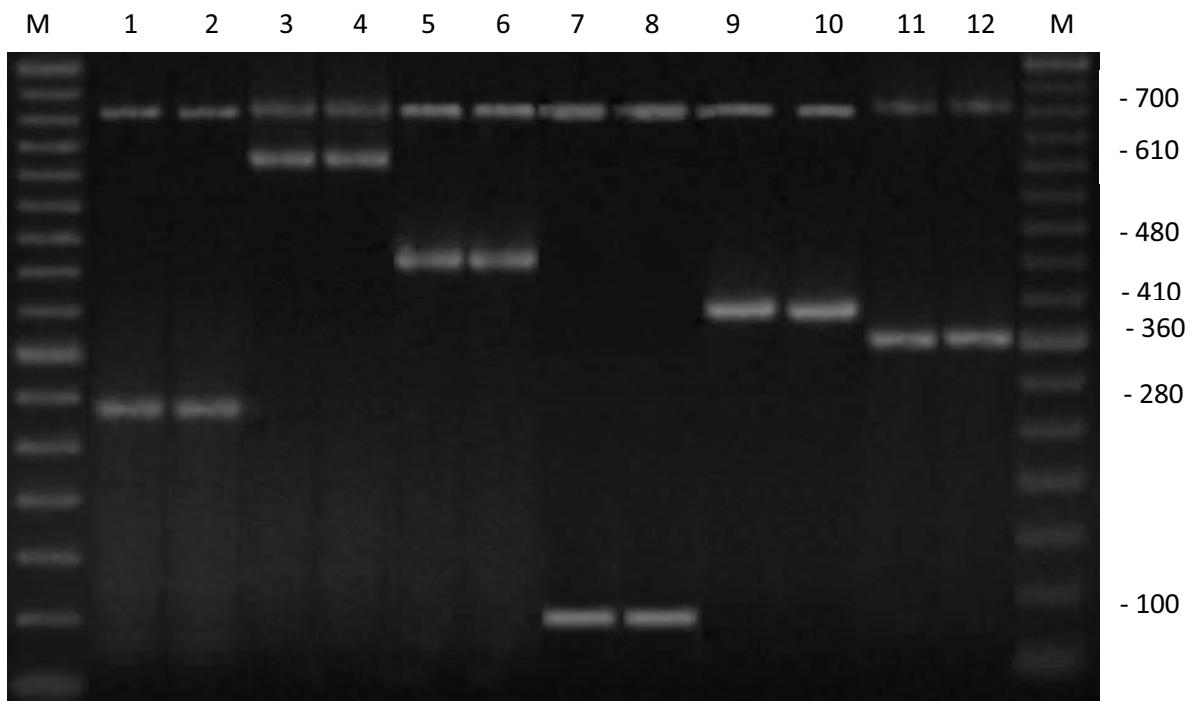
7. ANEXOS



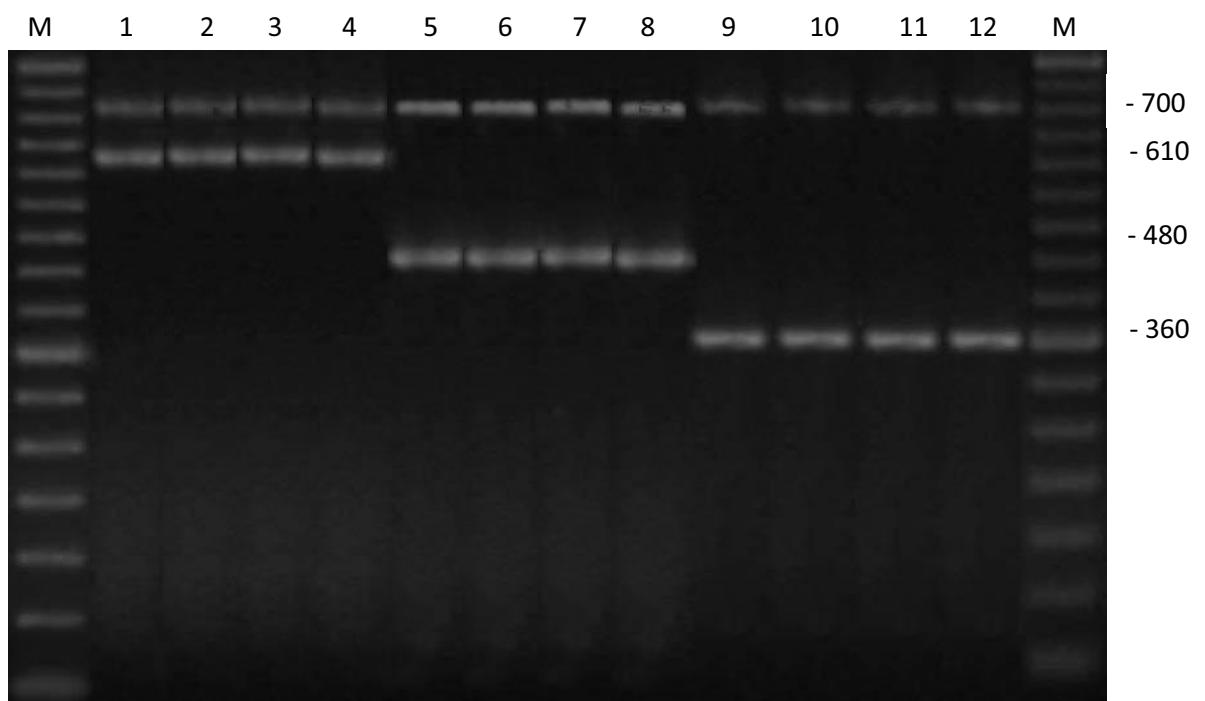
Anexo I - PCR-Multiplex contendo primers universal e espécie-específico para o gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI). Amplificação da região controle (700pb), fragmentos específicos de *Sphyrna lewini* (1 - 4 com 480pb), *Alopias vulpinus* (5 - 8 com 410pb) e *Rhizoprionodon lalandii* (9 – 12 com 610pb) M – Marcador molecular de 50Kb.



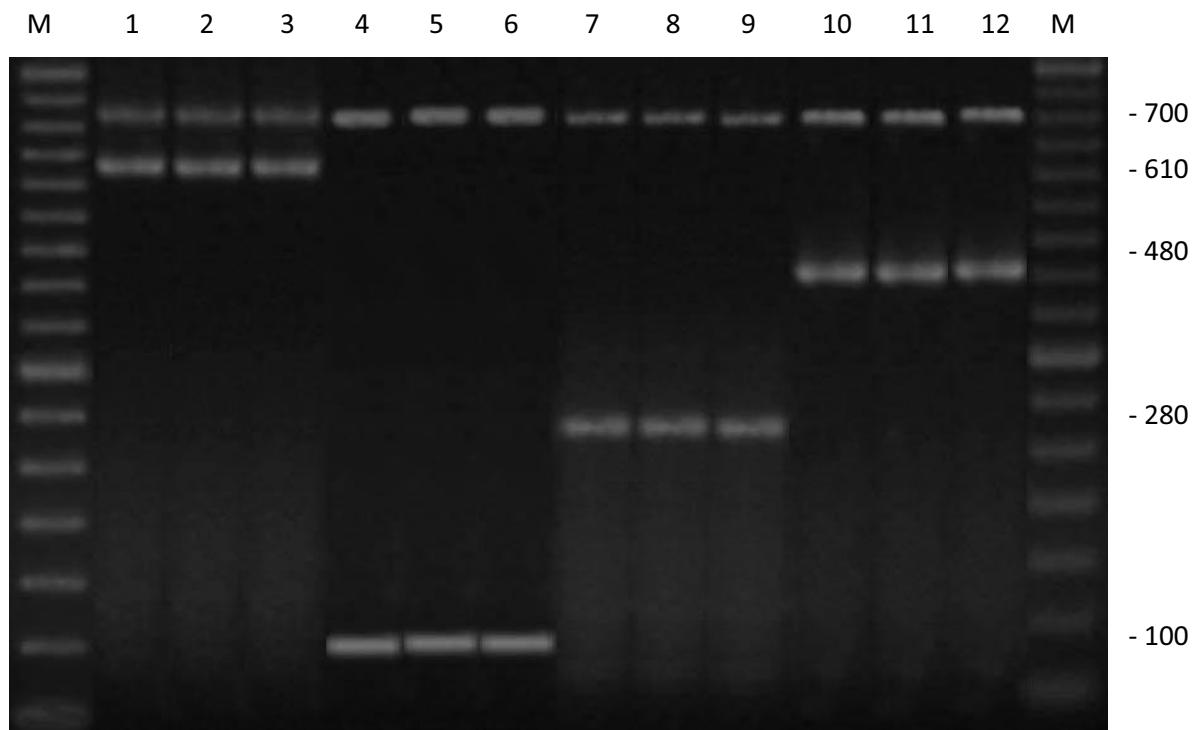
Anexo II - PCR-Multiplex das amostras capturadas nos municípios de Santos, Ubatuba e Cananéia, litoral de São Paulo, contendo primers universal e espécie-específico para o gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI). Região controle (700pb), fragmentos específicos de *Prionace glauca* (1-4 com 100pb), *Isurus oxyrinchus* (5-8 com 280pb) e *Rhizoprionodon porosus* (9-12 com 360 pb). M - Marcador molecular de 50Kb.



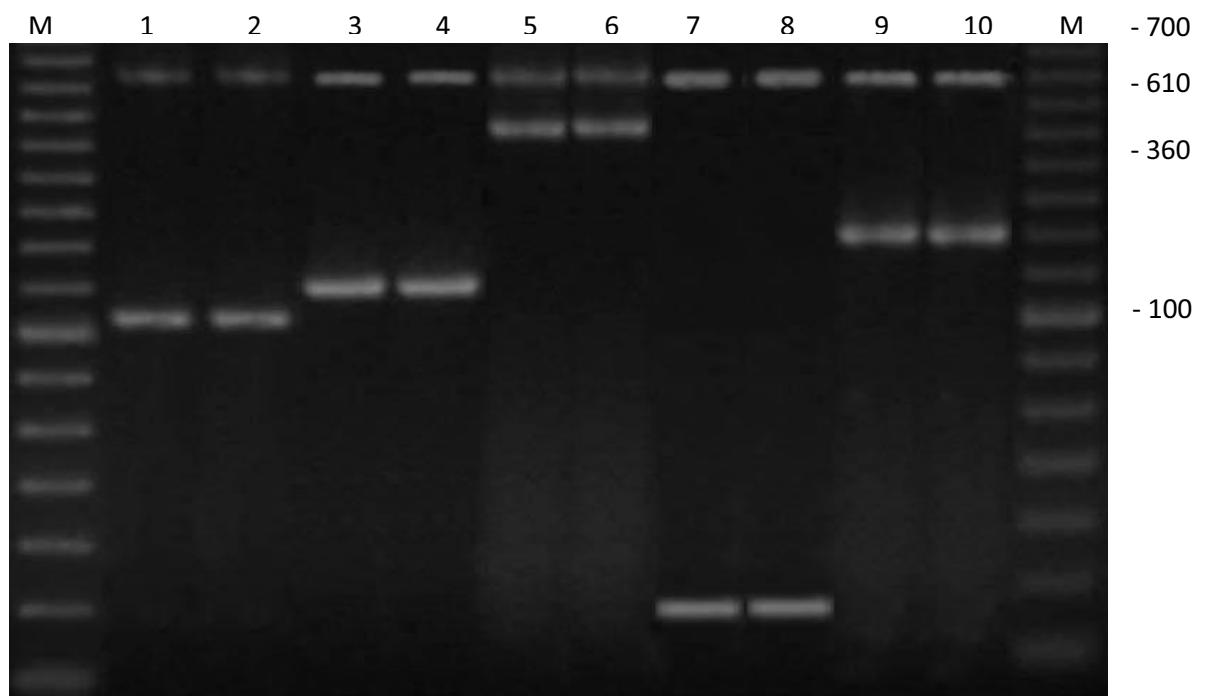
Anexo III - PCR-Multiplex, contendo primers universal e espécie-específico para o gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI). Região controle (700pb), fragmentos específicos de *Isurus oxyrinchus* (1-2 com 280pb), *Rhizoprionodon lalandii* (3-4 com 610pb), *Sphyrna lewini* (5-6 com 480pb), *Prionace glauca* (7-8 com 100pb), *Alopias vulpinus* (9-10 com 410pb) e *Rhizoprionodon porosus* (11-12 com 360pb). M- Marcador molecular de 50 Kb.



Anexo IV - Eletroforese das amostras capturadas no município de Cananéia, litoral de São Paulo, contendo primers universal e espécie-específico para o gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI), contendo a região controle (700pb), fragmentos específicos de *Rhizoprionodon lalandii* (1-4 com 610pb), *Sphyraña lewini* (5-8 com 480pb) e *Rhizoprionodon porosus* (9-12 com 360pb) M- Marcador molecular de 50kb.



Anexo V - Eletroforese das amostras capturadas no município de Ubatuba, litoral de São Paulo, contendo primers universal e espécie-específico para o gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI), contendo a região controle (700pb), fragmentos específicos de *Rhizoprionodon lalandii* (1-3 com 610pb), *Prionace glauca* (4-6 com 100pb), *Isurus oxyrinchus* (7-9 com 280pb) e *Sphyrna lewini* (10-12 com 480pb) M- Marcador molecular de 50kb.



Anexo VI - Eletroforese das amostras capturadas no município de Santos, litoral de São Paulo, contendo primers universal e espécie-específico para o gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI), contendo a região controle (700pb), fragmentos específicos de *Rhizoprionodon porosus* (1-2 com 360pb), *Alopias vulpinus* (3-4 com 410pb), *Rhizoprionodon lalandii* (5-6 com 610pb), *Prionace glauca* (7-8 com 100pb) e *Sphyrna lewini* (9-10 com 480pb) M- Marcador molecular de 50kb.