

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

**Utilização de marcadores moleculares como ferramenta na separação dos tubarões-martelo *Sphyrna lewini* e *Sphyrna gilberti* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae)**

**MARK CAMPOS ADRIANO**

Orientador: Prof. Dr. Nelson Jurandi Rosa Fagundes

Trabalho de Conclusão de Curso a ser apresentado ao Instituto de Biociências – UFRGS, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel do curso de Ciências Biológicas.

Porto Alegre

2019

## Resumo

Os elasmobrânquios são um grupo de animais majoritariamente marinhos que inclui tubarões e arraias, os peixes cartilagosos. O declínio de muitas espécies, principalmente de grandes vertebrados marinhos, é causado pelas práticas de pesca, colocando um quarto de todas as espécies de elasmobrânquios na Lista Vermelha da IUCN como espécie ameaçada. Sphyrnidae apresenta animais com a característica peculiar de terem a cabeça comprimida dorso-ventralmente e expandida lateralmente, a cabeça-de-martelo. O gênero *Sphyrna* Rafinesque, 1810 conta com oito espécies atualmente válidas. Desde 2006, estudos demonstram com evidências genéticas haver uma espécie críptica dentro do gênero, relacionada com *S. lewini*. Em 2013, combinando caracteres merísticos de vértebras pré-caudais e tamanho corporal dos indivíduos com caracteres genéticos (região controle de mtDNA e gene LDHA6), foi descrita a espécie críptica *S. gilberti*. Técnicas de sequenciamento a partir de um fragmento de DNA, como a utilização do “código de barras do DNA” (*DNA barcode*), o COI, permitem a identificação e a discriminação de espécies. O objetivo deste estudo é avaliar a possível presença de sequências no Genbank de indivíduos de *S. gilberti* erroneamente identificados como *S. lewini*, com a comparação da topologia de árvores de gene obtidas para diferentes marcadores moleculares (COI, D-loop e ITS2). As estratégias de *Inferência Bayesiana* e máxima verossimilhança (ML) foram usadas para reconstruções filogenéticas e as topologias foram comparadas. Todas as análises contendo *S. lewini* e *S. gilberti* mostram uma relação próxima entre elas, que aparecem sempre como grupos irmãos bem suportados. Em todas as árvores do COI, um grupo de cinco indivíduos identificados como *S. lewini* foi formado com alto suporte. Esses indivíduos foram coletados no Oceano Atlântico Ocidental, mais especificamente na Flórida e em Cuba, locais em que ocorre *S. gilberti*. Devido à semelhança topológica entre as árvores de diferentes marcadores, juntamente com o padrão geográfico semelhante para procedência das sequências, é possível inferir que esses cinco indivíduos podem ser *S. gilberti*. Os resultados deste estudo evidenciam a viabilidade da utilização do *DNA barcode* como ferramenta para separação de *S. lewini* e *S. gilberti* a partir de sequências obtidas de bancos de dados. É esperado que os resultados contribuam com a avaliação de status de ameaça de *S. gilberti*, que carece dessa informação desde sua descrição.

**Palavras-chave:** Tubarões-martelo, *DNA barcode*, COI, espécie críptica, *Sphyrna*.

## Abstract

Elasmobranchs are a group of mostly marine animals that includes sharks and stingrays, the called cartilaginous fish. The decline of many species, especially large marine vertebrates, is caused by fishing practices, placing a quarter of all species of elasmobranch on the IUCN Red List as endangered species. Sphyrnidae presents animals with the peculiar characteristic of having the head compressed dorso-ventrally and laterally expanded, the hammerhead. The genus *Sphyrna* Rafinesque, 1810 has eight species currently valid. Since 2006, studies with genetic evidence have shown a cryptic species within the genus, related to *S. lewini*. In 2013, combining meristic characters of pre-caudal vertebrae and body size of individuals with genetic traits (control region of mtDNA and LDHA6 gene), a cryptic species was described as *S. gilberti*. Techniques for sequencing from a DNA fragment, such as the use of the *DNA barcode*, the COI, allow the identification and the discrimination of species. The objective of this study is to evaluate the possible presence of sequences in Genbank of *S. gilberti* individuals erroneously identified as *S. lewini*, comparing the topology of gene trees obtained for different molecular markers (COI, D-loop and ITS2). The strategies of Bayesian Inference and *maximum likelihood* (ML) were used for phylogenetic reconstructions and the topologies were compared. All analyzes containing *S. lewini* and *S. gilberti* show a close relationship between them, which always appear as well-supported sibling groups. In all COI trees, a group of five individuals identified as *S. lewini* was formed with high support. These individuals were collected in the Western Atlantic Ocean, more specifically in Florida and Cuba, where *S. gilberti* occurs. Due to the topological similarity between the trees of different markers along with the similar geographical pattern for sequence origin, it is possible to infer that these five individuals may be *S. gilberti*. The results of this study show the viability of using *DNA barcode* as a tool for separating *S. lewini* and *S. gilberti* from sequences obtained from databases. Results are expected to contribute with the threat status assessment of *S. gilberti*, which lacks this information since its description.

**Keywords:** Hammerhead sharks, *barcode DNA*, COI, cryptic species, *Sphyrna*.

## 1. Introdução

Elasmobranchii é um clado de Chondrichthyes que inclui tubarões e arraias, os chamados peixes cartilagosos (Compagno, 1977; Kriwet *et al.*, 2009). Os Condríctios (classe Chondrichthyes) são um dos grupos mais antigos e ecologicamente diversos, realizando controle descendente (*top-down*) da cadeia trófica e ocupando importantes funções nos ecossistemas aquáticos: os predadores de topo (Compagno 1990; Stevens *et al.* 2000; Heithaus *et al.* 2012). É bem documentado que a estabilidade das populações de predadores de topo é essencial para garantir a diversidade dos menores níveis tróficos das cadeias alimentares, podendo trazer consequências negativas ao funcionamento do ecossistema se houver desequilíbrio (Meyers *et al.* 2007; Baum & Worm 2009; D'Agata *et al.* 2015).

As práticas de pesca vêm trazendo o declínio de muitas espécies marinhas, principalmente de grandes vertebrados como tubarões, arraias, tartarugas e alguns mamíferos (Rose *et al.* 2000; Spotila *et al.* 2000; Holt *et al.* 2001; Kraus *et al.* 2005; Porch *et al.* 2006; Dulvy *et al.* 2014). Os animais com características biológicas de maturação sexual tardia, crescimento lento, baixa fecundidade e comportamento de agregação são especialmente susceptíveis à superexploração, tornando tubarões e arraias muito sensíveis à sobrepesca (Musick *et al.* 2000; Baum *et al.* 2003; Bornatowski *et al.* 2014a). Atualmente, um quarto de todas as espécies de elasmobrânquios está inserido na Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) como espécie ameaçada, sendo o abuso dos estoques pesqueiros a principal causa (Dulvy *et al.* 2014). Essa quantidade pode representar uma subestimativa, já que para quase metade das espécies não há dados suficientes para avaliação de seu status (Dulvy *et al.* 2014).

### 1.1. Tubarões-martelo

A família dos tubarões-martelo (Sphyrnidae) é caracterizada pelo formato da cabeça em cefalofólio, a cabeça-de-martelo, comprimida dorso-ventralmente e expandida lateralmente (Gilbert, 1967; Compagno, 1988). A cabeça nessa configuração conferiu a esses animais excelente capacidade de navegação,

orientação geomagnética, grande manobrabilidade na água e maior capacidade de rastreamento das presas (Montgomery & Walker 2001; Kajiura 2002). Os olhos localizados nas extremidades da cabeça proporcionam uma visão estereoscópica, permitindo olhar em todas as direções (Klimley 1993; Compagno 1998; Kajiura 2002; Kajiura *et al.* 2003; Meyer *et al.* 2005). A dieta dos esfirnídeos é composta principalmente de lulas e outros peixes, incluindo arraias e até mesmo tubarões de sua própria espécie, mas também se alimentam de crustáceos como camarões e caranguejos (Gilbert 1967; Smale & Cliff 1998; Vaske-Jr *et al.* 2009; Bornatowski *et al.* 2014b).

Segundo FishBase (Froese, R. & Pauly, D.), existem nove espécies válidas dentro do gênero *Sphyrna* Rafinesque, 1810. *S. tudes*, *S. tiburo*, *S. corona* e *S. media* exibem um menor tamanho corporal (CT <150cm) e ocupam um habitat costeiro de área mais restrita, geralmente de águas rasas e raramente se afastando da costa (Compagno 1984, 1998; Cervigón *et al.* 1992). Ao contrário dessas, outras três espécies são grandes (CT >250 cm) e amplamente distribuídas, ocorrendo tanto em águas costeiras quanto em alto mar: *S. lewini*, *S. zygaena* e *S. mokarran* (Gilbert 1967; Compagno 1984, 1998, 2005; Duncan *et al.* 2006). *S. couardi* é uma espécie intermediária entre os dois grupos, habitando uma área restrita, do Senegal ao Congo, mas considerada uma espécie grande (CT >250 cm) (Compagno 1984; Afonso *et al.* 1999). Já *S. gilberti* é uma espécie críptica, morfologicamente muito semelhante a *S. lewini*, e descrita recentemente (Quattro *et al.* 2013). Por ser uma espécie pouco estudada, não há informações descritas suficientes para caracterizar sua história de vida e sua abrangência geográfica.

O primeiro registro de uma possível divergência em *Sphyrna lewini* foi feito por Gilbert (1967). Este estudo envolveu uma análise de nove indivíduos, em que um único indivíduo coletado na Carolina do Sul apresentou um número total de vértebras menor do que os demais: 174, enquanto os outros oito variaram de 192 a 204 vértebras. A razão desse número menor não ficou evidente na época. Entretanto, estudos posteriores de estruturação genética de populações que envolveram a utilização de marcadores nucleares e mitocondriais, demonstraram existir uma clara variação genética em *S. lewini*. Essa diferença poderia indicar uma espécie críptica não-descrita, muito semelhante a *S. lewini*, ocorrendo no Oceano Atlântico Ocidental (Abercrombie *et al.* 2006; Quattro *et al.* 2006; Zemlak *et al.* 2009; Naylor *et al.* 2012).

Em 2012, três indivíduos pertencentes à linhagem críptica foram encontrados no oeste do Atlântico Sul, estendendo sua distribuição em mais de 7.000 km (Pinhal *et al.* 2012), passando, então, a se ter o registro da espécie na Carolina do Sul, Geórgia, Flórida e Brasil.

Quattro *et al.* (2013) coletaram 80 indivíduos juvenis na costa da Carolina do Sul identificados como *S. lewini*. As análises genéticas de Quattro *et al.* (2013) realizadas corroboraram com as informações dos estudos prévios de que haveria divergência genética em *S. lewini*, com uma linhagem que sofreu especiação críptica. Dados morfométricos de contagem de vértebras pré-caudais e tamanho corporal dos indivíduos coletados, juntamente com a base genética, foram consistentes para fazer a separação das linhagens em duas espécies: tubarão-martelo-entalhado (*S. lewini*) e tubarão-martelo da Carolina (*S. gilberti*). *S. gilberti* com um número de vértebras menor (83-87 pré-caudais) que *S. lewini* (92-99 pré-caudais), apontando que o espécime anômalo encontrado por Gilbert (1967) seria, na realidade, o primeiro registro de *S. gilberti*.

## **1.2. DNA barcode como ferramenta para identificação de espécies**

Os dados de sequência de DNA fornecem um grande volume de informação e se tornaram mais acessíveis com o avanço das técnicas de sequenciamento e a criação de bancos de dados. O “código de barras do DNA” (*DNA barcode*) tem discriminado com sucesso muitas espécies de tubarões no mundo todo, contribuindo para a fiscalização no mercado de pesca (Ward *et al.* 2005; Pavan-Kumar *et al.* 2013; Almerón-Souza *et al.* 2018; Feitosa *et al.* 2018; Sarmiento-Camacho & Valdez-Moreno 2018). A técnica a partir do *DNA barcode* consiste na identificação de espécies a partir de um fragmento de DNA de uma região padrão do genoma, tecnicamente compartilhado pelos indivíduos de uma mesma espécie (Hebert *et al.* 2003a, 2003b). A divergência genética intraespecífica é, na maioria dos casos, menor do que a divergência genética interespecífica, tornando a abordagem objetiva na identificação de táxons (Meyer & Paulay 2005).

As espécies *S. lewini* e *S. gilberti* não apresentam atributos diagnósticos na morfologia externa para diferenciação das duas espécies, sendo inviável a

identificação em campo. A separação delas foi baseada, além de caracteres morfológicos, em análises genéticas envolvendo região controle de mtDNA e alelos do gene LDHA6. É necessário o maior refinamento possível quanto às informações genéticas que distinguem as duas espécies. Desta forma, o presente estudo tem por objetivo comparar a topologia de árvores de gene obtidas para diferentes marcadores moleculares (COI, D-loop e ITS2) disponíveis no GenBank sob os nomes de *S. lewini* e avaliar se pode haver indivíduos de *S. gilberti* erroneamente classificados como *S. lewini* para o COI, já que esse é o marcador mais utilizado em estudos de identificação molecular através do *DNA barcode*.

## 2. Metodologia

As sequências de DNA de oito espécies de *Sphyrna* de dois marcadores mitocondriais: citocromo c oxidase subunidade I (COI) e região controle (D-loop); e um marcador nuclear: o espaçador ribossomal interno transcrito 2 (ITS2) foram extraídas do Genbank (números de acesso no material suplementar S1). Não constavam sequências nominais de *S. couardi*, por isso a espécie não consta nas análises. Para *S. corona*, *S. gilberti* e *S. media* não foram encontradas sequências de COI depositadas. O alinhamento das sequências foi feito com MUSCLE (Edgar 2004) no programa MEGA v.7.0.26 (Kumar *et al.* 2016) e edição das sequências foi feita no programa BioEdit v.7.0.5.3 (Hall 1999). Sequências com tamanho reduzido não foram utilizadas, com critério de mínimo de 400 pb, 300 pb e 600 pb, para COI, Região Controle e ITS, respectivamente.

O programa DnaSP v.6.12.03 (Ramos-Onsis & Sánchez-Gracia 2017) foi utilizado para reconhecimento de haplótipos e identificação de sequências idênticas, que foram excluídas das análises. Cinco sequências de cada uma das espécies que não eram foco do estudo, dos três marcadores, foram escolhidas aleatoriamente (números de acesso no material suplementar S2), o restante das sequências foi removido das análises. O único banco de sequências utilizado integralmente foi das espécies *S. gilberti* e *S. lewini*. Foram mantidas 400 sequências para o marcador COI (*S. lewini*: 380; *S. mokarran*: 5; *S. tiburo*: 5; *S. tudes*: 5; *S. zygaena*: 5), 94 sequências para D-loop (*S. corona*: 1; *S. gilberti*: 6; *S. lewini*: 66; *S. media*: 1; *S. mokarran*: 5; *S.*

*tiburo*: 5; *S. tudes*: 5; *S. zygaena*:5) e 23 sequências para ITS2 (*S. corona*: 1; *S. gilberti*: 4; *S. lewini*: 8; *S. media*: 1; *S. mokarran*: 2; *S. tiburo*: 2; *S. tudes*: 2; *S. zygaena*: 3).

Os melhores modelos evolutivos para cada marcador molecular foram determinados no módulo de seleção de modelo por máxima verossimilhança (*maximum likelihood*, ML) no MEGA v.7.0.26 (Kumar *et al.* 2016). Para o COI, foi selecionado o modelo Kimura-2-parâmetros com distribuição gama (K2+G); para o D-loop, modelo Hasegawa–Kishono–Yano com distribuição gama e sítios invariantes (HKY+G+I); e para o ITS2, o modelo Hasegawa–Kishono–Yano simples (HKY).

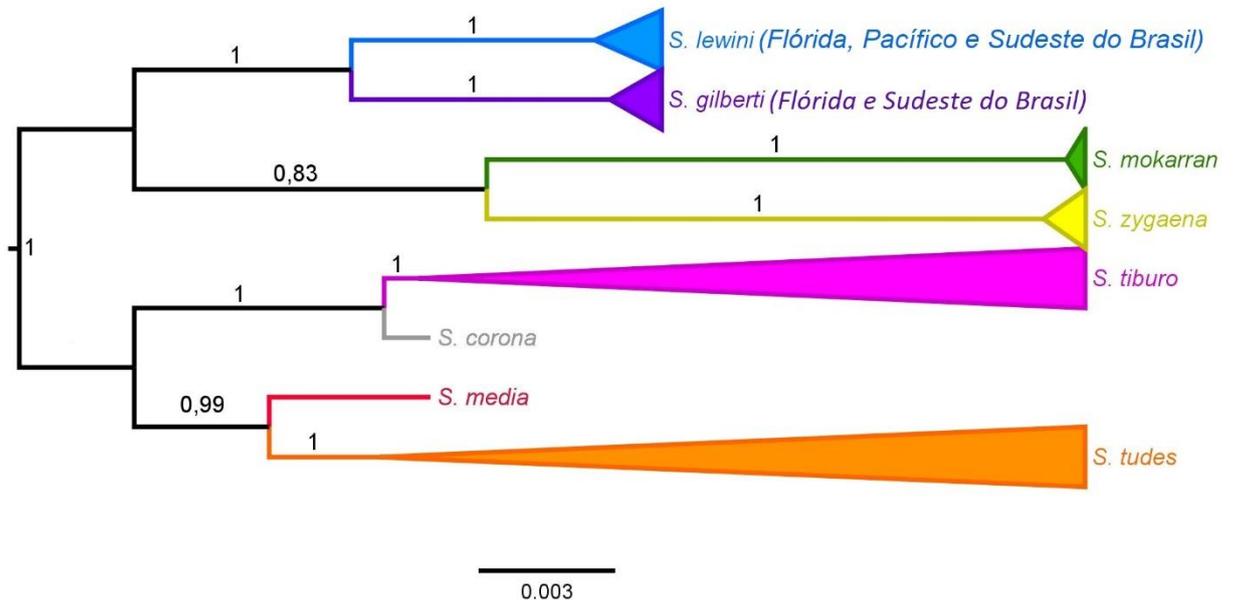
Duas estratégias para reconstrução filogenética foram usadas: *Inferência Bayesiana* e ML. As árvores de *Inferência Bayesiana* para cada marcador foram estimadas no programa BEAST v.2.5.2 (Bouckaert *et al.* 2019), com os modelos anteriormente citados, assumindo também para todas as análises frequência de base empírica, relógio molecular estrito e o modelo Yule de especiação. Foram executados 100.000.000 passos de cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC), amostrando a cada 5.000 passos e descartando os 10% primeiros passos como *burnin*. A suficiência da amostragem foi determinada no programa Tracer 1.5 (Rambaut *et al.* 2018) usando como critérios valores de tamanho amostral efetivo (ESS) >200.

As árvores de ML para cada marcador foram estimadas no programa MEGA v.7.0.26 (Kumar *et al.* 2016) com 1.000 replicações de bootstraps e filtro de troca de ramificação muito fraco. COI com 4 categorias gama; D-loop com 4 categorias gama e proporção de sítios invariante estimada. Árvores de máxima verossimilhança foram estimadas, também, no RAxML v.0.6.0 (Stamatakis 2014) com modelo não particionado, frequências de bases empíricas e “bootstopping cutoff” com valor 0,03. COI utilizando 4 categorias gama; D-loop 4 categorias gama e proporção de sítios Invariante estimada.

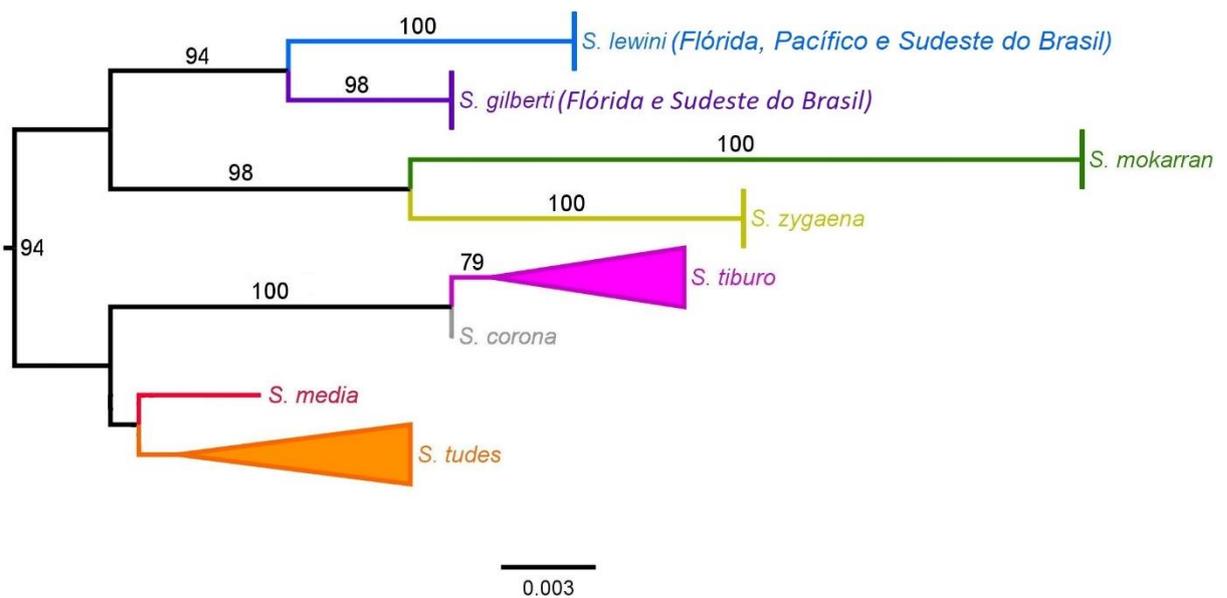
### **3. Resultados**

#### **3.1. Árvores filogenéticas – espaçador ribossomal interno transcrito 2 (ITS2)**

As análises obtiveram a mesma configuração de árvore para a relação de todas as espécies. *S. lewini* e *S. gilberti* aparecem como grupos irmãos com alto suporte e sem subclados com alto valor de suporte.



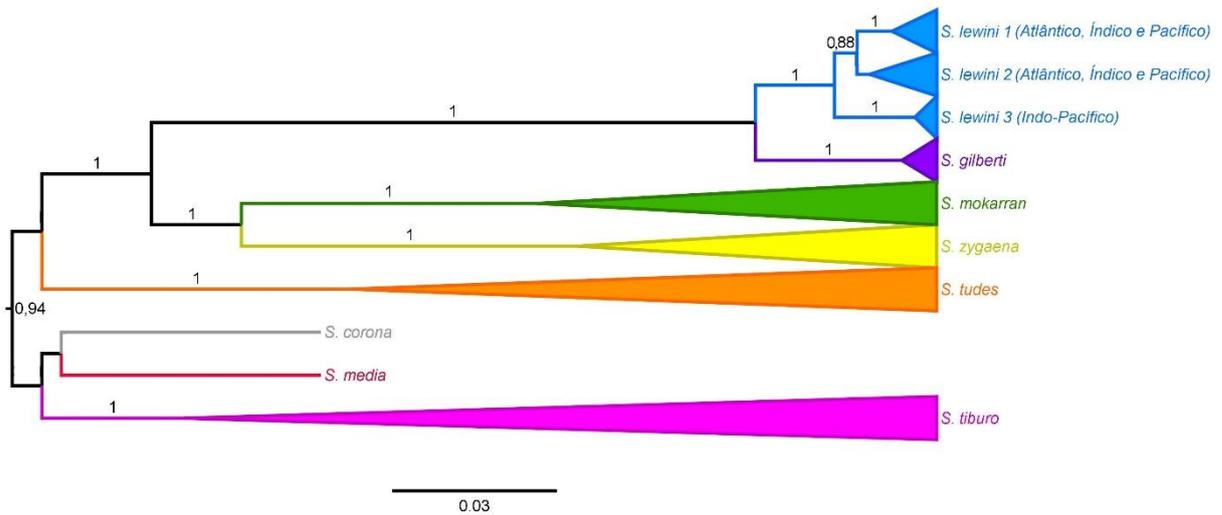
**Figura 1.** Árvore de *Inferência Bayesiana* para o marcador molecular ITS2. Os valores acima dos nós representam a probabilidade posterior de cada clado.



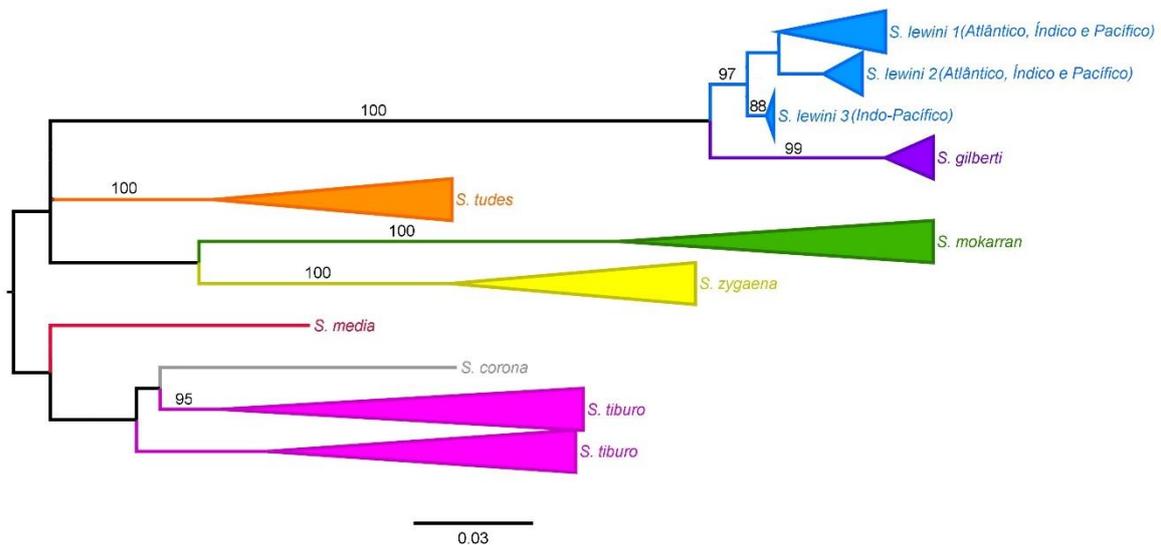
**Figura 2.** Árvore de ML para o marcador molecular ITS2 obtida no programa MEGA7. A confiança dos agrupamentos foi estimada com 1000 replicações de bootstrap. Apenas valores de bootstrap acima de 70% estão representados.

### 3.2. Árvores filogenéticas – região controle (D-loop)

As duas árvores apresentaram um bom suporte com relação a *S. gilberti* como grupo irmão de *S. lewini*, que foi dividido em três subclados.



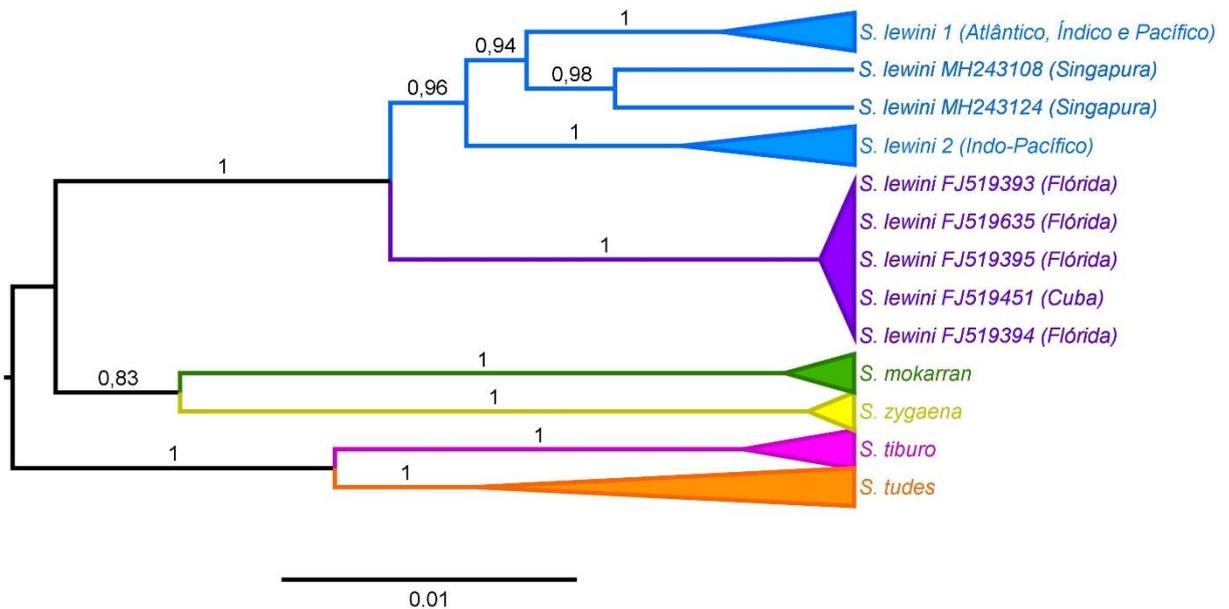
**Figura 3.** Árvore de *Inferência Bayesiana* para o marcador molecular D-loop. Os valores acima dos nós representam a probabilidade posterior de cada clado.



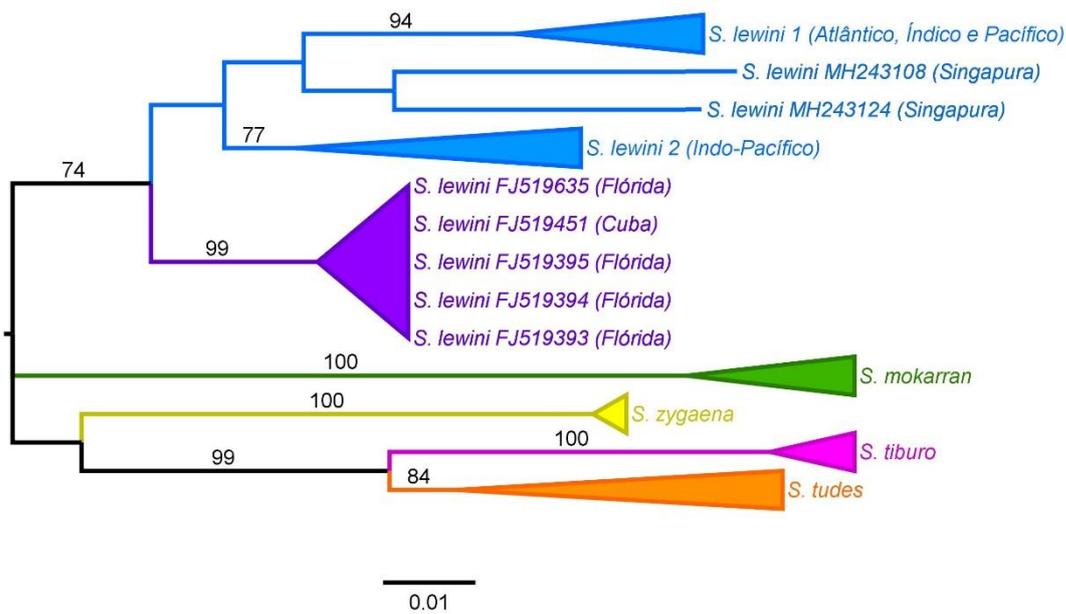
**Figura 4.** Árvore de ML para o marcador molecular D-loop obtida no programa MEGA7. A confiança dos agrupamentos foi estimada com 1000 replicações de bootstrap. Apenas valores de bootstrap acima de 70% estão representados.

### 3.3. Árvores filogenéticas – citocromo c oxidase I (COI)

As duas árvores encontradas apresentam a topologia muito semelhante, com *S. lewini* formando três clados distintos e dois indivíduos (*S. lewini* MH243108 e *S. lewini* MH243124) de Singapura formando um grupo separado. Um terceiro grupo com cinco indivíduos (*S. lewini* FJ519393-*S. lewini* FJ519395; *S. lewini* FJ519451; *S. lewini* FJ519635), representado pela cor roxa, foi formado com alto valor de suporte.



**Figura 5.** Árvore de *Inferência Bayesiana* para o marcador molecular COI. Os valores acima dos nós representam a probabilidade posterior de cada clado.



**Figura 6.** Árvore de ML para o marcador molecular COI obtida no programa MEGA7. A confiança dos agrupamentos foi estimada com 1000 replicações de bootstrap. Apenas valores de bootstrap acima de 70% estão representados.

#### 4. Discussão

Todas as análises contendo *S. lewini* e *S. gilberti* mostram uma relação próxima entre elas, que aparecem como grupos irmãos bem suportados em todas elas.

A árvore de *Inferência Bayesiana* do D-loop e a árvore de ML demonstraram haver um bom suporte para a subdivisão de *S. lewini* em três subclados distintos (*S. lewini 1*, *S. lewini 2* e *S. lewini 3*), tendo *S. gilberti* como grupo irmão. As árvores de ITS2 apresentam a mesma configuração para todas as espécies. As espécies *S. lewini* e *S. gilberti* aparecem como grupos irmãos com alto suporte e sem formação de subclados.

Para as árvores do COI os posicionamentos dos táxons são consistentes, com três subclados de *Sphyrna lewini* bem definidos, sendo que dois indivíduos (*S. lewini* MH243108 e *S. lewini* MH243124) não agrupam com os demais, permanecendo como grupos irmãos de “*S. lewini 1*”. Um dos três subclados foi formado consistentemente por cinco indivíduos (*S. lewini* FJ519393; *S. lewini* FJ519394; *S. lewini* FJ519395; *S. lewini* FJ519451; *S. lewini* 519635), representando a linhagem irmã dos demais *S.*

*lewini* com alto grau de confiabilidade. Para as demais espécies, a topologia segue semelhante, mas com algumas discrepâncias quanto à disposição filogenética.

Em todas as árvores do COI, um grupo de cinco indivíduos (*S. lewini* FJ519393; *S. lewini* FJ519394; *S. lewini* FJ519395; *S. lewini* FJ519451; *S. lewini* FJ519635), representado pela cor roxa nas figuras 5 e 6, foi formado com alto suporte. Esses indivíduos foram coletados no Oceano Atlântico Ocidental, mais especificamente na Flórida e em Cuba, locais em que ocorre *S. gilberti*. Devido à semelhança topológica entre as árvores de diferentes marcadores, juntamente com o padrão geográfico semelhante para procedência das sequências, é razoável inferir que esses cinco indivíduos podem ser, na realidade, *S. gilberti*.

Nossos resultados também corroboram as inferências de Quattro *et al.* (2006) de que há uma linhagem de *S. lewini* característica e exclusiva da região do Indo-Pacífico, sendo referido no presente trabalho como “*S. lewini* 2”. Porém, nossos resultados sugerem que a linhagem “*S. lewini* 1” tem ampla abrangência geográfica, sendo encontrada nos Oceanos Atlântico, Índico e Pacífico, discordando de Quattro *et al.* (2006), que propuseram uma ocorrência exclusivamente Atlântica para essa linhagem.

Uma possibilidade para a discrepância entre os resultados, é de que Quattro *et al.* (2006) analisaram apenas 73 sequências de COI de *S. lewini*, enquanto neste trabalho a análise foi feita com 380 sequências, possibilitando perceber a maior abrangência geográfica da linhagem “*S. lewini* 1”.

Como *S. gilberti* é uma espécie recentemente descrita, sua abrangência geográfica não é ainda bem definida. No entanto, estudos prévios evidenciam a ocorrência da espécie no Atlântico Ocidental nas seguintes localidades: Carolina do Sul, Geórgia, Flórida e sudeste do Brasil (Abercrombie *et al.* 2006; Quattro *et al.* 2006; Zemlak *et al.* 2009; Naylor *et al.* 2012; Pinhal *et al.* 2012).

Devido ao fato de *S. lewini* e *S. gilberti* compartilharem o mesmo nicho espacial, vivendo de maneira simpátrica no Atlântico Ocidental, e serem muito semelhantes morfológicamente, sendo diferenciadas apenas pelo número de vértebras, a um primeiro momento pode-se pensar que estas duas espécies deveriam, em verdade, ser consideradas apenas uma. Todavia, neste estudo, a diferenciação dessas duas

espécies é corroborada através do alto grau de confiança apresentado nas árvores filogenéticas do COI.

As árvores filogenéticas, de modo geral, não são discrepantes quanto à classificação e taxonomia do gênero *Sphyrna*, portanto não seria coerente propor qualquer alteração a respeito disso. Entretanto, sugerimos que os cinco indivíduos de *Sphyrna lewini* (*S. lewini* FJ519393; *S. lewini* FJ51934; *S. lewini* FJ519395; *S. lewini* FJ519451; *S. lewini* FJ519635) que formam um clado separado e com alta coalescência nas árvores do COI, tenham sua classificação taxonômica corrigida para *Sphyrna gilberti*.

#### **4.1. Impacto da pesca e importância dos planos de manejo**

As populações de *S. lewini* sofreram grande redução mundial como resultado da sobrepesca, tanto pesca direcionada quanto pesca por “bycatch” (pesca incidental) (Compagno 2005; Hayes *et al.* 2009; Ferrete *et al.* 2019). Segundo a Lista Vermelha de espécies ameaçadas da IUCN, *S. lewini* está ameaçada de extinção (EN), sendo particularmente sensível à sobrepesca e com tendência à superexploração. Além da sua maturação tardia (9-15 anos), os animais se agregam em locais previsíveis para procriação, ocasionalmente em centenas de indivíduos, tornando a captura desses animais fácil e em grande quantidade (Klimley & Nelson 1981, 1984; Compagno 1984; Klimley & Butler 1988; Castro 1993; Simpfendorfer & Milward 1993; Cortés 2000; Ketchum *et al.* 2014; Salinas de León *et al.* 2016).

Duas avaliações de *S. lewini* nos Estados Unidos estimam ter ocorrido um declínio de 70-83% na abundância da espécie desde 1981 (Hayes *et al.* 2009; Jiao *et al.* 2009), com a estimativa de que a quantidade atual seja 17% do que era em 1981 (Hayes *et al.* 2009). Devemos levar em consideração que no momento desses estudos *S. gilberti* não era reconhecida como espécie à parte, provavelmente tornando tais estimativas pouco acuradas, superestimando o tamanho das populações de *S. lewini*. Apesar de *S. lewini* estar classificada como ameaçada de extinção, *S. gilberti* permanece sem planos de manejo e conservação, com informações insuficientes para avaliação de status da espécie. Segundo relatório da Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção

(CITES) de 2018, *S. gilberti* segue como “não avaliado” devido à recente descrição da espécie e ao fato de não poder ser visualmente diferenciada de *S. lewini* sem a contagem das vértebras pré-caudais. Com a diferenciação do status de ameaça e a similaridade morfológica, os planos de manejo de *S. lewini* provavelmente estão sendo aplicados a *S. gilberti*. Isso é preocupante, porque apesar de haver semelhanças entre elas, cada espécie apresenta uma capacidade natural e diferente de resiliência para responder à pressão da sobrepesca (Musick *et al.* 2000; Cortés 2002).

#### **4.2. Importância dos bancos de dados**

É incontestável a relevância de um banco de dados confiável e de referência para estudos genéticos. Com informações atualizadas e mostrando sequências com identificação correta, é possível estudar suas distribuições, fazer estudos populacionais, pensar em manejos específicos para conservação desses animais e até mesmo para pensar em maior fiscalização do mercado de pesca. É preciso que seja informada a localização da coleta para que haja contextualização do indivíduo no ambiente, algumas das sequências estão desprovidas dessa informação, tornando inviáveis alguns estudos que exijam esse dado.

### **5. Conclusão**

As análises do trabalho evidenciam a viabilidade da utilização do *DNA barcode* como ferramenta para separação de *S. lewini* e *S. gilberti* a partir de sequências obtidas de bancos de dados. A possibilidade da identificação das sequências, em conjunto com o contexto geográfico dos indivíduos, pode auxiliar na avaliação do status de ameaça de *S. gilberti*, que permanece sem os devidos cuidados desde a descrição da espécie.

Mais estudos sobre as características biológicas e populacionais de *S. gilberti* são fundamentais para que haja informações suficientes para, se for o caso, implementação de planos de manejo e conservação da espécie.

## 6. Referências

- Abercrombie, D.L.; Clarke, S.C.; Shivji, M.S.; 2005. Global-scale genetic identification of hammerhead sharks: application to assessment of the international fin trade and law enforcement. *Conservation Genetics*, 6, 775-788.
- Afonso, P.; Porteiro, F.M.; Santos, R.S.; Barreiros, J.P.; Worms, J.; Wirtz, P. 1999. Coastal marine fishes of São Tomé Island (Gulf of Guinea). *Arquipélago* 17(A):65-92.
- Almerón-Souza, F. *et al.* 2018. Molecular Identification of Shark Meat From Local Markets in Southern Brazil Based on DNA Barcoding: Evidence for Mislabeling and Trade of Endangered Species. *Frontiers In Genetics*, v. 9. Frontiers Media SA.
- Baum, J.K.; Myers, R.A.; Kehler, D.G.; Worm, B.; Harley, S.J.; Doherty, P.A. 2003. Collapse and conservation of shark populations in the northwest Atlantic. *Science*, 299, 389-392.
- Baum, J. K. & Worm, B. 2009. Cascading top-down effects of changing oceanic predator abundances. *Journal of Animal Biology* 78, 699–714.
- Bird, Christopher S. *et al.* 2018. A global perspective on the trophic geography of sharks. *Nature Ecology & Evolution*, v. 2, n. 2, p.299-305. Springer Nature.
- Bouckaert R., Vaughan T.G., Barido-Sottani J., Duchêne S., Fourment M., Gavryushkina A., *et al.* 2019. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*, 15(4), e1006650.
- Bonfil, R. 1994. Overview of World Elasmobranch Fisheries. *FAO Fisheries Technical Paper No. 341*, Rome.
- Bonfil, R. 1997. Status of shark resources in the Southern Gulf of Mexico and Caribbean: implications for management. *Fish Res Amsterdam*, 29:101-117.
- Bornatowski, H.; Navia, A.F.; Braga, R;R.; Abilhoa, V; Corrêa, M;F;M; 2014a. Ecological importance of sharks and rays in a structural foodweb analysis in southern Brazil. *ICES J. Mark. Sci.* 71, 1586-1592.

- Bornatowski, H.; Braga, R. R.; Abilhoa, V. & Corrêa, M. F. M. 2014b. Feeding ecology and trophic comparisons of six shark species in a coastal ecosystem off Southern Brazil. *Journal of Fish Biology*, 85: 246-63
- Castro, J.I. 1993. The shark nursery of Bulls Bay, South Carolina, with a review of the shark nurseries of the southeastern coast of the United States. *Environmental Biology of Fishes*, 38, 37-48.
- Castro, J.I.; Woodley, C.M.; Brudeck, R.L. 1999. A Preliminary Evaluation of the Status of Shark Species. FAO Fisheries Technical Paper No. 380. Rome.
- Cervigón, F.; Cipriani, R.; Fischer, W.; Garibaldi, L.; Hendrickx, M.; Lemus, A.J.; Márquez, R.; Poutiers, J.M.; Robaina, G. ;Rodríguez, B. 1992. Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América. FAO, Rome. 513 p. Preparado con el financiamiento de la Comisión de Comunidades Europeas y de NORAD.
- CITES. 2018. Implementation issues for the three listed hammerhead sharks of the family Sphyrnidae due to look-alike issues of the six remaining non-listed species of the family. Appendix II. AC 30. Inf 14.
- Clarke, S.C. 2004. Understanding pressures on fishery resources through trade statistics: A pilot study of four products in the Chinese dried seafood market. *Fish Fish*. 5, 53-74.
- Compagno, L.J.V. 1977. Phyletic relationships of living sharks and rays, *Am Zool*. 17 (1977), pp. 303-322.
- Compagno, L.J.V. 1984. FAO species catalogue. vol 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Parts 1 & 2. Carcharhiniformes. *Fao Fish. Synop.*(125), v.4, n.2, p.251-655.
- Compagno, L.J.V. 1988. Sharks of the order Carcharhiniformes. Princeton University Press, pp. 1-542.
- Compagno, L.J.V. 1990. Alternative life-history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environmental Biology Fishes* 28:33-75.
- Compagno, L.J.V. 1998. Sphyrnidae. Hammerhead and bonnethead sharks. In: K.E. Carpenter and V.H. Niem (eds) FAO identification guide for fishery purposes,

- pp.1264-1267. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific. FAO, Rome.
- Compagno, L.J.V., Dando M., Fowler S.L. 2005. Sharks of the World. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Compagno, L.J.V. 2016. The living marine resources of the Eastern Central Atlantic. v. 2. Sharks (Pp. 1122-1336).
- Cortés, E. 2000. Life history patterns and correlation in sharks. Rev Fish Sci 8:299-344.
- Cortés, E. 2002. Incorporating uncertainty into demographic modeling: Application to shark populations and their conservation. Conserv. Biol., 16(4) 1048-1062.
- D'Agata, S.; Mouillot, D.; Kulbicki, M.; Andréfouët, S.; Bellwood, D. R.; Cinner, J. E.; Cowman, P. F.; Kronen, M.; Pinca, S.; Vigliola, L. 2015. Human-mediated loss of phylogenetic and functional diversity in coral reef fishes. Current Biology 2, 555–560.
- Dulvy, Nicholas K. *et al.* 2014. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. Elife, v. 3, p.1-34. ELife Sciences Publications, Ltd.
- Duncan, K.M.; Martin, A.P.; Bowen, B.W.; De Couet, H.D. 2006. Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). Mol Ecol 15: 2239-2251.
- Edgar, Robert C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput, Nucleic Acids Research 32(5), 1792-1797.
- FAO. 2000. Conservation and Management of Sharks. FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries. No. 4, Suppl. 1. Rome, 37 pp.
- Feitosa, L. M. *et al.* 2018. DNA-based identification reveals illegal trade of threatened shark species in a global elasmobranch conservation hotspot. Scientific Reports, v. 8, n. 1, Springer Nature.
- Ferretti, F.; Worm, B.; Britten, G. L.; Heithaus, M. R.; Lotze, H. K. 2010. Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. Ecology Letters 13, 1055–1071.

- Ferrete, B. L. S. *et al.* 2019. *DNA barcode* Reveals the Bycatch of Endangered Batoids Species in the Southwest Atlantic: Implications for Sustainable Fisheries Management and Conservation Efforts. *Genes*, v. 10, n. 4, p.304-319, MDPI AG.
- Froese, R. & Pauly, D. Editors. 2019. FishBase version 04/2019. World Wide Web electronic publication. Disponível em [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org) (Acessado em 10/07/2019)
- Gilbert, C.R. 1967. A revision of the hammerhead sharks (family Sphyrnidae). *Proc US Nat Mus* 119(3539).
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.
- Hawkins, Alice. 2010. Biobanks: Importance, Implications and Opportunities for Genetic Counselors. *Journal of genetic counseling.* 19. 423-9.
- Hayes, C.G.; Jiao, Y.; Cortés, E. 2009. Stock assessment of scalloped hammerheads in the Western North Atlantic Ocean and Gulf of Mexico. *N Am J Fish Magnag* 29: 1406-1417.
- Hebert, P.D.N.; Cywinska A.; Ball, S.L.; DeWaard, J.R. 2003a. Biological identification through *DNA barcodes*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, 313–321.
- Hebert, P.D.N.; Ratnasingham S.; DeWaard, J.R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, S96–S99.
- Heithaus, M.R.; Wirsing, A.J.; Dill, L.M. 2012. The ecological importance of intact top-predator populations: a synthesis of 15 years of research in a seagrass ecosystem. *Marine and Freshwater Research* 63:1039-1050.
- Kajiura, S.M. 2002. Function of the hammerhead shark cephalofoil. *Integr. Comp. Biol.* 42 (6), 1253.
- Kajiura, S.M.; Forni, J.B.; Summers, A.P. 2003. Maneuvering in juvenile carcharhinid and sphyrnid sharks: the role of the hammerhead shark cephalofoil. *Zoology* 106 (1), 19-28.

- Ketchum, J.T.; Hearn, A.; Klimley, A.P.; Peñaherrera, C.; Espinoza, E.; Bessudo, S.; Soler, G.; Arauz, R. 2014. Seasonal changes in movements and habitat preferences of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) while refuging near an oceanic island. *Mar Biol* 161:755–767.
- Klimley, A.P.; Nelson D.R. 1981. Schooling of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*, in the Gulf of Carolina. *Fishery Bulletin*, 79, 356-560.
- Klimley, A.P.; Nelson, D.R. 1984. Diel movement patterns of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) in relation to El Bajo Espíritu Santo: a refuging central-position social system. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 15, 45-54.
- Klimley, A.P.; Butler, S.B. 1988. Immigration and emigration of a pelagic fish assemblage to seamounts in the Gulf of Carolina related to water mass movements using satellite imagery. *Marine Ecology Progress Series*, 49, 11-20.
- Kriwet, J.; Kiessling, W.; Klug, S. 2009. Diversification trajectories and evolutionary life-history traits in early sharks and batoids. *Proc. R. Soc. B.*, 276: 945-951.
- Meyer, C.P.; Paulay, G. 2005. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PloS Biology*, 3, 2229–2238.
- Montgomery, J. C.; Walker, M. M. 2001. Orientation and navigation in elasmobranchs: which way forward? *Environmental Biology Of Fishes*, v. 60, n. 1/3, p.109-116. Springer Nature.
- Musick, J.A.; Burgess G.; Caillet, G.; Camhi, M.; Fordham, S. 2000. Management of sharks and their relatives (Elasmobranchii). *Fisheries*, 25(3) 9-13.
- Myers, R. A.; Baum, J. K.; Shepherd, T. D.; Powers, S. P.; Peterson, C. H. 2007. Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. *Science* 315, 1846–1850.
- Naylor, G.J.P.; Caira, J.N.; Jensen, K.; Rosana, K.A.M.; White, W.T.; Last, P.R. 2012. A DNA sequence-based approach to the identification of shark and ray species and its implications for global Elasmobranch diversity and parasitology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 367, 1-263.
- NMFS. 2001. Final United States National Plan of Action for the Conservation and Management of Sharks. US Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service Report.

- Pavan-Kumar, A. *et al.* 2013. DNA barcoding of elasmobranchs from Indian Coast and its reliability in delineating geographically widespread specimens. *Mitochondrial Dna*, v. 26, n. 1, p.92-100. Informa UK Limited.
- Piercy, A.N.; Carlson, J.K.; Sulikowski, J.A.; Burgess, G.H. 2007. Age and growth of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*, in the northwest Atlantic Ocean and Gulf of Mexico. *Marine and Freshwater Research* 58:34-40.
- Pinhal, D.; Shivji, M.S.; Vallinoto, M.; Chapman, D.D.; Gadig, O.B.F.; Martins, C. 2012. Cryptic hammerhead shark lineage occurrence in the western South Atlantic revealed by DNA analysis. *Mar. Biol.* 159, 829-836.
- Quattro, J.M.; Stoner, D.S.; Driggers, W.B.; Anderson, C.A.; Prede, K.A.; Hoppmann, E.C.; Campbell, N.H.; Duncan, K.M.; Grady, J.M. 2006. Genetic evidence of cryptic speciation within hammerhead sharks (Genus *Sphyrna*). *Mar. Biol.* 148, 1143-1155.
- Quattro, J.M.; Driggers, W.B.I.; Grady, J.M.; Ulrich, G.F.; Roberts, M.A. 2013. *Sphyrna gilberti* sp. Nov., a new hammerhead shark (Carcharhiniformes, Sphyrnidae) from the western Atlantic Ocean. *Zootaxa* 3702, 159-178.
- Rafinesque, C. S. 1810. Caratteri di alcuni nuovi generi e nuove specie di animali e piante della sicilia, con varie osservazioni sopra i medisimi. Per le stampe di Sanfilippo: Palermo, Italy. pp. 105, 20 fold. Pl. Disponível em <https://www.biodiversitylibrary.org/item/185076#page/13/mode/1up> (Acessado em: 01/07/19)
- Rambaut, A.; Drummond, A.J.; Xie, D.; Baele, G.; Suchard, M.A. 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*. syy032.
- Ramos-Onsis, S.E.; Sánchez-Gracia, A. 2017. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 34: 3299-3302.
- Rose, D. 1996. An overview of world trade in sharks and other cartilaginous fishes, TRAFFIC International, Cambridge, UK106.
- Rozas, J.; Ferrer-Mata, A.; Sánchez-DelBarrio, J.C.; Guirao-Rico, S.; Librado, P.; Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary

Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology And Evolution*, v. 33, n. 7, p.1870-1874. Oxford University Press (OUP).

Salinas de León, P.; Acuña-Marrero, D.; Rastoin, E.; Friedlander, A.M.; Donovan, M.K.; Sala, E. 2016. Largest global shark biomass found in the northern Galápagos Islands of Darwin and Wolf. *PeerJ* 4:e1911.

Sarmiento-Camacho, S.; Valdez-Moreno, M. 2018. *DNA barcode* identification of commercial fish sold in Mexican markets. *Genome*, [s.l.], v. 61, n. 6, p.457-466. Canadian Science Publishing.

Simpfendorfer, C.A.; Milward, N.E. 1993. Utilization of a tropical bay as a nursery area by sharks of the families Carcharhinidae and Sphyrnidae. *Environmental Biology of Fishes*, 37, 337-345.

Smale, M. J. & Cliff, G. 1998. Cephalopod in the diets of four shark species (*Galeocerdo cuvier*, *Sphyrna lewini*, *S. zygaena* and *S. mokarran*) from KwaZulu-Natal, South Africa. *South African Journal of Marine Science*, 20: 241–253.

Spotila, J.R.; Reina, R.D.; Steyermark, A.C.; Plotkin, P.T.; Paladino, F.V. 2000. Pacific leatherback turtles face extinction. *Nature*, v. 405, n. 6786, p.529-530. Springer Nature.

Springer, S. 1941. A new species of hammerhead shark of the genus *Sphyrna*. *Proc Florida Acad Sci (1940)* 5:45-62.

Stamatakis, A. 2014 RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. In *Bioinformatics*

Vaske, T.; Vooren, C. M. & Lessa, R. P. 2009. Feeding strategy of the Night Shark (*Carcharhinus signatus*) and Scalloped Hammerhead Shark (*Sphyrna lewini*) near seamounts off northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57: 97-104.

Walker, T.I. 1998. Can shark resources be harvested sustainably? A question revisited with a review of shark fisheries *Mar. Freshwat. Res.*, 49(7) 553-572.

Ward, R. D.; Zemlak, T.S.; Innes, B.H.; Last, P.; Hebert, P.D. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences*, v. 360, n. 1462, p.1847-1857. The Royal Society.

Weber, M.L.; Fordham, S.V. 1997. Managing shark Fisheries: Opportunities for International Conservation. TRAFFIC International and Center for Marine Conservation Report.

Zemlak, T.S.; Ward, R.D.; Connell, A.D.; Holmes, B.H.; Herbert, P.D.N. 2009. DNA barcoding reveals overlooked marine fishes, *Molecular Ecology Resources*, 9, 237-242.

## 7. Material Suplementar

### 7.1. Material Suplementar S1: Números de acesso do GenBank – sequências utilizadas para alinhamento

<b>Espécies</b>	<b>Lócus</b>	<b>Números de Acesso no Genbank</b>
<i>Sphyrna corona</i>	D-loop	GU385319.
	ITS2	GU385343.
<i>Sphyrna gilberti</i>	D-loop	JF899230-JF899232; KC107827; KY315826; KY315827;
	ITS2	AY864857; JF899233-JF899235.
<i>Sphyrna lewini</i>	COI	DQ885056; DQ885057; DQ885126; DQ885127; EU399011; EU399013; EU399014; FJ237951-FJ237956; FJ519373-FJ519458; FJ519587; FJ519635-FJ519637; GU440527; HQ171735-HQ171776; HQ589298; JF494559-JF494561; JQ365581-JQ365585; KC175447; KF009669; KF461241; KF590254; KF590255; KF590271-KF590276; KF590305; KF590315; KF590317-KF590323; KF590327; KF590347; KF590348; KF590358; KF590359; KF590394; KF590431; KF590449-KF590455; KF606775; KF606791; KF606820 KF606831; KF606853; KF793729; KF793739-KF793742; KF793753; KF793757; KF899746-KF899751; KJ475206; KM396950; KM973194; KM973195-KM973197; KP177233-KP177307; KP719451-KP719773; KP856768; KP856769; KU366619; LC422406-LC422410; MF508688-MF508692; MF686583; MG594042; MG594046; MG594052; MG594053; MG644286; MG644321; MG644330; MG644331; MG703546-MG703559; MG816735; MG837998-MG838000; MH230949; MH235722; MH235723; MH243101; MH243108; MH243124; MH243126; MH243128; MH243141; MH243147; MH243148; MH429288; MH429289; MH841996; MH842009; MH911299-MH911303.
	D-loop	DQ168917-DQ168920; DQ438148-DQ438172; FJ161690; GU014384-GU014391; GU385318; HQ916311; HQ916312; JN543266-JN543270; KC107826; KM922592-KM922595; KR232952-KR232956; KU942394-KU942398; KY315828-KY315830; MK173053.
<i>Sphyrna media</i>	ITS2	AY858051; AY858052; JF899237-JF899241; MK079241.
	D-loop	GU385317.
<i>Sphyrna mokarran</i>	ITS2	GU385342.
	COI	EU399015-EU399017; FJ519459-FJ519488; FJ519638-FJ519641; JN989316; KM396934; KM973189-KM973193; KP177308-KP177317; KP193257; MF508693; MF686574; MG644357; MG644362; MH911047-MH911049.
<i>Sphyrna tiburo</i>	D-loop	DQ168925; GU385315; MF158864-MF158961.
	ITS2	AY860837; AY860838.
<i>Sphyrna tudes</i>	COI	FJ519284-FJ519287; FJ519489-FJ519523; FJ519642-FJ519645; KF461242; KP719774; MG838001; MH911304-MH911314.
	D-loop	DQ168923; DQ168924; GU385313; KM987020- KM987112; KT031755-KT031798; MH603122-MH603131.
<i>Sphyrna zygaena</i>	ITS2	GU385340; JF899242.
	COI	FJ519524; MF686572; MH911315-MH911330.
<i>Sphyrna zygaena</i>	D-loop	GU385316; KC463748-KC463751.
	ITS2	GU385341; JF899243.
<i>Sphyrna zygaena</i>	COI	EU399018; FJ519525-FJ519544; FJ519588; HM909793; JF494563-JF494565; KF590243; KF590346; KF590430; KF590432; KF590433; KF606765; KF606766; KF899752-KF899757; KJ146045; KP177224-KP177232; KP193202; KP193220; KP193242; KP193256; KP193263; KP193278; KP193292; KP193302; KP193305; KP193316; KP193333; KP193343; KP193355; KP193356; KP193360; KP193361; KP193397; KP193404; KP193417; KP193426; KP193444; KP719454-KP719458; MF508694; MG644369-MG703561; MH194422; MH194471-MH194475; MH194487; MH194504.
	D-loop	GU385314; KC431824-KC431828.
	ITS2	AY860839; AY860840; MK079242.

**7.2. Material Suplementar S2: Números de acesso do GenBank – sequências mantidas para construção das árvores filogenéticas**

<b>Espécies</b>	<b>Lócus</b>	<b>Números de Acesso no Genbank</b>
<i>Sphyrna corona</i>	D-loop	GU385319.
	ITS2	GU385343.
<i>Sphyrna gilberti</i>	D-loop	JF899230-JF899232; KC107827; KY315826; KY315827;
	ITS2	AY864857; JF899233-JF899235.
<i>Sphyrna lewini</i>	COI	DQ885056; DQ885057; DQ885126; DQ885127; EU399011; EU399013; EU399014; FJ237951-FJ237956; FJ519373-FJ519458; FJ519587; FJ519635-FJ519637; GU440527; HQ171735-HQ171776; HQ589298; JF494559-JF494561; JQ365581-JQ365585; KC175447; KF009669; KF461241; KF590254; KF590255; KF590271-KF590276; KF590305; KF590315; KF590317-KF590323; KF590327; KF590347; KF590348; KF590358; KF590359; KF590394; KF590431; KF590449-KF590455; KF606775; KF606791; KF606820 KF606831; KF606853; KF793729; KF793739-KF793742; KF793753; KF793757; KF899746-KF899751; KJ475206; KM396950; KM973194; KM973195-KM973197; KP177233-KP177307; KP719451-KP719773; KP856768; KP856769; KU366619; LC422406-LC422410; MF508688-MF508692; MF686583; MG594042; MG594046; MG594052; MG594053; MG644286; MG644321; MG644330; MG644331; MG703546-MG703559; MG816735; MG837998-MG838000; MH230949; MH235722; MH235723; MH243101; MH243108; MH243124; MH243126; MH243128; MH243141; MH243147; MH243148; MH429288; MH429289; MH841996; MH842009; MH911299-MH911303.
	D-loop	DQ168917-DQ168920; DQ438148-DQ438172; FJ161690; GU014384-GU014391; GU385318; HQ916311; HQ916312; JN543266-JN543270; KC107826; KM922592-KM922595; KR232952-KR232956; KU942394-KU942398; KY315828-KY315830; MK173053.
	ITS2	AY858051; AY858052; JF899237-JF899241; MK079241.
<i>Sphyrna media</i>	D-loop	GU385317.
	ITS2	GU385342.
<i>Sphyrna mokarran</i>	COI	EU399017; KM973190; KP177312; KP193257; MF686574; MH911049.
	D-loop	DQ168925; MF158872; MF158887; MF158900; MF158960.
	ITS2	AY860837; AY860838.
<i>Sphyrna tiburo</i>	COI	FJ519284; FJ519506; KP719774; MH911313; MH911314.
	D-loop	DQ168924; GU385313; KM987022; KT031763; MH603130.
	ITS2	GU385340; JF899242.
<i>Sphyrna tudes</i>	COI	FJ519524; MF686572; MH911315; MH911316; MH911330.
	D-loop	GU385316; KC463748-KC463751.
	ITS2	GU385341; JF899243.
<i>Sphyrna zygaena</i>	COI	FJ519540; HM909793; KF590432; KF606765; MF508694.
	D-loop	GU385314; KC431825-KC431828.
	ITS2	AY860839; AY860840; MK079242.