

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA
MOLECULAR

Métodos genéticos de Barcoding e Metabarcoding como ferramentas para
conservação de elasmobrânquios (Pisces: Chondrichthyes)

MARCELO MERTEN CRUZ

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Genética e Biologia Molecular da UFRGS
como requisito parcial para a obtenção do grau
de **Doutor em Genética e Biologia Molecular**

ORIENTADOR: DR. THALES RENATO OCHOTORENA DE FREITAS
CO-ORIENTADOR: DR. ANTHONY CHARITON

PORTO ALEGRE, MARÇO, 2022

Fontes financiadoras

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Citogenética e Evolução do Departamento de Genética do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em parceria com o *Department of Biological Sciences* da *Macquarie University*, subvencionado pelo: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Dedico este trabalho aos meus educadores.
Em especial aos que me puseram no mundo.

Agradecimentos

A presente Tese é a representação de tudo o que faz mais sentido na minha vida: educação e conservação a natureza. Quando nada mais fazia sentido, aprender e conservar foram a minha sina, a minha vocação e o que me moveu. Durante o sinuoso caminho, não me faltaram inspiração e amor.

A começar pelo meu orientador, Thales, que acreditou em mim e no meu potencial quando eu ainda não possuía experiência prática em conservação. Durante os 7 anos que estivemos juntos, o Thales com leveza e maestria fez crescer o meu interesse em fazer a diferença na preservação de espécies. Aos meus colegas de Laboratório, à Lúcia e ao Luciano também sou grato pela parceria na jornada.

Agradeço ao meu co-orientador, Anthony, que me deu oportunidades quando eu já colecionava "nãos" de tentativas internacionais. Mais do que isso, foram conversas e ensinamentos que floresceram a mais bonita vontade de deixar o mundo um pouco melhor. A pandemia foi cruel com os nossos rumos, interrompeu meu sonho quando eu estava em Sydney, mas o reconhecimento é eterno.

Possuo a maior gratidão pela UFRGS, que foi a minha casa do saber durante 12 anos. "Para que(m) serve o teu conhecimento?" foi o meu mantra durante esta jornada. Meu agradecimento aos professores que pavimentaram esta trajetória. Em especial, aos que fiz questão de convidar para avaliar esta Tese: Profs. Loreta e Nelson, saibam que a semente que vocês plantaram no início da década passada inspirou um aluno (até então desinteressado) a apreciar a beleza na biodiversidade. Aos colegas de PPGBM e ao Elmo agradeço pelo companheirismo e amizade.

Por falar em educação, eu que vim de família de educadores, não poderia deixar de agradecê-los agora que cheguei ao ápice na vida de um estudante. Daqui para frente não serei mais formalmente um aluno, mas espero sempre continuar aprendendo. Como aprendi e aprendo com os meus pais, irmã, avós e tios sobre afeto e cuidado.

A vida inteira ouvi dos meus pais que para fomentar a minha educação eles resolveriam qualquer pendência. Para educar a mim e a minha irmã nunca faltou esforço. Hoje eu agradeço por tudo. Agradeço também à minha irmã, maior parceira da minha vida. Sou grato por sermos exatamente nós 4. Amo vocês.

Durante os difíceis anos do doutorado não me faltou amor. Agradeço por também não faltar amar. Sei o quanto envolvi amigos e amores com a minha pesquisa. Compartilhar sonhos é a coisa mais especial que carrego nas minhas relações. Um agradecimento especial à Gabriela, pois juntos aprendemos a entender sobre brilho nos olhos. Se relacionar, por vezes pode ser desafiador, reconheço que trago ao nosso namoro a carga dos desafios de ser um cientista no Brasil. Ao invés de absorver tal fardo, a Gabriela entende os meus propósitos e enfrenta junto as adversidades impostas da forma mais incrível e carinhosa.

Por fim, existe um simbolismo importante a deixar registrado nestes agradecimentos. Muito da minha criação veio com a ajuda das minhas avós. No momento em que escrevo, a minha avó materna está no hospital. O que eu faço? Continuo a escrever. No momento em que soube que perdi a minha avó paterna, eu estava fazendo experimentos do doutorado no laboratório. O que eu faço? Continuo o experimento. Em ambas as ocasiões era a única coisa que me fazia sentido fazer. Assim, eu percebo, mais uma vez, que aprender e conservar são a minha sina, a minha vocação e o que me move. A minha forma intensa de viver a ciência às vezes me machuca, mas é o que sempre me cura.

Obrigado

Sumário

Resumo.....	6
Abstract.....	7
Introdução.....	8
Considerações gerais sobre peixes e elasmobrânquios.....	8
Estratégias de Proteção legal de pesca.....	10
Ferramentas de DNA <i>Barcoding</i> e <i>Metabarcoding</i>	11
Objetivos.....	14
Objetivos específicos.....	14
Capítulo I - Biodiversity on sale: The shark meat market threatens elasmobranchs in Brazil.....	15
Capítulo II - Saint Peter and Saint Paul Archipelago barcoded: fish diversity in the remoteness and DNA barcodes reference library for metabarcoding monitoring.....	29
Capítulo III - Elasmobranchs' metabarcoding requires a pragmatic approach to reach its promises.....	62
Considerações Finais.....	109
Discussão Geral.....	109
Conclusão.....	113
Referências.....	114
Apêndice I - Licença de Coleta SISBIO.....	121

Resumo

Os impactos humanos, como a crise climática, a poluição do mar e a sobre-pesca, têm esgotado os recursos do ecossistema marinho. Nesse contexto, os elasmobrânquios estão na linha de frente dos principais problemas marinhos, pois estão em declínio, são sobre-explorados e vulneráveis à crise climática bem como os seus efeitos em cascata. Assim, para monitorar as pressões antrópicas, técnicas moleculares podem ser utilizadas. Desta forma, o *DNA Barcoding* e *Metabarcoding* são ferramentas adequadas para entender aspectos biológicos das espécies importantes para a conservação. Aqui, aplicamos a capacidade de resolução taxonômica dessas duas técnicas para investigar a diversidade genética de peixes - em especial elasmobrânquios – e seus desafios de conservação. Por exemplo, os elasmobrânquios que são amplamente comercializados sob o nome generalista de “caçãõ” no Brasil; a base da biodiversidade de peixes do Arquipélago de São Pedro e São Paulo; além das promessas e barreiras de um modelo para monitorar a biodiversidade de elasmobrânquios a partir de vestígios de DNA. Foi comprovado, por meio de marcadores moleculares, que não existe um padrão fixo na comercialização da carne de tubarão com o nome “caçãõ” no Brasil. Praticamente todas as espécies de elasmobrânquios podem ser vendidas usando esse nome. Além disso, a distância genética entre as sequências COI de peixes de São Pedro e São Paulo revelaram que o arquipélago é um reservatório de biodiversidade. Devido a isso, sua proteção deve ser aprimorada e monitorada com abordagens científicas, como o *Metabarcoding*. Além disso, foi demonstrado na prática que o *Metabarcoding* de elasmobrânquios é uma ferramenta de conservação útil; no entanto, alguns ajustes são necessários para as estratégias de amostragem e sequenciamento. Em conclusão, a atual situação ameaçadora dos elasmobrânquios poderia ser auxiliada pelo uso de metodologias de *DNA Barcoding* e *Metabarcoding* que já foram confirmadas serem efetivamente aplicáveis a essas espécies.

Abstract

Human impacts such as the climate crisis, pollution of the sea, and overfishing have been depleting marine ecosystem resources. In such a context, elasmobranchs are on the frontline of the main marine issues, as they are in decline, over-exploited, and vulnerable to the climate crisis and its cascading effects. So, in order to monitor the anthropogenic pressures, molecular techniques can be used. In this way, the DNA Barcoding and *Metabarcoding* are reliable tools to understand aspects of species biology important to conservation. Here, we applied the capacity of taxonomic resolution of those two techniques to investigate the genetic diversity of fishes - in special elasmobranchs – and their conservation challenges. Such as the elasmobranchs that are broadly commercialized under the generalist common name of “caçãõ” in Brazil; the baselines of Saint Peter and Saint Paul Archipelago’s fish biodiversity; besides the promises and barriers of a model to monitor elasmobranch biodiversity from DNA traces. It was proven, by using molecular markers, that there is no fixed pattern when selling shark meat under the “caçãõ” name in Brazil. Virtually any elasmobranch species can be sold using this name. Also, the genetic distance among fish COI sequences from Saint Peter and Saint Paul revealed that the archipelago is a reservoir of biodiversity. Due to this, its protection should be enhanced and be well monitored with science-based approaches such as DNA *Metabarcoding*. Moreover, it was demonstrated in practice that elasmobranch *Metabarcoding* is a useful conservation tool; however, some adjustments are necessary to the sampling and sequencing strategies. In conclusion, the current threatening situation of elasmobranchs could be aided by the use of Barcoding and *Metabarcoding* methodologies that already have been confirmed to be effectively applicable to those species.

Introdução

Considerações gerais sobre peixes e elasmobrânquios:

Há 541 milhões de anos estabelecia-se o período Cambriano, este caracterizado por promover condições que possibilitaram a transição evolutiva de formas de vida simples a uma vasta diversidade de vertebrados (Peng et al., 2020). A "explosão do Cambriano" é a designação dada aos eventos em cascata que aceleraram a diversificação da vida no planeta Terra (Morris, 2000). A história evolutiva dos vertebrados inicia-se neste período com a emergência de formas primitivas de peixes (Janvier, 1999).

Desde então, os peixes evoluíram às mais diversas formas, tamanhos, cores, e estratégias alimentares e reprodutivas (Dario, 2015). Os peixes são o grupo de vertebrados mais numeroso atualmente e ocupam uma grande variedade de ecossistemas aquáticos (Nelson et al., 2016) Sendo assim, a diversidade de peixes em determinada região é considerada um importante indicador da qualidade ecossistêmica (Chovanec et al., 2003).

Estima-se que existam 35.934 espécies de peixes descritas (IUCN, 2021). Dentre estas, o que as diferencia em sua classificação biológica é a sua composição esquelética, sendo principalmente divididos em Agnatha (Peixes sem mandíbulas); Chondrichthyes (Peixes cartilagosos); e Osteichthyes (Peixes ósseos; Nelson et al., 2016)

Os Chondrichthyes, classe que engloba tubarões, raias (sub-classe dos elasmobrânquios) e quimeras, estão entre os vertebrados de maior trajetória evolutiva, pois sua origem evolutiva data de cerca de 420 milhões de anos (Dulvy et al., 2017) Desde então, boa parte das espécies de elasmobrânquios vêm desenvolvendo estratégias predatórias para ocuparem as camadas superiores das teias alimentares aquáticas (Camhi et al., 1998). Por serem predadores de topo, possuem um papel balanceador em ecossistemas aquáticos ao controlar desequilíbrios populacionais de suas presas através da regulação em cascata de teias tróficas (Stevens et al., 2000; Heithaus et al., 2012; Heupel et al., 2014).

Devido a sua importância evolutiva e papel ecológico em manter a saúde e estabilidade aquática, há uma preocupação especial em preservar essas espécies (Myers e Worm, 2003; Baum e Worm, 2009; Heithaus et al., 2012; Dulvy et al., 2017). Os elasmobrânquios resistiram a quatro eventos de extinção

em massa ao longo da escala de tempo geológica; entretanto as atuais ameaças estão submetendo estas espécies a um risco de extinção sem precedentes (Dulvy et al., 2014).

Ainda, há uma combinação de fatores que fazem tubarões e raias serem especialmente vulneráveis aos impactos do Antropoceno. O primeiro e principal deles é a sobre-pesca, pois a remoção massiva da vida aquática como um todo tem esgotado os recursos alimentares dos elasmobrânquios (Ferretti et al., 2010). A pesca insustentável está tornando os elasmobrânquios mais sensíveis às mudanças em todos os níveis da comunidade marinha (Gilman et al., 2016; Rosa et al., 2017). As pressões indiretas da pesca também impactam as populações de tubarões e raias por meio da captura acidental (Gallagher et al., 2014; Molina et al., 2012; Favaro e Côté, 2015). Por fim, estas espécies também são capturadas em grande número por pescarias direcionadas (Dulvy et al., 2014). A produção total de capturas globais de elasmobrânquios que são informadas à Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) triplicou desde 1950, atingindo recentemente entre 0,7 e 0,8 milhões de toneladas (FAO, 2020). Worm e colaboradores (2013), em um estudo global, estimaram que cerca de 100 milhões de tubarões são pescados anualmente.

A pressão sobre a biodiversidade aquática foi uma tendência ao longo da história da humanidade, uma vez que o ponto focal do crescimento populacional humano foram regiões marinhas e estuarinas, tornando-as conseqüentemente mais vulneráveis (Lotze et al., 2006; Mora et al., 2011). Assim, a ocupação antrópica modificou os ecossistemas aquáticos inviabilizando os recursos biológicos essenciais aos elasmobrânquios que anteriormente os habitavam (Myers e Worm 2003; Perry et al., 2011). Ademais, a poluição, o desmatamento, e o impacto de queimadas podem tornar ainda mais inabitáveis estuários e oceanos (Castello et al., 2013; He et al., 2014; Castello et al., 2018)

Outro fator que também tem sido ameaçador a tubarões e raias é a atual crise climática, ao passo que o clima global está sendo alterado em seus padrões ambientais (Wheeler et al., 2020). Os efeitos em cascata abalam sistemas aquáticos ao alterar a temperatura e acidez da água, os níveis dos oceanos, as correntes marítimas e a frequência de tempestades

(Gattuso et al., 2015). Assim, tais mudanças estão impactando diretamente os elasmobrânquios, ao descaracterizar as suas relações tróficas, rotas migratórias e condições reprodutivas (Perry et al., 2005; Cheung et al., 2013; Robinson et al., 2015).

Estratégias de Proteção legal de pesca:

Nos últimos 50 anos, o consumo de pescado dobrou globalmente (FAO, 2020). Atualmente, contribui com cerca de 17% da ingestão de proteínas da população global (FAO, 2018). Para sustentar tal demanda, a pressão sobre os estoques pesqueiros do mundo se intensificou (Anticamara et al., 2011). Este aumento do esforço de pesca levanta preocupações sobre os impactos futuros da pesca excessiva e as implicações ecológicas associadas a esses eventos (Steneck e Pauly, 2019; Costello et al., 2020; Scherrer e Galbraith, 2020).

Para evitar o colapso, a gestão da pesca deve ser baseada em informações científicas a serem usadas para desenvolver as regras sob as quais as atividades devem operar (Cochrane, 2002). Cada nação costeira possui jurisdição para pescar no limite de 200 milhas náuticas de seu território; esta área é denominada Zona Econômica Exclusiva (EEZ). Cabe a cada nação determinar as leis e mecanismos regulatórios das pescarias internas (UNCLOS, 1982)

Com o desafio de alcançar uma produtividade satisfatória e ao mesmo tempo sustentável dos recursos pesqueiros, diferentes estratégias de controle e gestão podem ser adotados (Hilborn, 2007). Estão entre as ferramentas de conservação que podem ser utilizadas no caso da pesca: limitar o total de captura admissível; controlar o esforço de pesca; restringir o tamanho dos peixes que podem ser capturados ou retidos; delimitar as artes e estratégias de pesca permitidos; conceder licenças específicas; determinar períodos em que determinadas pescarias são proibidas; listar espécies em risco de extinção que não devem ser pescadas; e restringir áreas de pesca (Cochrane, 2002; Schnute et al., 2007)

Especificamente, no caso de tubarões e raias, as listas elaboradas pela “Convention on the Conservation of Migratory Species of Wild Animals” (CMS) e “The Convention on the International Trade in Endangered Species eWild Fauna eFlora” (CITES) são utilizadas frequentemente e fornecem ferramentas importantes para melhorar a proteção dos peixes que são reconhecidos como ameaçadas de extinção no nível jurídico internacional (Techera e Klein, 2011).

Comumente, nações criam suas próprias listas de proteção baseados em espécies em perigo em suas EEZs (Schnute et al., 2007). Há outros métodos de manejo em longo prazo e com base científica que devem ser levados em

consideração (Fiedler et al., 2017). Uma regulamentação estrita da pesca como um todo já se mostrou uma opção a ser considerada (Anderson et al., 2019). A criação de Áreas de Proteção Marinhas exclusivamente destinadas a proteger os tubarões e raias já foram demonstrados como uma estratégia promissora (Chapman et al., 2005; Brunnschweiler, 2010; Bond et al., 2017; MacKeracher et al., 2019). Também, certificar e promover a pesca sustentável pode auxiliar na conservação de tubarões (Jacquet e Pauly, 2008; Bornatowski et al., 2015). Bem como, estabelecer períodos temporários de proteção (Speed et al., 2010), e o uso eficaz de dispositivos de redução de capturas acessórias (Favaro e Côté, 2015).

Ferramentas de DNA *Barcoding* e *Metabarcoding*:

Atividades antrópicas estão mudando a dinâmica do planeta e elevando continuamente as taxas de extinções a partir de eventos como a crise climática, a fragmentação de habitats e a sobre-exploração de recursos naturais (Brook et al., 2008). Devido as alterações provocadas, o constante monitoramento da biodiversidade se faz necessário. O desaparecimento acelerado da diversidade traz efeitos em cascata nas interações ecológicas entre espécies, descaracterizando ecossistemas e, por consequência, alterando os padrões de biodiversidade (Sage, 2020). Os sinais, ainda invisíveis em escala geológica, tornam-se evidentes através de métricas de avaliação *in situ* da biodiversidade. Sendo assim, a composição das espécies em diferentes biomas e alterações em seus padrões de distribuição podem atuar como um indicador ambiental da atividade humana (DiBattista et al., 2020).

A dinâmica das perdas de espécies se dá de forma tão acelerada que mesmo parâmetros biológicos baseados em captação de imagens e sons não estimam a magnitude da calamidade com precisão. (Raup, 1995; Hoffmann et al., 2010). Portanto, técnicas moleculares foram desenvolvidas para caracterizar a diversidade de espécies de forma rápida e confiável (Krishnamurthy e Francis, 2012; Elbrecht et al., 2019). Desde o início da década de 1990, o gene mitocondrial citocromo c oxidase I (COI) tem sido usado como ferramenta para descrever a biodiversidade (Folmer et al., 1994). Hebert et al. (2003) revolucionaram a técnica ao proporem que a "região de Folmer" do COI poderia ser usada para identificar e discriminar espécies como um código de barras molecular (Hebert et al., 2003; Hebert e Gregory, 2005).

Este fragmento genético de 658 pb pode ser facilmente obtido de tecidos animais e, uma vez sequenciado, fornece mais de 97% de confiança para diferenciar espécies pela divergência em suas sequências COI (Hajibabaei et al.,

2005; Meusnier et al., 2008). Após quase duas décadas, o procedimento é amplamente aceito para o levantamento da biodiversidade (Hubert e Hanner, 2015; Delrieu-Trottin et al., 2019).

No entanto, para uma descrição confiável da espécie, o DNA *Barcoding* não é suficiente, sendo necessárias abordagens taxonômicas adicionais (Zamani et al., 2021). De fato, uma das maiores limitações da técnica é a necessidade de ter uma biblioteca de referência para a identificação das sequências (Christoffer, 2005). O requisito de espécimes de referência impõe dificuldades adicionais à implementação do método, pois alguns indivíduos são raros ou difíceis de amostrar (Ogwang et al., 2020)

A necessidade de desenvolvimento de soluções de monitoramento resultou no advento de técnicas moleculares que agora permitem o estudo de diferentes *taxa* através de amostras ambientais - DNA Ambiental (Ruppert et al., 2019). O concomitante avanço de sensíveis protocolos de extração de DNA, de tecnologias de bioinformática, e de ferramentas de amplificação e sequenciamento genético, permitem o estudo de fragmentos de DNA presentes em substratos como o ar, terra, sedimento e a água (Creer et al., 2016; Jarman et al., 2018). O material genético expelido por organismos através da urina, sêmen, fezes, pelos, pele, tecidos ou até mesmo de indivíduos mortos no ambiente agora está apto a ser estudado (Thomsen e Willerslev, 2015; Wangensteen et al., 2018). A caracterização genética de múltiplas *taxa* a partir de amostras ambientais é denominado “*DNA Metabarcoding*” (Taberlet et al., 2018); Esta é considerada uma técnica molecular inovadora, pois permite um rápido e preciso levantamento da biodiversidade, além de ser potencialmente mais informativa do que abordagens tradicionais. (Taberlet et al., 2012; Creer et al., 2016.

Um dos modelos taxonômicos que mais tiveram sua capacidade de diferenciação explorada através de marcadores moleculares, sobretudo o COI, foram os elasmobrânquios. Considerando a prática de comercialização destes através de nomes genéricos (sem a distinção entre espécies), o DNA *Barcoding* já foi aplicado para fornecer evidências forenses das várias espécies envolvidas no comércio de barbatanas em Marrocos (Alison et al., 2018), Reino Unido (Hobbs et al., 2019), Canadá, China (Steinke et al., 2017), Hong Kong (Clarke et al., 2006), Emirados Árabes Unidos (Jabado et al., 2015), Austrália (Holmes et al., 2009), Madagascar (Doukakis et al., 2011) e Indonésia (Sembiring et al., 2015). Os mesmos métodos de identificação de base molecular também foram usados para identificar espécies de carne de tubarão no Peru (Velez-Zuazo et al.,

2015), Costa Rica (O'Bryhim et al., 2017), Taiwan (Liu et al., 2013), Reino Unido (Hobbs et al., 2019), Guiana (Kolmann et al., 2017), Emirados Árabes Unidos (Jabado et al., 2015), Indonésia (Sembiring et al., 2015) e Brasil (Rodrigues-Filho et al., 2009; Ramos, 2017; Staffen et al., 2017; Almerón-Souza et al., 2018; Bunholi et al., 2018; Feitosa et al., 2018; Calegari et al., 2019; Bernardo et al., 2020; Merten Cruz et al., 2021).

Por sua vez, a técnica de *Metabarcoding* em elasmobrânquios já foi utilizada para desenvolver novos marcadores moleculares (Miya et al., 2015); examinar os impactos antrópicos (Bakker et al., 2017); comparar a eficiência de *Metabarcoding* a métodos tradicionais (Boussarie et al., 2018 West et al., 2020; Fraija-Fernández et al., 2020; Ip et al., 2021); comparar desempenhos relativos entre conjuntos de primers (Collins et al., 2019); e avaliar a variação espacial das espécies estudadas (West et al., 2020; Mariani et al., 2021; Marwayana et al., 2021; Monuki et al., 2021).

Objetivos


O objetivo central do presente estudo é investigar a aplicação de metodologias moleculares de *Barcoding* e *Metabarcoding* para estudo e conservação de peixes, sobretudo elasmobrânquios. Abaixo são apresentados os objetivos específicos que abrangem este trabalho.

- Demonstrar, através do DNA *Barcoding*, a diversidade das espécies de elasmobrânquios que são vendidas ao longo da costa do Brasil sob o nome genérico “cação”.
- Revelar, dentre as espécies molecularmente identificadas, quais são os elasmobrânquios ameaçados de extinção que estão sendo comercializadas ocultamente.
- Detectar e catalogar os padrões de biodiversidade de peixes marinhos em um conjunto de ilhas remotas (Arquipélago de São Pedro e São Paulo).
- Fornecer a primeira biblioteca de sequências do gene COI dos peixes marinhos da região do Arquipélago de São Pedro e São Paulo.
- Apontar o *primer* mais apropriado para futuros trabalhos de *Metabarcoding* dos peixes do Arquipélago de São Pedro e São Paulo.
- Testar os desafios e perspectivas para o uso de *Metabarcoding* de elasmobrânquios como ferramenta de monitoramento de Áreas Marinhas Protegidas.
- Caracterizar via *Metabarcoding* a biodiversidade de peixes marinhos, em especial de elasmobrânquios, de Fernando de Noronha.

RESEARCH ARTICLE

WILEY

Biodiversity on sale: The shark meat market threatens elasmobranchs in Brazil

Marcelo Merten Cruz^{1,2}  | Bruna Elenara Szyrwelski^{1,2} |
Thales R. Ochotorena de Freitas^{1,2} 

¹Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, C.P. 15053, Porto Alegre, RS, CEP 91501-970, Brazil

²Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, 91501-970, Brazil

Correspondence

Marcelo Merten Cruz, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Departamento de Genética Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, Brazil.
Email: marcelomcruz4@gmail.com

Funding information

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

Abstract

1. Elasmobranchs are apex predators that play a crucial role in marine ecosystems by regulating the dynamics of food webs, as well as connecting different trophic levels across habitats.
2. The large-scale removal of elasmobranchs impacts the energy transfer in trophic interactions. The pressure of unsustainable fisheries is considerable, as most elasmobranchs have reproductive strategies that render them unable to recover their demographic status after depletion.
3. In Brazil, elasmobranchs are broadly commercialized under the generalist common name of 'caçãõ' (namely, shark meat). This allows threatened species to be commercialized and makes the tracking of different species difficult.
4. DNA barcoding of the Cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene was applied to identify the different species sold as 'caçãõ' along the coastline of Brazil. Fifty-seven samples from 33 cities in 15 coastal states of Brazil were purchased and analysed.
5. Bioinformatic analyses revealed the presence of 17 species that were sold as 'caçãõ'. Among them, *Prionace glauca* (blue shark) was the most abundant. Other species, listed as Endangered under the IUCN Red List of Threatened Species, were also uncovered as being in the shark meat trade, such as *Sphyrna lewini* (scalloped hammerhead), *Isurus paucus* (longfin mako shark), and *Squatina guggenheim* (angular angel shark).
6. These findings have reinforced the necessity to correctly label the commercialized species. Public actions towards species-specific management plans must be applied, as well as monitoring the supervised allied educational programmes.

KEYWORDS

barcoding, biodiversity, BOLD, Brazil, COI, conservation genetics, elasmobranchs, fisheries, management, seafood, sharks, threatened species

1 | INTRODUCTION

In the last 50 years, the consumption of fish has doubled globally (Food and Agriculture Organization of the United Nations

(FAO), 2020). It now contributes to around 17% of the global population's protein intake (FAO, 2018). To sustain such a demand, the pressure on the world's fish stocks has intensified (Anticamara et al., 2011). This increased fishing effort raises concerns for the

future impacts of overfishing, the loss of fish habitats, pollution, and the associated ecological implications of these events (Steneck & Pauly, 2019; Costello et al., 2020; Scherrer & Galbraith, 2020).

The erroneous identification (mislabelling) of the catches is one of the factors that contribute to the continuing collapse of fish stocks (Jacquet & Pauly, 2008). The practice of intentionally mislabelling is often used to induce consumer acceptance (Logan et al., 2008). However, it can be related to specific fisheries that violate the regulations, including those that fail to declare their products properly, and those that do not follow the specific fishing authorizations (Pardo, Jiménez & Pérez-Villarreal, 2016).

Intentional mislabelling practices are especially common when appropriate regulations are absent (Reilly, 2018). Such mislabelling acts to cover up illegal, unreported, and unregulated fishing, a serious global issue that amounts to up to 30% of the total catch in some important fisheries (FAO, 2018). In addition, fishery products are commercialized without any distinction between the species, or are not correctly managed (Jacquet & Pauly, 2008). Often, the fishery management authorities do not have access to the necessary information to apply adequate conservation plans (Fox et al., 2018).

One of the notable cases of seafood mislabelling is related to elasmobranchs, a subclass of cartilaginous fish (Chondrichthyes) that includes sharks and rays (Compagno, 2001). Elasmobranchs are known for their evolutionary success, since their existence on Earth is estimated at over 420 million years and they are considered the earliest extant jawed vertebrates (Dulvy et al., 2017). Owing to their persistence and presence in marine ecosystems over this long period, numerous shark species have evolved into top (apex) predators within the marine food webs (Camhi et al., 1998).

Apex predators play a crucial role in marine environments (Heithaus, Wirsing & Dill, 2012). They contribute to maintaining the balance of marine interactions, structuring the dynamics of food webs, and connecting different trophic levels across habitats (Stevens et al., 2000; Heupel et al., 2014). In fact, the richness in the biodiversity of elasmobranchs represents a direct indicator of ocean health and stability (Friedrich, Jefferson & Glegg, 2014; Navia et al., 2017). In this context, there is a special need to protect these species (Myers et al., 2007; Baum & Worm, 2009; Heithaus, Wirsing & Dill, 2012; Dulvy et al., 2017).

Aside from conservation efforts and their ecological importance, a combination of factors has led sharks to be especially vulnerable in the current fishing scenario. Essentially, the massive removal of sea life as a whole has been depleting the food resources of the sharks (Ferretti et al., 2010). Unsustainable fisheries are making sharks more sensitive to changes at all levels of the marine community (Gilman et al., 2016; Rosa, Rummer & Munday, 2017). The indirect pressures of the fisheries, such as bycatch, also have an impact on the shark populations (Gallagher et al., 2014). Currently, shark bycatch is one of the main threats to shark stocks globally (Molina & Cooke, 2012; Favaro & Côté, 2015).

Sharks are also captured in very large numbers by directed fisheries (Dulvy et al., 2014). The total production of global shark catches that are reported to the FAO has tripled since 1950, recently

reaching between 0.7 and 0.8 million tons (FAO, 2018). Worm et al. (2013), in a global study, estimated that about 100 million sharks are landed annually. The exploitation of several shark species worldwide has increased significantly since the economic expansion of the Asian markets in the last decades (Eriksson & Clarke, 2015). As shark fins have a cultural relevance in many Asian cultures, 'finning' (the practice that involves removing the fins from live sharks, and discarding their dying body into the ocean) has become a lucrative activity (Holmes, Steinke & Ward, 2009). Every year, fins from more than 38 million sharks are harvested by the shark fin trade (Clarke et al., 2006b).

Species with a low reproductive potential, such as sharks, are more susceptible to the unsustainable growth of fisheries (García, Lucifora & Myers, 2008; Ferretti et al., 2010; Dulvy et al., 2014). Once exploited, characteristics, such as a long lifespan, late reproductive maturity, low fecundity, and long incubation periods, pose limits on the ability of these stocks to recover their demographic status after depletion (Hoenig & Gruber, 1990; Camhi et al., 1998; Stevens et al., 2000). Moreover, in distinct commodities, the market for shark meat, shark fin, and other shark products (cartilage, skin, jaws, livers, and liver oil) is separated (Dent & Clarke, 2015). Therefore, it is difficult to accurately project the population trends, the ecological patterns, and the changes over time (Vannuccini, 1999; Dent & Clarke, 2015). Whereas the shark fin and other shark product trades are historically related to Asian countries, shark meat commercialization is more diverse and is geographically dispersed with Spain, Italy, Uruguay, Brazil, and Taiwan some of the main consumers (Dent & Clarke, 2015).

An additional surveillance impediment is that sharks, in general, are commercialized without a distinction between the species (Clarke et al., 2006b; Bornatowski, Braga & Vitule, 2013; López de la Lama, De la Puente & Riveros, 2018). In Brazil, not only sharks, but also some ray species, are broadly commercialized, without any specific identification, and under the same generalist common name, 'cação', which is meaningless in Portuguese (Bornatowski, Braga & Barreto, 2018). This commercialized word was derived from the Spanish 'cazón', purposefully without a Portuguese definition, with the specific intention of gaining consumer acceptance (Barreto et al., 2017) while threatening the conservation of several species (Carvalho et al., 2015).

Despite the high capture rate in Brazil, the growth of the market in Brazil has resulted in imports of shark meat increasing eightfold since 2000 (from 2,621 to 21,067 t), ranking Brazil as the world's largest importer since 2011 (FAO, 2012; FAO, 2016; FAO, 2018). Brazil has not provided official fishery statistics since 2011 (Barreto et al., 2017), and Brazil is currently estimated to have the 11th highest capture rate of elasmobranchs in the world (FAO, 2020). Between 2000 and 2011 (the date of the last official fishery statistics), Brazil landed a total of 20,992 t of cartilaginous fish (Dent & Clarke, 2015). Currently, one-third of Brazil's shark species are listed as being in the extinction threat categories, according to the last official report of the Brazil Red Book of Threatened Species (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018).

There is no current law in Brazil that regulates the fishery and commercialization of elasmobranchs. A law had existed in the past, which was the Ordinance of the Ministry of Environment no. 445, dated December 17, 2014 (Ministra de Estado do Meio Ambiente, 2014). This ordinance prohibited the harvesting of 475 species of marine invertebrates and fish (53 elasmobranchs species), based on the extinction threat category of the Brazil Red List of Threatened Species. However, it was suspended by an injunction; so, currently, the fishing industry operates without any legal protection of threatened species (Escobar, 2015a). The regulation is further compromised by the impossibility of the consumer and the authorities to be able to identify the species of fish that are being sold (Barreto et al., 2017). Beyond the barrier of poor commercial labelling, handled shark pieces lack the necessary morphological characteristics for routine taxonomic identification (Ovenden et al., 2015). Therefore, molecular techniques have been developed to address the need for species identification and to help protect the threatened species (Bornatowski, Braga & Vitule, 2013).

The differentiation of species at the molecular level was initially proposed by Hebert et al. (2003) using the mitochondrial gene Cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) as an effective 'barcode' capable of identifying the species, and subsequently was critically reviewed by Krishna & Francis (2012). DNA barcoding has already been applied to provide forensic evidence of the various species involved in the fin trade in Morocco (Alison et al., 2018), the UK (Hobbs et al., 2019), Canada, China (Steinke et al., 2017), Hong Kong (Clarke et al., 2006a), United Arab Emirates (Jabado et al., 2015), Australia (Holmes, Steinke & Ward, 2009), Madagascar (Doukakis et al., 2011), and Indonesia (Sembiring et al., 2015). The same molecular-based identification methods were also used to identify shark meat species in Peru (Velez-Zuazo et al., 2015), Costa Rica (O'Bryhim, Parsons & Lance, 2017), Taiwan (Liu et al., 2013), the UK (Hobbs et al., 2019), Guyana (Kolmann et al., 2017), United Arab Emirates (Jabado et al., 2015), Indonesia (Sembiring et al., 2015), and in some regions of Brazil (Rodrigues-Filho et al., 2009; Ramos et al., 2017; Staffen et al., 2017; Almerón-Souza et al., 2018; Bunholi et al., 2018; Feitosa et al., 2018; Calegari, Reis & Alho, 2019; Bernardo et al., 2020).

The current study has applied the DNA barcoding method to identify the shark species that are being commercialized along Brazil's entire coastline, under the name of 'cação'. This investigation aimed to demonstrate the hidden diversity of the species that are sold along the coast of Brazil under the generic name 'cação', and whether any threatened species have entered the market.

2 | METHODS

The collections of the shark meat samples sold as 'cação' were made under the SisGen/MMA licence number A8E1320. In total, 33 locations were visited between September and December 2017. To standardize the sampling procedure, the main fish markets of the capital cities were targeted. The same researcher (the primary author)

visited all of the localities and bought the samples as a general consumer (no mention was made of the scientific investigation).

In all of the cities, each fish stall in the market was visited. A random sample of fresh shark meat labelled 'cação' was purchased whenever it was available. Other forms of shark meat were not found, whereas samples labelled as 'raias' or 'arraias' (rays) were not considered. After the 'cação' samples were bought, they were stored in separate Ziploc bags and preserved with ice during transport to the laboratory. In a clean and sterile environment, fragments of the fish were cut from the inner parts. The tweezers and scissors that were used were sterilized with alcohol and flamed to minimize the chance of cross-contamination. The sample tissues were then labelled and preserved in 96% ethanol at -20°C until their extraction.

For each sample, the DNA was extracted from a small piece of tissue (around 3 mm) using the cetyltrimethylammonium bromide protocol (Doyle & Doyle, 1987). The polymerase chain reaction amplification of the mitochondrial DNA (mtDNA)-COI gene was carried out using forward (Fish F2) and reverse (Fish R2) primers (Ward et al., 2005). The thermal cycling condition began with an initial denaturing at 94°C for 5 min, followed by 35 repeated cycles of denaturing (94°C for 0.5 min), annealing (50°C for 0.5 min), extension (72°C for 1 min), and then concluded with a final extension at 72°C for 7 min. The polymerase chain reaction products were then checked on 1% agarose stained with GelRed (Biotium, Fremont, CA, USA) and purified with mixtures of Exonuclease I, combined with shrimp alkaline phosphatase (Amersham Biosciences, Little Chalfont, UK). The purified products were cycle sequenced by MacroGen Inc. (Seoul, Korea) and Sanger sequenced on an ABI3730XL DNA sequencer (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA), with the forward primer used for amplification. The sequences were assembled in Geneious Pro version 9. The alignments were performed by using MUSCLE W (Edgar, 2004) in MEGA 7 software (Kumar, Stecher & Tamura, 2016), while employing the default settings. The sequences were deposited in GenBank under accession numbers MW465122–MW465178.

Species identification was based on the DNA barcodes using the Identification Engine of Barcode of Life Data System (BOLD), by selecting 'Animal Identification (COI)' and the 'Species Level Barcode Records' (Table 1). A top species match was identified with a sequence similarity of at least 98%. The species level was also checked using the resulting Taxon ID Tree of the BOLD COI Species Database. In order to further validate the species identification, a neighbour-joining tree was generated in MEGA 7 (default parameters) when using the DNA barcodes that were obtained in this study, combined with the sequences that were downloaded from BOLD (up to 10 close matches) and can be assessed by using the 'Public Data Portal' of the BOLD Systems.

The species identified were classified according to their vulnerability to extinction on a global scale of the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of Threatened Species (IUCN, 2020). Their conservation status on the Brazil Red List of Threatened Species was checked, to indicate which species would be

TABLE 1 Locations, identified species, their similarity to the BOLD Database candidate species, their classification according to IUCN (2020), and the Brazilian Ministry of the Environment (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018) risk of extinction

Abbreviation	Location	Species name	Similarity (%)	IUCN status (IUCN, 2020)	BR status (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018)
POA1	Porto Alegre (RS)	<i>Squalus mitsukurii</i>	100	DD	—
POA2	Porto Alegre (RS)	<i>Squalus mitsukurii</i>	100	DD	—
FLO1	Florianópolis (SC)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
FLO2	Florianópolis (SC)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
FLO3	Florianópolis (SC)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
BMB1	Bombinhas (SC)	<i>Sphyrna lewini</i>	100	EN	CR
PBL1	Porto Belo (SC)	<i>Squalus mitsukurii</i>	100	DD	—
BCB1	Balneário Camboriú (SC)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
PNG1	Paranaguá (PR)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
PNG2	Paranaguá (PR)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
PNG3	Pontal do Paraná (PR)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
CTB1	Curitiba (PR)	<i>Carcharhinus falciformis</i>	100	VU	—
CTB2	Curitiba (PR)	<i>Sphyrna zygaena</i>	100	VU	CR
CAN1	Cananéia (SP)	<i>Rhizoprionodon lalandii</i>	100	DD	—
CAN2	Cananéia (SP)	<i>Sphyrna zygaena</i>	100	VU	CR
PER1	Peruíbe (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
PER2	Peruíbe (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
PER3	Peruíbe (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
SNT1	Santos (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
SNT2	Santos (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
SNT3	Santos (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
SAO1	São Paulo (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
SAO2	São Paulo (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
SAO3	São Paulo (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
UBA1	Ubatuba (SP)	<i>Squatina guggenheim</i>	100	EN	CR
UBA2	Ubatuba (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
UBA3	Ubatuba (SP)	<i>Carcharhinus falciformis</i>	99.80	VU	—
UBA4	Ubatuba (SP)	<i>Carcharhinus falciformis</i>	100	VU	—
IBL1	Ilhabela (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
IBL2	Ilhabela (SP)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
PTY1	Paraty (RJ)	<i>Sphyrna zygaena</i>	100	VU	CR
PTY2	Paraty (RJ)	<i>Rhizoprionodon porosus</i>	100	LC	—
PTY3	Paraty (RJ)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
RIO1	Rio de Janeiro (RJ)	<i>Rhizoprionodon porosus</i>	100	LC	—
RIO2	Rio de Janeiro (RJ)	<i>Rhizoprionodon porosus</i>	100	LC	—
VIT1	Vitória (ES)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
PSG1	Porto Seguro (BA)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	—
ILH1	Ilhéus (BA)	<i>Carcharhinus falciformis</i>	100	VU	—
SSA1	Salvador (BA)	<i>Sphyrna lewini</i>	100	EN	CR
ACJ1	Aracajú (SE)	<i>Rhizoprionodon porosus</i>	100	LC	—
ACJ2	Aracajú (SE)	<i>Galeocerdo cuvier</i>	100	NT	—
ACJ3	Aracajú (SE)	<i>Carcharhinus porosus</i>	99.80	DD	—
ACJ4	Aracajú (SE)	<i>Rhizoprionodon lalandii</i>	99.80	DD	—
ACJ5	Aracajú (SE)	<i>Galeocerdo cuvier</i>	100	NT	—
MAC1	Maceió (AL)	<i>Carcharhinus limbatus</i>	100	NT	—

TABLE 1 (Continued)

Abbreviation	Location	Species name	Similarity (%)	IUCN status (IUCN, 2020)	BR status (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018)
MAC2	Maceió (AL)	<i>Rhizoprionodon porosus</i>	100	LC	–
REC1	Recife (PB)	<i>Prionace glauca</i>	100	NT	–
REC2	Recife (PB)	<i>Isurus paucus</i>	100	EN	–
JPA1	João Pessoa (PB)	<i>Xiphias gladius</i>	100	LC	–
NAT1	Natal (RN)	<i>Ginglymostoma cirratum</i>	100	DD	VU
NAT2	Natal (RN)	<i>Carcharhinus falciformis</i>	100	VU	–
FOR1	Fortaleza (CE)	<i>Ginglymostoma cirratum</i>	100	DD	VU
FOR2	Fortaleza (CE)	<i>Ginglymostoma cirratum</i>	100	DD	VU
FOR3	Fortaleza (CE)	<i>Ginglymostoma cirratum</i>	100	DD	VU
SLZ1	São Luís (MA)	<i>Hypanus guttatus</i>	100	DD	–
BEL1	Belém (PA)	<i>Carcharhinus leucas</i>	100	NT	–
BEL2	Belém (PA)	<i>Sphyrna tudes</i>	99.60	VU	CR

Abbreviations: CR, Critically Endangered; DD, Data Deficient; EN, Endangered; LC, Least Concern; NT, Near Threatened; VU, Vulnerable.

banned from commercialization if Ordinance no. 445 were to be enforced (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018).

Comprehensive analyses of the wide plasticity of 'caçãõ' and the threatened species that are commercialized in Brazil were conducted with the results of smaller space-scale 'caçãõ' samples from the south of Brazil (Almerón-Souza et al., 2018), Florianópolis (state of Santa Catarina; Staffen et al., 2017), Paraná state (Bernardo et al., 2020), São Paulo state (Ramos et al., 2017), Brazil's north coast (Rodrigues-Filho et al., 2009; Feitosa et al., 2018), and even a survey of the public elementary school meals in a non-disclosed Brazilian town (Calegari, Reis & Alho, 2019).

3 | RESULTS

The extraction and amplification methods were successful for 57 of 60 samples (Figure 1). Among the 57 samples, the COI Barcode could be identified on BOLD, with a high percentage of similarity (99.6–100%; Table 1), revealing 17 species that are found in seven families of elasmobranchs (Figure 2). Surprisingly, one sample from Joao Pessoa (JPA1) was identified as *Xiphias gladius*. The topology of the neighbour-joining tree corroborated the identification and was based on the percentage similarity that was obtained with the BOLD results (Figure 2).

Among the 17 species of Chondrichthyes, *Prionace glauca* was the most abundant (23 of the samples), followed by *Rhizoprionodon porosus* (six samples) and *Carcharhinus falciformis* (five samples). Four (7%) of the samples were identified as Endangered species according to the IUCN Red List (IUCN, 2020), 9 (16%) as Vulnerable, 27 (47%) as Near Threatened, 6 (11%) as Least Concern, and 11 (19%) as Data Deficient (Figure 1).

Comprehensive analyses of these results, in conjunction with five other studies that applied the DNA barcoding method to identify the

elasmobranchs species in the Brazilian markets, reinforced a lack of pattern of this selling practice. In total, there were 43 different species sold under the 'caçãõ' name (Ramos et al., 2017; Almerón-Souza et al., 2018; Bunholi et al., 2018; Feitosa et al., 2018; Bernardo et al., 2020). Among 2,163 samples, 26 (1.20%) were classified as Critically Endangered by the IUCN Red List, 442 (20.44%) as Endangered, 109 (5.04%) as Vulnerable, 668 (30.88%) as Near Threatened, 271 (12.53%) as Least Concern, and 647 (29.91%) as Data Deficient (Figure 3).

4 | DISCUSSION

The forensic investigations into the trade of shark meat samples along the entire Brazilian coastline revealed a complex series of problems that are threatening the biodiversity of elasmobranchs. The lack of information related to shark meat commercialization acts as a smokescreen for the sale of the species at risk of extinction. The true status of many shark species is not known by the conservation authorities, and most consumers have no idea that they are consuming sharks.

4.1 | Shark commercialization in Brazil

There is no fixed pattern when selling shark meat under the 'caçãõ' name in Brazil. Virtually any elasmobranch species can be sold using this name. The ambiguity of the 'caçãõ' name is further exemplified in this study when an Actinopterygii fish (*X. gladius*) was being sold as 'caçãõ'. This investigation found 17 different species being sold as 'caçãõ'; taking into account other studies, this resulted in 43 different species of shark being included under the generic name. Rodrigues-Filho et al. (2009) identified at least 11 species by phylogenetic inferences of the 12S–16S molecular marker. Almost a decade later,

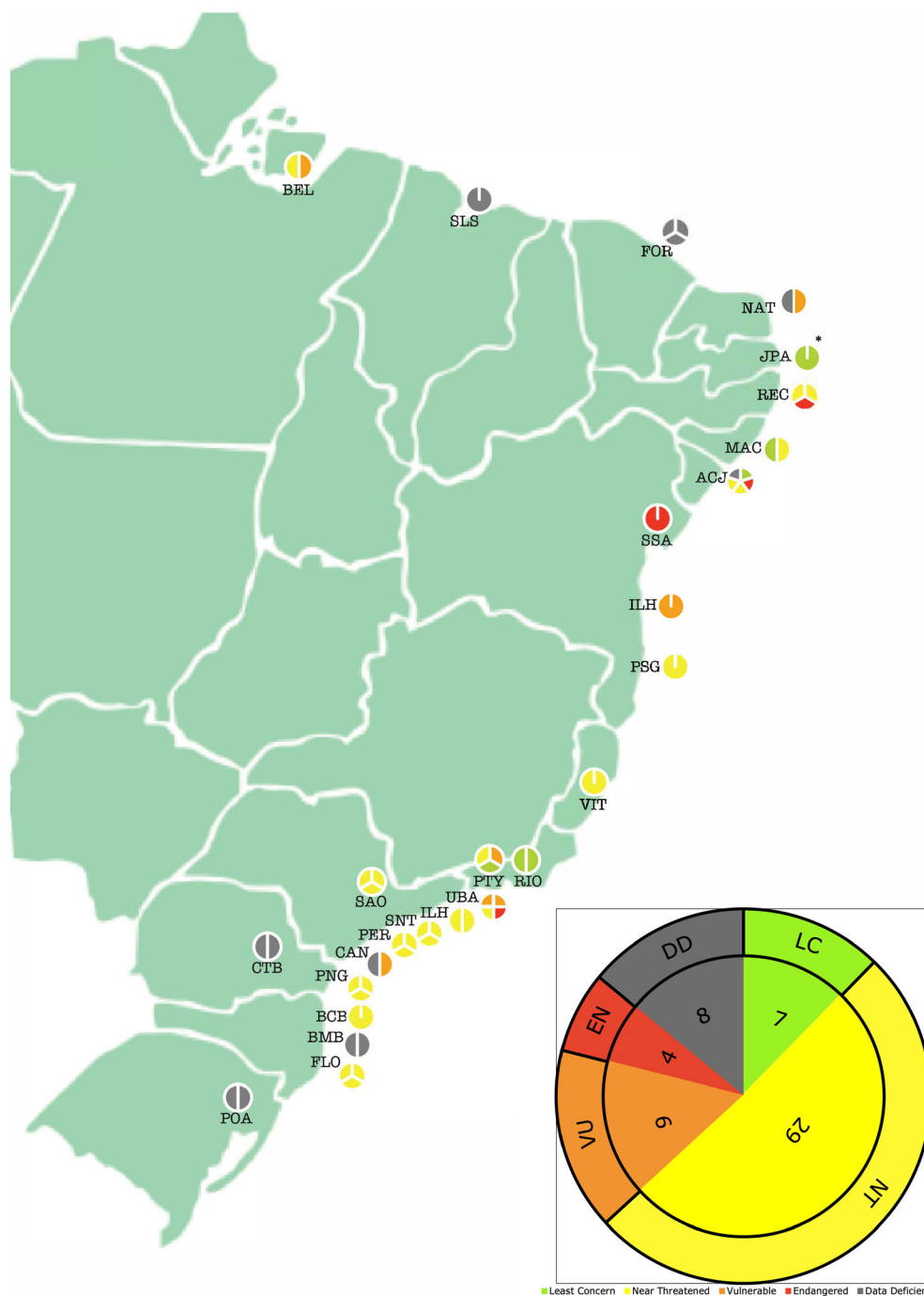


FIGURE 1 Data collection map, with the number of divisions of each chart equal to the number of samples at each location. The graphical representation of the total number of samples that were collected, with the size of the slice proportional to the quantity of the samples. The colouring is according to each IUCN Threatened Classification: green, Least Concern; yellow, Near Threatened; orange, Vulnerable; red, Endangered; Grey, Data Deficient (IUCN, 2020)

Feitosa et al. (2018) found 17 different fish species in the same region, by applying the COI DNA barcoding technique. Almerón-Souza et al. (2018) reported 20 different fish species that were purchased as ‘cação’ in the south of Brazil, and Bernardo et al. (2020) found 16 in Paraná State. Ramos et al. (2017) found 13 different species along Sao Paulo’s coastline, and Bunholi et al. (2018) found three angel shark species in the same state when surveying carcasses that were declared by fishermen and traders as ‘cação’. At the same time, Staffen et al. (2017) identified four different shark species in six ‘cação’ samples that were purchased in the fish markets of Florianopolis (state of Santa Catarina). In a survey of public

elementary school meals in a non-disclosed Brazilian town, Calegari, Reis & Alho (2019) reported the substitution of all shark samples for the cheaper striped catfish.

Although this investigation obtained fewer samples than other studies (Rodrigues-Filho et al., 2009; Ramos et al., 2017; Bunholi et al., 2018; Feitosa et al., 2018; Bernardo et al., 2020), it is important to note that it adopted a different sampling strategy to these previous studies, except for that of Almerón-Souza et al. (2018), who collected a similar number of samples. By posing as a general consumer, this avoided the sellers hiding samples that were obtained from the illegal, unreported, and unregulated fisheries. This study thus provides a

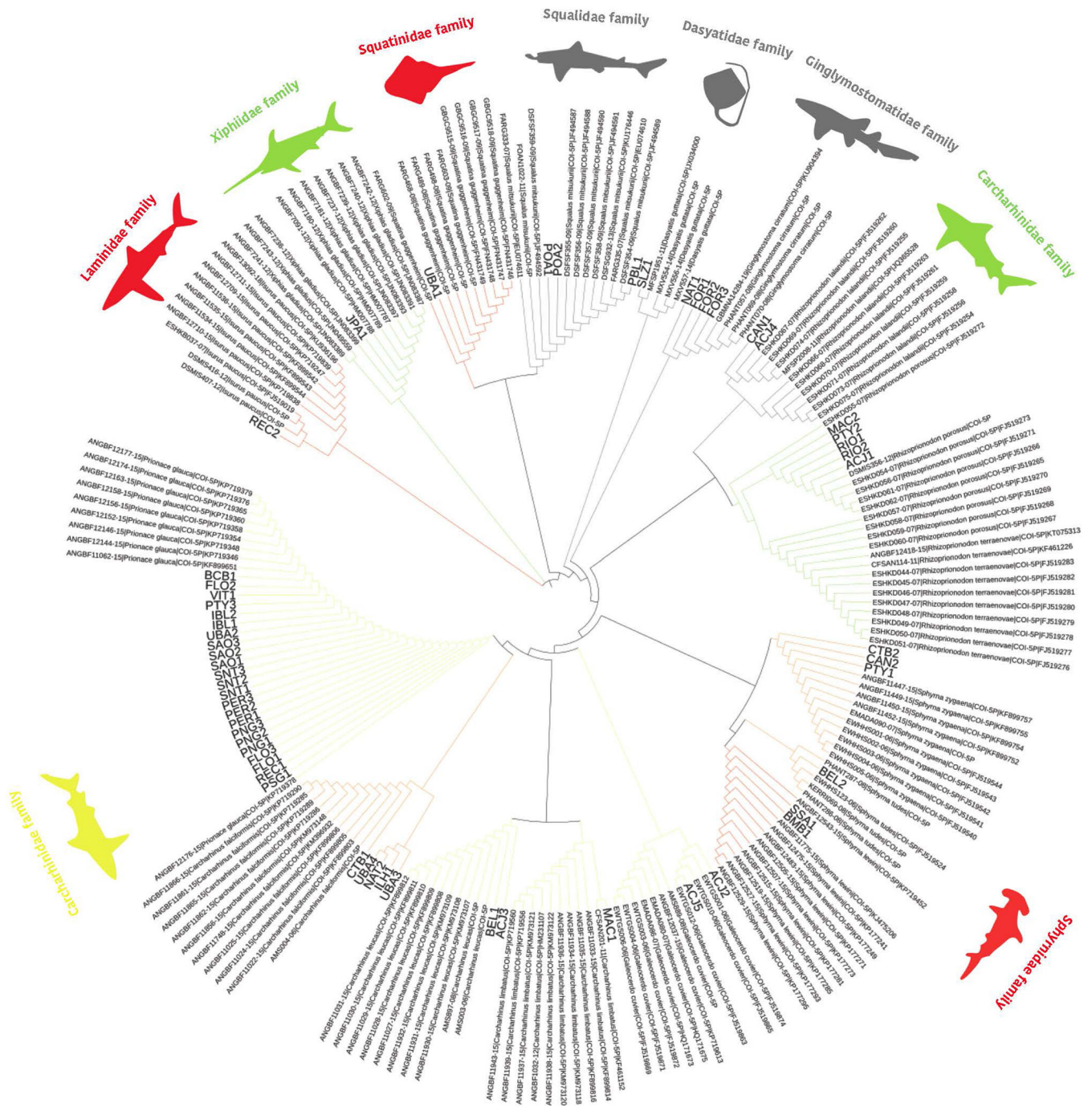


FIGURE 2 Neighbour-joining tree of the elasmobranch meat samples and the candidate species from the BOLD Database, separated by family. The colouring is according to each IUCN Threatened Classification: green: Least Concern; yellow: Near Threatened; orange: Vulnerable; red: Endangered; grey: Data Deficient (IUCN, 2020)

reliable picture of shark commercialization in Brazil, although the approach did not allow for the authors to obtain more than one sample from each fish stall.

The compilation of the various studies also revealed that some species are repeatedly traded. For example, *Prionace glauca*, *C. falciformis*, *Carcharhinus limbatus*, *Rhizoprionodon landalii*, *R. porosus*, *Sphyrna lewini*, *Sphyrna zygaena*, and *Squatina guggenheim* were all found in a majority of the surveys (Rodrigues-Filho et al., 2009;

Ramos et al., 2017; Almerón-Souza et al., 2018; Bunholi et al., 2018; Feitosa et al., 2018; Bernardo et al., 2020).

4.2 | The extensiveness of the cação name

The use of common names to describe various shark species has been a tradition around the world (Dent & Clarke, 2015), whereas some

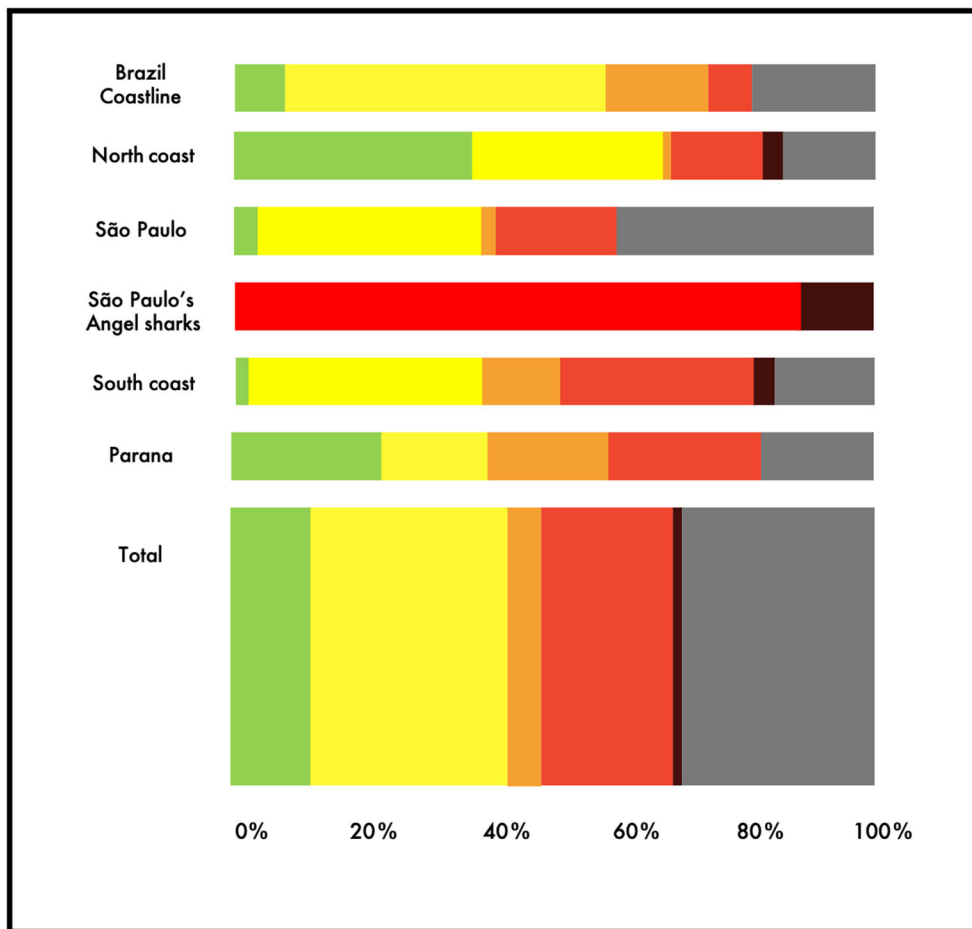


FIGURE 3 Graphic of the proportions of the 'cação' sampling studies, according to their vulnerability of extinction. The total shows a compilation of the six studies. The Brazil coastline, as in this study. The north coast was based on the study of Feitosa et al. (2018). São Paulo was based on the study of Ramos et al. (2017). São Paulo angel sharks was based on the study of Bunholi et al. (2018). The south coast was based on the study of Almerón-Souza et al. (2018). Paraná was based on the study of Bernardo et al. (2020). The colouring is according to each IUCN Threatened Classification: green: Least Concern; yellow: Near Threatened; orange: Vulnerable; red: Endangered; grey: Data Deficient (IUCN, 2020)

localities have used the simple word shark (or their respective translation) to commercialize several species. Some countries use different names, such as 'rock' or 'rock salmon' in the UK (Hobbs et al., 2019), 'cazón' in Mexico (Sarmiento-Camacho & Valdez-Moreno, 2018), 'tollo' in Peru (López de la Lama, De la Puente & Riveros, 2018), 'bolillo' in Costa Rica (O'Bryhim, Parsons & Lance, 2017), 'chiens de mer' in France, 'palombo' in Italy, and 'flake' in Australia (Vannuccini, 1999).

In Brazilian Portuguese, 'cação' is not etymologically similar to 'tubarão' (which means shark), nor 'elasmobrânquios' (elasmobranchs) or 'raias' (rays). The consumer does not associate 'cação' with sharks or rays. When Brazilian elasmobranch meat consumers were interviewed, 61% of the respondents who claimed to have eaten 'cação' answered that they had not tried shark meat or rays (Bornatowski et al., 2015).

The common practice of renaming sharks with more attractive titles was established to increase the acceptance of commercialization of these unpopular fishes, previously considered a low-quality product (Jacquet & Pauly, 2008). In truth, what occurs is a masking of the risk of contamination, due to the consumption of heavy metals (such as mercury), which sharks have a tendency to accumulate in their bodies (Penedo de Pinho et al., 2002). The retail of all shark species under the same name also undermines the environmental regulations (Jacquet & Pauly, 2008). The lack of such information can

potentially hide illegal activities, such as fisheries in marine protected areas (Luiz & Edwards, 2011; Giglio et al., 2018), the practice of shark finning (Ferrette et al., 2019), and catches exceeding the determined fishing quotas (Barreto et al., 2016).

4.3 | Shark meat markets threaten elasmobranchs in Brazil

One of the main threats of this selling practice is that one general name, with the possibility of being any species of fish, does not differentiate the species according to their vulnerability of extinction, with the result that various threatened species are being commercialized throughout Brazil's coastline. The current study identified 40 samples (70% of all samples), which fell under the IUCN Red List of Threatened Categories (IUCN, 2020), with nine Vulnerable, four Endangered, and 27 Near Threatened. Some 82% of the samples that were collected by Almerón-Souza et al. (2018) were classified as Near Threatened, or a higher category of extinction risk, 56% by Ramos et al. (2017), 59.7% by Bernardo et al. (2020), 48% by Feitosa et al. (2018), and 100% of the angel shark samples by Bunholi et al. (2018) (Figure 3).

Despite the high number of species at a risk of extinction being commercialized in Brazil, the legal framework to protect them is

considered inefficient (Barreto et al., 2017). In an attempt to conserve the species of elasmobranchs that are listed in the Brazil Red List of Threatened Species and to stop their commercialization, the Brazilian Ministry of the Environment invoked Ordinance 445 in 2014. Despite that, this ordinance was rescinded due to the strong pressure from the fishing industry (Barreto et al., 2017). Even during this ordinance, some species were still being sold while hidden behind the 'cação' name (Almerón-Souza et al., 2018; Bunholi et al., 2018; Feitosa et al., 2018). After the suspension of Ordinance 445, five species that would have been protected were freely purchased in this current investigation. Four of them were classified as Critically Endangered (*Sphyrna tudes*, *S. zygaena*, *S. lewini*, and *S. guggenheim*), and one was classified as Vulnerable (*Ginglymostoma cirratum*) (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018).

Furthermore, as a signatory to various international agreements, such as the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES), Brazil bears regulatory responsibilities. Currently, the country is ranked 11th in the list of producers and first in the list of importers of shark meat worldwide (FAO, 2020). The export and import of the species that were found in this study are listed in Appendix II of CITES (*C. falciformis*, *S. lewini*, *S. zygaena*, and *Isurus paucus*). This must be investigated further. The concern is justified by the fact that Brazil has not properly collected and informed the international agencies of its fishery statistics since 2007 (Barreto et al., 2017). In a related investigation, some species that are not found in Brazilian waters were discovered in Brazilian coastal markets (Bernardo et al., 2020).

An additional conservation threat is that using common names to describe various fish types is an impediment to the proper management of the fisheries. The size of the population is considered the most basic step for conservation planning, to ensure the viability of the populations (Stanton & Akçakaya, 2013). It is essential that the fishery management authorities know what species are being caught, together with their demographic structures, variability, distribution, connectivity, and dependencies (Gerber & González-Suárez, 2010). Such knowledge gaps mean many species are categorized as Data Deficient (Bland et al., 2015; IUCN, 2020), and this may hide the fact that some species may be at risk of extinction. Almost half (46%) of all of the chondrichthyan species are listed as Data Deficient by the IUCN (IUCN, 2020). This number (487 species) is one of the highest rates of Data Deficient of any animal taxon (Hoffmann et al., 2010). It has been estimated that 66 of the 487 species are likely threatened (Dulvy et al., 2014). In this current study, it was found that 19% of the market samples were of species classified as Data Deficient (IUCN, 2020).

4.4 | Conservation challenges

Complex circumstances act as barriers to conservation initiatives, which are required to mitigate shark threats (López de la Lama, De la Puente & Riveros, 2018). The preconceived general fear and negative view of sharks is a consequence of their occasional attacks on humans

(often exaggerated by the media). This limits the engagement of communities in conservation efforts. Consequently, no policy or governance response is demanded by society (Neff & Yang, 2013; Friedrich, Jefferson & Glegg, 2014; Garla et al., 2015).

Diverse habitat requirements, along with long life cycles and low reproduction rate, present a complex and sensitive management challenge. The persistence of threatened and endangered shark species will require a commitment to the prioritization of effective recovery plans (Dulvy et al., 2017). Based on the need for fishery management improvements, and the total number of species that are endangered, Brazil was named by Dulvy et al. (2017) as a top priority country for shark and ray conservation. Despite this, the Brazilian government has failed to report the official fishery statistics for over a decade, even though this information had been declared annually since 1950 (Freire & Pauly, 2015). As a result, the recovery plans and the targeted measures are already unattainable because without critical information, such as the location or the species composition of the catch, the development of effective conservation and fishery management measures becomes impossible (Escobar, 2015b).

Regardless of the complexity of the threats, Brazil urgently needs to address the fundamental problems, such as fishery statistical disinformation, coarse data resolution for rapidly assessing fish, illegal fin trading, mislabelling, bycatch, and an inefficient legal framework (Barreto et al., 2017). This collection of issues, the significant number of species requiring action, and the large geographical areas involved require a multitude of comprehensive actions to ensure a reasonable route to sustainable fisheries (Dulvy et al., 2017).

4.5 | Towards sustainable fisheries

South Atlantic shark populations are currently depleted, yet they are predicted to be capable of recovery, following a reduction of fishing (Barreto et al., 2016). A healthy ocean has immeasurable intrinsic values and provides numerous other economic and resource benefits (Barbier et al., 2011; Ruckelshaus et al., 2013). Brazil is heavily dependent on marine food sources (FAO, 2020). In terms of environmental, societal, and economic needs, no alternative option exists but to aim for the recovery of the shark and fishery populations in Brazil. The path to sustainable shark fishing is full of obstacles, but it must start with the restructuring of the fishery information systems (Barreto et al., 2017). In general, world regions that lack collated information on stock abundance have inadequate fishery management measures; consequently, their stocks are in a poor condition (Hilborn et al., 2020). In contrast, regions that are experiencing an increased stock abundance are fully committed to transparency in their data collection and information systems (Hilborn et al., 2020).

The Brazilian Constitution stipulates a precept to 'preserve and restore essential ecological processes and provide an ecological management of species and ecosystems' (Chamber of Deputies, 2010). Contrary to this clearly stated aim, a disregard for the environmental legal framework is prevalent in fishery management, which is frequently influenced by industry-based

lobbying interests (Ferrette et al., 2019). To counter this, strong and viable public policies, conservation plans, and fisheries management should be supported by strict laws; and most importantly, Ordinance No. 445 must be re-established.

The validity of the jurisdiction of Ordinance No. 445 is not in question. Even so, a clear understanding of the reasons that caused the failure of its implementation is urgently needed. As a region that is dominated by highly diverse and complex fisheries, the Brazilian waters face difficulties in the assessment of stocks (Hilborn et al., 2020), and the resultant findings of this study, although critical, are not surprising. This problem of commercializing the threatened shark meat under the 'caçãõ' name has been reported repeatedly for decades, but the practice has not changed in any way for the better (Gadig, Motta & Namora, 2002). Whenever the identity of a species is hidden, the industry, the sellers, and the fishers themselves are unable to contribute to the statistics. Likewise, public authorities are unable to inspect them.

As long as it is not practical to implement an inspectional and technological effort to protect the endangered species, other science-based and long-term management methods must be taken into consideration (Fiedler et al., 2017). A strict regulation of the fishing industry as a whole is an option (Anderson et al., 2019), and the creation of no-fishing zones that are exclusively designed to protect the sharks and rays has already been demonstrated as a promising strategy (Chapman et al., 2005; Brunnschweiler, 2010; Bond et al., 2017; MacKeracher, Diedrich & Simpfendorfer, 2019). Certifying and promoting sustainable fisheries may help the conservation of sharks (Jacquet & Pauly, 2008; Bornatowski et al., 2015). Other management tools can be used, such as establishing temporary fishery closures, to better account for the low reproduction rate of many shark species (Speed et al., 2010), and effective use of bycatch reduction devices (Favaro & Côté, 2015).

The authors restate the necessity of an enforced system for genuine and consistent labelling of products by the fishing industry and the sellers in general, with a primary and particular focus on these commercialized shark species. EU legislation may be the benchmark for seafood labelling. These EU regulations require that all tags must indicate the key elements through comprehensive labelling systems, such as the common name, the scientific name, the production method (farmed or wild), the harvest method (gear type or farming method), the geographic origin (region of the catch or the area of production), and the location of the last major transformation/processing procedure (European Parliament and Council of European Union, 2013).

Without proper identification, food fraud in the fish sector can hamper consumer choices (Pardo, Jiménez & Pérez-Villarreal, 2016). Nevertheless, the capacity for consumer choice is crucial, and it is likely to raise awareness of the importance of conserving multiple species and then pave the way in reconnecting consumers with the sharks (López de la Lama, De la Puente & Riveros, 2018). Currently, in Brazil, public action is lacking, yet informed consumers could play an important role in shark conservation, and their choice is arguably an inherent right of purchase (Carvalho et al., 2015). Based on the

global tendency of sustainable consumption, some consumers might avoid purchasing the threatened species, once they are conscious of the ecological impact of their choice (Guillen et al., 2019).

5 | CONCLUSION

Sharks have been consumed in Brazil since the pre-colonization period (Lopes et al., 2016). The country has established itself as a central player in the consumption, import, and export of shark products. More importantly, overfishing, undifferentiated commercialized species, and the lack of proper management and information have placed Brazilian sharks at a significant risk. When considering the importance of shark meat to Brazilians, their consumption does not necessarily need to be banned; on the contrary, a systematic change in fishery management can rebuild the overexploited stocks (Barreto et al., 2016; Hilborn et al., 2020). Public actions towards long-term population persistence should be implemented. This can only be possible with a substantial knowledge of the species that are caught, a primary conclusion demonstrated by this study. In conjunction with this, science-based technologies that are applied to proper identification, to avoid the consumption of threatened species, must be enacted. In conclusion, species-specific management plans must be applied, along with population monitoring, and educational programmes provided, for educating consumer awareness. The effectiveness of an improved fish stock status combined with didactic campaigns, highlighting the species that are at risk of extinction, should positively impact the understanding of consumers and counteract the pressures as presented by the fishing industry.

ACKNOWLEDGEMENTS

Concerning the Belem samples (BEL), we would like to express our sincere gratitude to Rafael Kretschmer and Michelly Santos for their help and their support. We would also like to thank Dr Thomas Sauvage, Katharine Catelotti, Gabriela Fontana, and Victória Muccillo for their comments, which notably improved the manuscript. We are grateful to the two anonymous peer reviewers for their constructive comments. This work was supported by the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), the Brazilian Agency of the Coordination for Improvement of Higher Education Personnel (CAPES); the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), and the Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS).

COMPETING INTERESTS

The authors declare that there are no competing interests.


DATA ARCHIVING

The sequences were deposited in GenBank under accession numbers MW465122–MW465178. The BOLD identification of the specimens used in the neighbour-joining tree are indicated in Figure 2, and the sequences can be assessed by using the 'Public Data Portal' of

the BOLD Systems. The data sets that were generated during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request. All of the data that were generated or analysed during this study are included in this published article. Readers are welcome to comment on the online version of the paper.

ORCID

Marcelo Merten Cruz  <https://orcid.org/0000-0001-8374-5144>

Thales R. Ochotorena de Freitas  <https://orcid.org/0000-0002-1019-9303>

REFERENCES

- Alison, S., Ruddell, L., Griffiths, A. & Buckley, M. (2018). *Abstract book—Sharks international conference*. João Pessoa: Editora UFPB. 2018. 468 pp. ISBN:978-85-237-1396-6.
- Almerón-Souza, F., Sperb, C., Castilho, C.L., Figueiredo, P.I.C.C., Gonçalves, L.T., Machado, R. 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*, 9, 138. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00138>
- Anderson, C.M., Krigbaum, M.J., Arostegui, M.C., Feddern, M.L., Koehn, J. Z., Kuriyama, P.T. et al. (2019). How commercial fishing effort is managed. *Fish and Fisheries*, 20(2), 268–285. <https://doi.org/10.1111/faf.12339>
- Anticamara, J.A., Watson, R., Gelchu, A. & Pauly, D. (2011). Global fishing effort (1950–2010): Trends, gaps, and implications. *Fisheries Research*, 107(1–3), 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2010.10.016>
- Barbier, E., Hacker, S., Kennedy, C., Koch, E., Stier, A. & Silliman, B. (2011). The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological Monographs*, 81(2), 169–193. <https://doi.org/10.1890/10-1510.1>
- Barreto, R., Bornatowski, H., Motta, F., Santander-Neto, J., Vianna, G. & Lessa, R. (2017). Rethinking use and trade of pelagic sharks from Brazil. *Marine Policy*, 85, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.08.016>
- Barreto, R., Ferretti, F., Flemming, J.M., Amorim, A., Andrade, H., Worm, B. et al. (2016). Trends in the exploitation of South Atlantic shark populations. *Conservation Biology*, 30(4), 792–804. <https://doi.org/10.1111/cobi.12663>
- Baum, J.K. & Worm, B. (2009). Cascading top-down effects of changing oceanic predator abundances. *Journal of Animal Ecology*, 78(4), 699–714. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2009.01531.x>
- Bernardo, C., Corrêa de Lima, A., Paes da Cruz, V., Foresti, F., Loose, R. & Bornatowski, H. (2020). The label “cação” is a shark or a ray and can be a threatened species! Elasmobranch trade in southern Brazil unveiled by DNA barcoding. *Marine Policy*, 116, 103920. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2020.103920>
- Bland, L.M., Collen, B., Orme, C.D. & Bielby, J. (2015). Predicting the conservation status of data-deficient species. *Conservation Biology*, 29(1), 250–259. <https://doi.org/10.1111/cobi.12372>
- Bond, M.E., Valentin-Albanese, J., Babcock, E.A., Abercrombie, D., Lamb, N.F., Miranda, A. et al. (2017). Abundance and size structure of a reef shark population within a marine reserve has remained stable for more than a decade. *Marine Ecology Progress Series*, 576, 1–10. <https://doi.org/10.3354/meps12241>
- Bornatowski, H., Braga, R., Kalinowski, C. & Vitule, J. (2015). “Buying a pig in a poke”: The problem of elasmobranch meat consumption in southern Brazil. *Ethnobiology Letters*, 6(1), 196–202. <https://doi.org/10.14237/eb1.6.1.2015.451>
- Bornatowski, H., Braga, R. & Vitule, J. (2013). Shark mislabeling threatens biodiversity. *Science*, 340(6135), 923. <https://doi.org/10.1126/science.340.6135.923-a>
- Bornatowski, H., Braga, R.R. & Barreto, R.P. (2018). Elasmobranchs consumption in Brazil: Impacts and consequences. In: M.R. Rossi-Santos, C.W. Finkl (Eds.) *Advances in marine vertebrate research in Latin America: Coastal Research Library*, 22 pp. 251–262. https://doi.org/10.1007/978-3-319-56985-7_10
- Ministra de Estado do Meio Ambiente. (2014). Portaria MMA nº 445, de 17 de Dezembro de 2014. Available at: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao-ARQUIVO/00-saiba-mais/05_-PORTARIA_MMA_N%C2%BA_445_DE_17_DE_DEZ_DE_2014.pdf [Accessed 24 October 2019]
- Chamber of Deputies. (2010). *Constitution of the Federative Republic of Brazil: Constitutional text of October 5, 1988, with the alterations introduced by constitutional amendments no. 1/1992 through 64/2010 and by revision constitutional amendments no. 1/1994 through 6/1994*, 3rd edition. Brasília, Brazil: Chamber of Deputies, Documentation and Information Center. ISBN:978-85-736-5736-4.
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (2018). *Peixes*, Vol. VII Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília, Brazil: ICMBio.
- Brunnschweiler, J.M. (2010). The Shark Reef Marine Reserve: A marine tourism project in Fiji involving local communities. *Journal of Sustainable Tourism*, 18(1), 29–42. <https://doi.org/10.1080/09669580903071987>
- Bunholi, I.V., Ferrette, B.L.S., De Biasi, J., Magalhães, C.O., Rotundo, M.M., Oliveira, C. et al. (2018). The fishing and illegal trade of the angelshark: DNA barcoding against misleading identifications. *Fisheries Research*, 206, 193–197. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2018.05.018>
- Calegari, B.B., Reis, R.E. & Alho, C.S. (2019). DNA barcode identification of shark fillet reveals fraudulent commerce in Brazil. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 52(2), 95–100. <https://doi.org/10.1080/00085030.2019.1581692>
- Camhi, M., Fowler, S., Musick, J., Bräutigam, A. & Fordham, S. (1998). *Sharks and their relatives: Ecology and conservation*. Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission No. 20. pp. 39
- Carvalho, D.C., Palhares, R.M., Drummond, M.G. & Frigo, T.B. (2015). DNA barcoding identification of commercialized seafood in South Brazil: A governmental regulatory forensic program. *Food Control*, 50, 784–788. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2014.10.025>
- Chapman, D.D., Pikitch, E.K., Babcock, E. & Shivji, M.S. (2005). Marine reserve design and evaluation using automated acoustic telemetry: A case-study involving coral reef-associated sharks in the Mesoamerican Caribbean. *Marine Technology Society Journal*, 39(1), 42–55. <https://doi.org/10.4031/002533205787521640>
- Clarke, S.C., Magnussen, J.E., Abercrombie, D.L., McAllister, M.K. & Shivji, M.S. (2006a). Identification of shark species composition and proportion in the Hong Kong shark fin market based on molecular genetics and trade records. *Conservation Biology*, 20(1), 201–211. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00247.x>
- Clarke, S.C., McAllister, M.K., Milner-Gulland, E.J., Kirkwood, G.P., Michielsens, C.G.J., Agnew, D.J. et al. (2006b). Global estimates of shark catches using trade records from commercial markets. *Ecology Letters*, 9(10), 1115–1126. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00968.x>
- 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, Italy: FAO.
- Costello, C., Cao, L., Gelcich, S., Cisneros-Mata, M.Á., Free, C.M., Froehlich, H.E. et al. (2020). The future of food from the sea. *Nature*, 588(7836), 95–100. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2616-y>
- Dent, F. & Clarke, S. (2015). *State of the global market for shark products, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 590*. Rome, Italy: FAO.
- Doukakis, P., Hanner, R., Shivji, M., Bartholomew, C., Chapman, D., Wong, E. et al. (2011). Applying genetic techniques to study remote

- shark fisheries in northeastern Madagascar. *Mitochondrial DNA*, 22(Suppl 1), 15–20. <https://doi.org/10.3109/19401736.2010.526112>
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), 11–15.
- Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A., Cavanagh, R.D., Kyne, P.M., Harrison, L.R. et al. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife*, 3, e00590. <https://doi.org/10.7554/eLife.00590>
- Dulvy, N.K., Simpfendorfer, C.A., Davidson, L.N.K., Fordham, S.V., Bräutigam, A., Sant, G. et al. (2017). Challenges and priorities in shark and ray conservation. *Current Biology*, 27(11), 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.04.038>
- Edgar, R.C. (2004). MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Eriksson, H. & Clarke, S. (2015). Chinese market responses to overexploitation of sharks and sea cucumbers. *Biological Conservation*, 184(April), 163–173. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2015.01.018>
- Escobar, H. (2015a). Juiz anula lista de peixes ameaçados de extinção no Brasil. O Estado de São Paulo. Available at: <https://ciencia.estadao.com.br/blogs/herton-escobar/juiz-suspende-lista-de-peixes-ameacados/> [Accessed 19 January 2020]
- Escobar, H. (2015b). Quanto se pesca no Brasil? Ninguém sabe. O Estado de São Paulo. Available at: <https://ciencia.estadao.com.br/blogs/herton-escobar/quanto-se-pesca-no-brasil-ninguem-sabe/> [Accessed 15 December 2019]
- European Parliament and Council of the European Union. (2013). Regulation (EU) No. 1379/2013 of the Parliament and Council of the European Union of 11 December 2013 on the common organisation of the markets in fishery and aquaculture products. *Official Journal of the European Union: Legislation*, L 354, 1–21.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). *The state of world fisheries and aquaculture 2012*. Rome, Italy: FAO.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). *The state of world fisheries and aquaculture 2016: Contributing to food security and nutrition for all*. Rome, Italy: FAO.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). *The state of world fisheries and aquaculture 2018: Meeting the sustainable development goals*. Rome, Italy: FAO.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action*. Rome, Italy: FAO.
- Favaro, B. & Côté, I.M. (2015). Do by-catch reduction devices in longline fisheries reduce the capture of sharks and rays? A global meta-analysis. *Fish and Fisheries*, 16(2), 300–309. <https://doi.org/10.1111/faf.12055>
- Feitosa, L.M., Martins, A.P.B., Giarrizzo, T., Macedo, W., Monteiro, I.L., Gemaque, R. et al. (2018). DNA-based identification reveals illegal trade of threatened shark species in a global elasmobranch conservation hotspot. *Scientific Reports*, 8(1), 3347. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21683-5>
- Ferrette, B.L., Domingues, R.R., Ussami, L.H.F., Moraes, L., de Oliveira Magalhães, C., de Amorim, A.F. et al. (2019). DNA-based species identification of shark finning seizures in Southwest Atlantic: Implications for wildlife trade surveillance and law enforcement. *Biodiversity and Conservation*, 28(14), 4007–4025. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01862-0>
- 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(8), 1055–1071. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01489.x>
- Fiedler, F.N., Port, D., Giffoni, B.B., Sales, G. & Fisch, F. (2017). Pelagic longline fisheries in southeastern/south Brazil. Who cares about the law? *Marine Policy*, 77, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2016.12.011>
- Fox, M., Mitchell, M., Dean, M., Elliott, C. & Campbell, K. (2018). The seafood supply chain from a fraudulent perspective. *Food Security*, 10, 939–963. <https://doi.org/10.1007/s12571-018-0826-z>
- Freire, K. & Pauly, D. (2015). Fisheries catch reconstructions for Brazil's mainland and oceanic islands. Fisheries Centre Research Reports, Vol. 23, No. 4. University of British Columbia, Fisheries Centre: Vancouver, BC, Canada. <https://doi.org/10.14288/1.0354313>
- Friedrich, L., Jefferson, R. & Glegg, G. (2014). Public perceptions of sharks: Gathering support for shark conservation. *Marine Policy*, 47(C), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2014.02.003>
- Gadig, O.B.F., Motta, F.S. & Namora, R.C. (2002). Duarte, P. Proceedings of the International Conference on Sustainable Management of Coastal Ecosystems. Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 1, 239–246. <https://doi.org/10.13140/2.1.2909.6641>
- Gallagher, A.J., Orbesen, E.S., Hammerschlag, N. & Serafy, J.E. (2014). Vulnerability of oceanic sharks as pelagic longline bycatch. *Global Ecology and Conservation*, 1, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2014.06.003>
- García, V.B., Lucifora, L.O. & Myers, R.A. (2008). The importance of habitat and life history to extinction risk in sharks, skates, rays and chimaeras. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 275(1630), 83–89. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1295>
- Garla, R.C., Freitas, R.H., Calado, J.F., Paterno, G.B. & Carvalho, A.R. (2015). Public awareness of the economic potential and threats to sharks of a tropical oceanic archipelago in the western South Atlantic. *Marine Policy*, 60, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2015.06.012>
- Gerber, L. & González-Suárez, M. (2010). Population viability analysis: Origins and contributions. *Nature Education Knowledge*, 3(10), 15.
- Giglio, V.J., Pinheiro, H.T., Bender, M.G., Bonaldo, R.M., Costa-Lotufo, L.V., Ferreira, C.E. et al. (2018). Large and remote marine protected areas in the South Atlantic Ocean are flawed and raise concerns: Comments on Soares and Lucas (2018). *Marine Policy*, 96, 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.07.017>
- Gilman, E., Chaloupka, M., Swimmer, Y. & Piovano, S. (2016). A cross-taxa assessment of pelagic longline by-catch mitigation measures: Conflicts and mutual benefits to elasmobranchs. *Fish and Fisheries*, 17(3), 748–784. <https://doi.org/10.1111/faf.12143>
- Guillen, J., Natale, F., Carvalho, N., Casey, J., Hofherr, J., Druon, J.N. et al. (2019). Global seafood consumption footprint. *Ambio*, 48(2), 111–122. <https://doi.org/10.1007/s13280-018-1060-9>
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & deWaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- 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(11), 1039–1050. <https://doi.org/10.1071/MF12024>
- Heupel, M., Knip, D., Simpfendorfer, C. & Dulvy, N. (2014). Sizing up the ecological role of sharks as predators. *Marine Ecology Progress Series*, 495, 291–298. <https://doi.org/10.3354/meps10597>
- Hilborn, R., Amoroso, R.O., Anderson, C.M., Baum, J.K., Branch, T.A., Costello, C. et al. (2020). Effective fisheries management instrumental in improving fish stock status. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(4), 2218–2224. <https://doi.org/10.1073/pnas.1909726116>
- Hobbs, C.A.D., Potts, R.W.A., Bjerregaard Walsh, M., Usher, J. & Griffiths, A.M. (2019). Using DNA barcoding to investigate patterns of species utilisation in UK shark products reveals threatened species on sale. *Scientific Reports*, 9(1), 1028. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38270-3>

- Hoening, J.M. & Gruber, S.H. (1990). Life-history patterns in the elasmobranchs: Implications for fisheries management. In: H.L. Pratt Jr., S.H. Gruber, T. Taniuchi (Eds.) *Elasmobranchs as living resources: Advances in the biology, ecology, systematics, and the status of fisheries*, NOAA Technical Report NMFS 90. Springfield, VA: US Department of Commerce, pp. 1–16.
- Hoffmann, M., Hilton-Taylor, C., Angulo, A., Böhm, M., Brooks, T.M., Butchart, S.H.M. et al. (2010). The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*, 330(6010), 1503–1509. <https://doi.org/10.1126/science.1194442>
- Holmes, B.H., Steinke, D. & Ward, R.D. (2009). Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research*, 95(2–3), 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2008.09.036>
- International Union for Conservation of Nature. (2020). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-2. Available at: from <https://www.iucnredlist.org/a> [Accessed 21 November 2020]
- Jabado, R.W., Al Ghais, S.M., Hamza, W., Henderson, A.C., Spaet, J.L.Y., Shivji, M.S. et al. (2015). The trade in sharks and their products in the United Arab Emirates. *Biological Conservation*, 181, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.10.032>
- Jacquet, J.L. & Pauly, D. (2008). Trade secrets: Renaming and mislabeling of seafood. *Marine Policy*, 32(3), 309–318. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2007.06.007>
- Kolmann, M.A., Elbassoumy, A.A., Liverpool, E.A. & Lovejoy, N.R. (2017). DNA barcoding reveals the diversity of sharks in Guyana coastal markets. *Neotropical Ichthyology*, 15(4), 1700–1707. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170097>
- Krishna, K.P. & Francis, R.A. (2012). A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. *Biodiversity and Conservation*, 21(8), 1901–1919. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0306-2>
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Liu, S.-Y.V., Chan, C.-L.C., Lin, O., Hu, C.-S. & Chen, C.A. (2013). DNA barcoding of shark meats identify species composition and CITES-listed species from the markets in Taiwan. *PLoS ONE*, 8(11), e79373. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079373>
- Logan, C.A., Alter, S.E., Haupt, A.J., Tomalty, K. & Palumbi, S.R. (2008). An impediment to consumer choice: Overfished species are sold as Pacific red snappers. *Biological Conservation*, 141(6), 1591–1599. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.04.007>
- Lopes, M.S., Bertucci, T.C., Rapagnã, L., Tubino, R., Monteiro-Neto, C., Tomas, A.R. et al. (2016). The path towards endangered species: prehistoric fisheries in southeastern Brazil. *PLoS ONE*, 11(6), e0154476. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154476>
- López de la Lama, R., De la Puente, S. & Riveros, J.C. (2018). Attitudes and misconceptions towards sharks and shark meat consumption along the Peruvian coast. *PLoS ONE*, 13(8), e0202971. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202971>
- Luiz, O.J. & Edwards, A.J. (2011). Extinction of a shark population in the Archipelago of Saint Paul's Rocks (equatorial Atlantic) inferred from the historical record. *Biological Conservation*, 144(12), 2873–2881. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.08.004>
- MacKeracher, T., Diedrich, A. & Simpfendorfer, C.A. (2019). Sharks, rays and marine protected areas: A critical evaluation of current perspectives. *Fish and Fisheries*, 20(2), 255–267. <https://doi.org/10.1111/faf.12337>
- Molina, J.M. & Cooke, S.J. (2012). Trends in shark bycatch research: Current status and research needs. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 22, 719–737. <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9269-3>
- 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(5820), 1846–1850. <https://doi.org/10.1126/science.1138657>
- Navia, A.F., Mejía-Falla, P.A., López-García, J., Giraldo, A. & Cruz-Escalona, V.H. (2017). How many trophic roles can elasmobranchs play in a marine tropical network? *Marine and Freshwater Research*, 68(7), 1342–1353. <https://doi.org/10.1071/MF16161>
- Neff, C.L. & Yang, J.Y. (2013). Shark bites and public attitudes: Policy implications from the first before and after shark bite survey. *Marine Policy*, 38, 545–547. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2012.06.017>
- O'Bryhim, J.R., Parsons, E.C.M. & Lance, S.L. (2017). Forensic species identification of elasmobranch products sold in Costa Rican markets. *Fisheries Research*, 186(Part 1), 144–150. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2016.08.020>
- Ovenden, J.R., Berry, O., Welch, D.J., Buckworth, R.C. & Dichmont, C.M. (2015). Ocean's eleven: A critical evaluation of the role of population, evolutionary and molecular genetics in the management of wild fisheries. *Fish and Fisheries*, 16(1), 125–159. <https://doi.org/10.1111/faf.12052>
- Pardo, M.Á., Jiménez, E. & Pérez-Villarreal, B. (2016). Misdescription incidents in seafood sector. *Food Control*, 62, 277–283. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.048>
- Penedo de Pinho, A., Davée Guimarães, J.R., Martins, A.S., Costa, P.A., Olavo, G. & Valentin, J. (2002). Total mercury in muscle tissue of five shark species from Brazilian offshore waters: Effects of feeding habit, sex, and length. *Environmental Research*, 89(3), 250–258. <https://doi.org/10.1006/enrs.2002.4365>
- Ramos, M., Prado, F., Foresti, F. & Porto-Foresti, F. (2017). Forensic identification by DNA barcode technique of shark species commercially exploited by the fishing fleets of the coast of Sao Paulo, Brazil. *Aquaculture*, 472(Suppl 1), 144.
- Reilly, A. (2018). *Overview of food fraud in the fisheries sector*, Fisheries and Aquaculture Circular No. C1165. Rome, Italy: FAO.
- Rodrigues-Filho, L.F., Tainá, C., Schneider, H., Sampaio, I. & Vallinoto, M. (2009). Identification and phylogenetic inferences on stocks of sharks affected by the fishing industry off the northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 32(2), 405–413. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000039>
- Rosa, R., Rummer, J.L. & Munday, P.L. (2017). Biological responses of sharks to ocean acidification. *Biology Letters*, 13(3), 20160796. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2016.0796>
- Ruckelshaus, M., Doney, S.C., Galindo, H.M., Barry, J.P., Chan, F., Duffy, J. E. et al. (2013). Securing ocean benefits for society in the face of climate change. *Marine Policy*, 40, 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2013.01.009>
- Sarmiento-Camacho, S. & Valdez-Moreno, M. (2018). DNA barcode identification of commercial fish sold in Mexican markets. *Genome*, 61(6), 457–466. <https://doi.org/10.1139/gen-2017-0222>
- Scherrer, K. & Galbraith, E. (2020). Regulation strength and technology creep play key roles in global long-term projections of wild capture fisheries. *ICES Journal of Marine Science*, 77(7–8), 2518–2528. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa109>
- Sembiring, A., Pertiwi, N.P.D., Mahardini, A., Wulandari, R., Kurniasih, E.M., Kuncoro, A.W. et al. (2015). DNA barcoding reveals targeted fisheries for endangered sharks in Indonesia. *Fisheries Research*, 164, 130–134. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2014.11.003>
- Speed, C.W., Field, I.C., Meekan, M.G. & Bradshaw, C.J. (2010). Complexities of coastal shark movements and their implications for management. *Marine Ecology Progress Series*, 408, 275–293. <https://doi.org/10.3354/meps08581>
- Staffen, C.F., Staffen, M.D., Becker, M.L., Lofgren, S.E., Muniz, Y.C.N. et al. (2017). DNA barcoding reveals the mislabeling of fish in a popular tourist destination in Brazil. *PeerJ*, 5(11), e4006. <https://doi.org/10.7717/peerj.4006>
- Stanton, J. & Akçakaya, H.R. (2013). Conservation planning to ensure the viability of populations and metapopulations. In: L. Craighead, C.

- Convis (Eds.) *Conservation planning: Shaping the future*. Redlands, CA: ESRI Press. ISBN:978-1-58948-263-0.
- Steinke, D., Bernard, A.M., Horn, R.L., Hilton, P., Hanner, R. & Shivji, M.S. (2017). DNA analysis of traded shark fins and mobulid gill plates reveals a high proportion of species of conservation concern. *Scientific Reports*, 7(1), 9505. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10123-5>
- Steneck, R.S. & Pauly, D. (2019). Fishing through the Anthropocene. *Current Biology: CB*, 29(19), R987–R992. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.07.081>
- Stevens, J., Bonfil, R., Dulvy, N.K. & Walker, P.A. (2000). The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57(3), 476–494. <https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0724>
- Vannuccini, S. (1999). *Shark utilization, marketing, and trade*, FAO Fisheries Technical Paper 389. Rome, Italy: FAO.
- Velez-Zuazo, X., Alfaro-Shigueto, J., Mangel, J., Papa, R. & Agnarsson, I. (2015). What barcode sequencing reveals about the shark fishery in Peru. *Fisheries Research*, 161, 34–41. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2014.06.005>
- Ward, R.D., Zemplak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R. & Hebert, P.D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2005.1716>
- Worm, B., Davis, B., Kettener, L., Ward-Paige, C.A., Chapman, D., Heithaus, M.R. et al. (2013). Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks. *Marine Policy*, 40(1), 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2012.12.034>

How to cite this article: Merten Cruz, M., Szyrwelski, B.E. & Ochotorena de Freitas, T.R. (2021). Biodiversity on sale: The shark meat market threatens elasmobranchs in Brazil. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 1–14. <https://doi.org/10.1002/aqc.3710>

Considerações Finais

Discussão Geral:

Na presente tese é discutida a aplicabilidade dos métodos DNA *Barcoding* e *Metabarcoding* para a conservação da biodiversidade.

Abordagens genéticas são comumente utilizadas com o intuito de preservar populações naturais, sendo que a identificação molecular de espécies é uma das aplicações mais difundidas na área da “Genética da Conservação” (Frankham et al., 2010). Desta forma, marcadores moleculares são empregados tanto como ferramenta forense, mas também para compreensão de aspectos da biodiversidade importantes à conservação (Arif et al., 2011).

O marcador molecular padrão para resoluções taxonômicas ao se tratar de elasmobrânquios é o gene citocromo C oxidase I (Collins et al., 2019). Isso se dá ao fato de a região ser altamente conservada ao modo que indivíduos evolutivamente próximos possuem sequências similares; ainda, possui variabilidade a ponto de ser diferenciável entre espécies (Hebert et al., 2003; Ward et al., 2005), além de possuir um extenso banco de dados de referência (BOLD; Barcode of Life Database; Ratnasingham e Hebert 2007).

O gene COI é adotado para investigações forenses de tubarões e raias desde 2009, quando foi investigado o comércio de barbatanas na Austrália (Holmes et al., 2009). No Brasil, a metodologia já foi aplicada em diferentes regiões para elucidar as espécies que podem ser comercializadas através do nome inespecífico de “cação” (Ramos et al., 2017; Almerón-Souza et al., 2018; Bunholi et al., 2018; Feitosa et al., 2018; Bernardo et al., 2020). Os resultados obtidos nas inspeções anteriores foram compilados na presente tese.

Além da aplicabilidade forense, o DNA *Barcoding* permite a caracterização da biodiversidade, ao identificar espécimes coletadas em determinadas regiões. A estratégia molecular vem, ao longo das recentes décadas, auxiliando taxonomistas a classificar espécies de forma mais eficaz do que em métodos morfológicos (Tautz et al., 2002; 2003). Ao se tratar de conservação, a metodologia possibilita a identificação de novas espécies, e aponta as mais dominantes e as ameaçadas em extinção presentes nas localidades estudadas (Frankham et al., 2010).

Ademais, o sequenciamento das amostras coletadas pode elucidar métricas indicativas da diversidade biológica. Por exemplo, ao catalogar as sequências COI de uma área, o modelo de Kimura 2 parâmetros (K2P) diferencia sequências através de suas transições e transversões (Kimura, 1980). De forma geral, quanto maior a diversidade do local, maior será a distância genética média entre as sequências computadas. O modelo já foi estimado para peixes em ilhas como Austrália (Ward et al., 2005); Ilhas Antárticas (Rock et al., 2008); Japão (Zhang e Hanner, 2011); Ilha Lizard (Steinke et al., 2017); Taiwan (Bingpeng et al., 2018); e Ilhas Dongsha (Xu et al., 2019). Os resultados encontrados na presente tese indicam que os peixes do Arquipélago de São Pedro e São Paulo possuem uma distância K2P elevada.

Devido ao indicativo de diversidade, a tese aponta como perspectiva de monitoramento avançar tecnologicamente do *Barcoding* para o *Metabarcoding*, técnica revolucionária em que traços genéticos são extraídos a partir de amostras ambientais (Taberlet et al., 2018). Por se tratar de moléculas de DNA expelidas por organismos no ambiente, é natural que o material genético esteja altamente fragmentado (Thomsen e Willerslev, 2015). Sendo assim, é desafiador obter sequências COI (> 650 pares de bases) de fontes ambientais (Meusnier et al., 2008). As análises de *Metabarcoding* dependem de regiões de DNA mais curtas (geralmente <300 pb) do que as regiões de DNA *Barcoding* tradicionalmente definidas (Yu et al., 2012; Clarke et al., 2014; Thomsen e Willerslev, 2015). A tese explora a alternativa de se valer de uma região do gene COI de 262 pb altamente conservada para peixes visando estudos com *Metabarcoding*.

Outro desafio ao uso de material genético fragmentado é que as técnicas de extração, amplificação e sequenciamento devem ter sensibilidade avançada. Tal performance é atualmente possível devido aos sequenciadores de nova geração (Zhang et al., 2011; Reuter et al., 2015). Entretanto, o custo para executar monitoramentos via *Metabarcoding* é elevado. Apesar disso, a abordagem provou ser uma ferramenta eficiente para o monitoramento marinho e avaliação da saúde do ecossistema (Thomsen et al., 2012; Kelly et al., 2014; Leray e Knowlton, 2015)

No caso dos elasmobrânquios, além de fornecer informações importantes sobre a diversidade de tubarões e raias ao redor do mundo, estudos de

Metabarcoding têm ajudado a responder a várias questões genéticas e ecológicas. já foi utilizada para caracterizar a biodiversidade de elasmobrânquios no Japão (Miya et al., 2015), Nova Caledônia e Caribe (Bakker et al., 2017; Boussarie et al., 2018), Reino Unido (Collins et al., 2019); Ilhas Cocos (Keeling) (West et al., 2020); França e Espanha (Fraija-Fernández et al., 2020); Ilha Reunião (Mariani et al., 2021); Singapura (Ip 11 et al., 2021); Indonésia (Marwayana et al., 2021) e Estados Unidos (Monuki et al., 2021).

A presente tese verifica em um estudo de caso as possibilidades e limitações de um uso economicamente acessível da ferramenta. O estudo apontou que de fato ainda existem barreiras a serem contornadas, sobretudo no que tange a intensificação de estratégias de amostragem e sequenciamento. Entretanto a técnica se mostrou válida e informativa para estudos com elasmobrânquios mesmo com um número amostral enxuto.

Conclusão:

Neste estudo foram demonstradas três aplicações práticas das técnicas de *Barcoding* e *Metabarcoding*. As ferramentas se mostraram efetivas e valiosas para serem usadas na conservação marinha, sobretudo no que tange tubarões e raias. Os elasmobrânquios representam, através da sobre-pesca e dos impactos das mudanças climáticas, indicadores dos distúrbios causados por humanos. Neste caso, o emprego de marcadores moleculares para identificação de espécies mostrou-se um importante método de monitoramento da biodiversidade.

No capítulo I é demonstrado que a técnica de DNA *Barcoding* pode ser utilizada para elucidar um clássico problema no Brasil: o uso de um nome inespecífico para abarcar uma variedade de espécies. No caso dos tubarões e raias, a denominação utilizada é “cação”. Outros estudos já haviam identificado molecularmente espécies comercializadas como “cação”. O artigo reuniu um compilado dos dados anteriores e ainda mostrou os resultados de uma busca investigativa em escala nacional. O sequenciamento do gene COI para identificação de espécies de tubarões e raias se estabeleceu como modelo de aplicabilidade. O constante monitoramento das amostras de “cação” comercializadas evidenciou-se imprescindível, uma vez que as espécies identificadas variam entre estudos. Ainda, amostras de espécies classificadas dentre as categorias consideradas ameaçadas pela IUCN (The International Union for Conservation of Nature) foram coletadas em todos os estudos anteriores, e 23% das amostras investigadas nesta amostragem estavam nas categorias de risco.

A metodologia que obteve sucesso nas amostras de “cação” foi aplicada também em amostras coletadas de peixes marinhos em um conjunto de ilhas remotas (Arquipélago de São Pedro e São Paulo). Os resultados obtidos propiciaram o estudo apresentado no capítulo II. Neste, foram identificadas 21 espécies de peixes em 11 famílias. A pesquisa indicou quatro novos registros para a região (*Cheilopogon atrisignis*; *Cheilopogon nigricans*; *Remora australis*; e *Thryssa chefuensis*) e abriu a necessidade de investigação e monitoramento desta descoberta. A partir da caracterização das espécies verificou-se que outra contribuição que o DNA *Barcoding* poderia proporcionar seria a construção de uma biblioteca de sequências COI dos peixes listados da região. Então, 9.183

sequências de 169 espécies e 63 famílias de peixes foram catalogados. O estudo atribuiu ao Arquipélago de São Pedro e São Paulo a condição de reservatório de biodiversidade. Devido a isso, a proteção do arquipélago deve ser reforçada e monitorada com abordagens baseadas na ciência, como a metodologia de *Metabarcoding*. Nesse caso, o par de *primers* projetado especificamente para tal biodiversidade foi apontado neste artigo.

Então, a aplicabilidade de um modelo metodológico de *Metabarcoding* foi discutida no capítulo III. Para tal, os elasmobrânquios de outra ilha oceânica brasileira (Fernando de Noronha) foram o estudo de caso. O trabalho validou a ferramenta e detectou três espécies de elasmobrânquios (*Hypanus berthalutzae*, *Ginglymostoma cirratum* e *Prionace glauca*) e outros 35 vertebrados marinhos. Entretanto, alguns desafios foram apontados e discutidos e para contorná-los são requeridos mais investimentos, o que pode ser uma barreira para cientistas em situação de restrições econômicas. A diversidade dentre os pesquisadores que estão aplicando a técnica também foi ponderada, visto que este foi o primeiro trabalho de *Metabarcoding* de elasmobrânquios liderado por um país que não fosse classificado pelo Banco Mundial como "high-income economy".

Os desafios atuais dos elasmobrânquios são diversos e discutidos na presente tese. Apesar disso, técnicas moleculares são eficazmente aplicáveis para estas espécies. Os artigos deste trabalho indicam que a vigilância e conservação de elasmobrânquios passam pelo uso das ferramentas de *Barcoding* e *Metabarcoding*. A tese teve como principal contribuição elucidar o alcance e as limitações destas metodologias.

Referências Bibliográficas

- Alison S, Ruddell L, Griffiths A and Buckley M. (2018) Abstract Book Sharks International Conference. Editora UFPB, João Pessoa, 468 p.
- Almerón-Souza F, Sperb, C, Castilho CL, Figueiredo PICC, Gonçalves LT, Machado R 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* 9:138 (1-12).
- Anderson CM, Krigbaum MJ, Arostegui MC, Feddern ML, Koehn JZ, Kuriyama PT et al. (2019) How commercial fishing effort is managed. *Fish and Fisheries*, 20(2), 268-285.
- Anticamara JA, Watson R, Gelchu A and Pauly D (2011) Global fishing effort (1950-2010): Trends, gaps, and implications. *Fisheries Research* 107:131-136.
- Arif IA, Khan HA, Bahkali AH, al Homaidan AA, al Farhan AH, al Sadoon M and Shobrak M (2011) DNA marker technology for wildlife conservation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18:219.
- Bakker J, Wangensteen OS, Chapman DD, Boussarie G, Buddo D, Guttridge TL, Hertler H, Mouillot D, Vigliola L and Mariani S (2017) Environmental DNA reveals tropical shark diversity in contrasting levels of anthropogenic impact. *Scientific Reports* 7:1, 1-11.
- Baum JK and Worm B (2009) Cascading top-down effects of changing oceanic predator abundances. *Journal of Animal Ecology* 78:699-714.
- Bernardo C, Corrêa de Lima A, Paes da Cruz V, Foresti F, Loose R and Bornatowski H (2020) The label “Caçãõ” is a shark or a ray and can be a threatened species! Elasmobranch trade in Southern Brazil unveiled by DNA barcoding. *Marine Policy* 116:103920 (1-8).
- Bingpeng X, Heshan L, Zhilan Z, Chunguang W, Yanguo W, Jianjun W (2018) DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. *PLoS ONE* 13: e0198109.
- Bond ME, Valentin-Albanese J, Babcock EA, Abercrombie D, Lamb NF, Miranda A et al. (2017) Abundance and size structure of a reef shark population within a marine reserve has remained stable for more than a decade. *Marine Ecology Progress Series* 576:1-10.
- Bornatowski H, Braga R, Kalinowski C and Vitule J (2015) “Buying a Pig in a Poke”: The Problem of Elasmobranch Meat Consumption in Southern Brazil. *Ethnobiology Letters* 6:196-202.
- Brook BW, Sodhi NS and Bradshaw CJA (2008) Synergies among extinction drivers under global change. *Trends in Ecology & Evolution* 23:453–460.
- Brunnschweiler JM (2010) The Shark Reef Marine Reserve: a marine tourism project in Fiji involving local communities. *Journal of Sustainable Tourism* 18(1): 29-42.
- Bunholi IV, Ferrette BLS, De Biasi J, Magalhães CO, Rotundo MM, Oliveira C, Foresti F, and Mendonça FF (2018) The fishing and illegal trade of the angelshark: DNA barcoding against misleading identifications. *Fisheries Research* 206:193–197.
- Boussarie G, Bakker J, Wangensteen OS, Mariani S, Bonnin L, Juhel JB, Kiszka JJ, Kulbicki M, Manel S, Robbins WD, Vigliola L and Mouillot D (2018) Environmental DNA illuminates the dark diversity of sharks. *Science Advances* 4(5):eaap9661.

Calegari BB, Reis RE and Alho CS (2019) DNA barcode identification of shark fillet reveals fraudulent commerce in Brazil. *Canadian Society of Forensic Science Journal* 52(2):95–100.

Camhi M, Fowler S, Musick J, Bräutigam A, Fordham S (1998) Sharks and their relatives, ecology and conservation. *Occas. Paper IUCN Spec. Surv. Comm.* 39 p

Castello L, Hess LL, Thapa R, McGrath DG, Arantes CC, Renó VF and Isaac VJ (2018) Fishery yields vary with land cover on the Amazon River floodplain. *Fish and Fisheries* 19:431–440.

Castello L, Mcgrath DG, Hess LL, Coe MT, Lefebvre PA, Petry P, Macedo MN, Renó VF and Arantes CC (2013) The vulnerability of Amazon freshwater ecosystems. *Conservation Letters* 6:217–229.

Chapman DD, Pikitch EK, Babcock E and Shivji MS (2005) Marine reserve design and evaluation using automated acoustic telemetry: a case-study involving coral reef-associated sharks in the Mesoamerican Caribbean. *Marine Technology Society Journal* 39(1): 42-55.

Cheung WWL, Watson R and Pauly D (2013) Signature of ocean warming in global fisheries catch. *Nature* 497:365–368.

Chovanec A, Hofer R and Schiemer F (2003) Chapter 18 Fish as bioindicators. Trace Metals and other Contaminants in the Environment. In: Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG (eds) *Bioindicators & Biomonitoring Principles, Concepts and Applications*. Elsevier, Amsterdam, pp 639–676.

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. *Conservation Biology* 20(1):201–211.

Clarke LJ, Soubrier J, Weyrich LS, Cooper A (2014) Environmental metabarcodes for insects: in silico PCR reveals potential for taxonomic bias. *Molecular ecology resources* 14:1160-1170.

Cochrane KL (2002) The use of scientific information in the design of management strategies, Chapter 5. In: Cochrane KL (ed) *A fishery manager's guidebook: Management measures and their application*. FAO Fisheries Technical Paper, Rome, pp. 1-231.

Collins RA, Bakker J, Wangenstein OS, Soto AZ, Corrigan L, Sims DW, Genner MJ and Mariani S (2019) Non-specific amplification compromises environmental DNA metabarcoding with COI. *Methods in Ecology and Evolution* 10:1985–2001.

Costello C, Cao, L, Gelcich S, Cisneros-Mata MA, Free CM, Froehlich HE et al. (2020) The future of food from the sea. *Nature* 588(7836):95–100.

Creer S, Deiner K, Frey S, Porazinska D, Taberlet P, Thomas WK, Potter C and Bik HM (2016) The ecologist's field guide to sequence-based identification of biodiversity. *Methods in Ecology and Evolution* 7:1008–1018.

Dario F di (2015) Fishes: A Guide to Their Diversity. *Marine Biology Research* 11:1116-1117,

DiBattista JD, Reimer JD, Stat M, Masucci GD, Biondi P, de Brauer M, Wilkinson SP, Chariton AA and Bunce M (2020) Environmental DNA can act as a biodiversity barometer of anthropogenic pressures in coastal ecosystems. *Scientific Reports* 10:1 10:1–15.

Doukakis P, Hanner R, Shivji M, Bartholomew C, Chapman D, Wong E and Amato G (2011) Applying genetic techniques to study remote shark fisheries in northeastern Madagascar. *Mitochondrial DNA* 22:15–20.

Dulvy NK, Fowler SL, Musick JA, Cavanagh RD, Kyne PM, Harrison LR, Carlson JK, Davidson LNK, Fordham S v, Francis MP et al. (2014) Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife* 3:e00590.

Dulvy NK, Simpfendorfer CA, Davidson LNK, Fordham S v., Bräutigam A, Sant G and Welch DJ (2017) Challenges and Priorities in Shark and Ray Conservation. *Current Biology* 27:R565–R572.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018) The state of world fisheries and aquaculture 2018: Meeting the sustainable development goals. FAO, Rome, 227 pp.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020) The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action. FAO, Rome, 244 pp.

Favaro B and Côté IM (2015) Do by-catch reduction devices in longline fisheries reduce capture of sharks and rays? A global meta-analysis. *Fish and Fisheries* 16:300–309.

Feitosa LM, Martins APB, Giarrizzo T, Macedo W, Monteiro IL, Gemaque R et al. (2018) DNA-based identification reveals illegal trade of threatened shark species in a global elasmobranch conservation hotspot. *Scientific Reports* 8(1), 3347.

Ferretti F, Worm B, Britten GL, Heithaus MR and Lotze HK (2010) Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters* 13:1055–1071.

Fiedler FN, Port D, Giffoni BB, Sales G and Fisch F (2017) Pelagic longline fisheries in southeastern/south Brazil. Who cares about the law? *Marine Policy*, 77, 56-64.

Frajía-Fernández N, Bouquieaux M, Rey A, Mendibil I, Cotano U, Irigoien X, Santos M and Rodríguez-Ezpeleta N (2020) Marine water environmental DNA metabarcoding provides a comprehensive fish diversity assessment and reveals spatial patterns in a large oceanic area. *Ecology and Evolution* 10(14):7560.

Frankham R, Ballou J and Briscoe D (2010) *Introduction to Conservation Genetics*. 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge, 618 pp

Gallagher AJ, Orbesen ES, Hammerschlag N and Serafy JE (2014) Vulnerability of oceanic sharks as pelagic longline bycatch. *Global Ecology and Conservation* 1:50-59.

Gattuso JP, Magnan A, Billé R, Cheung WWL, Howes EL, Joos F, Allemand D, Bopp L, Cooley SR, Eakin CM et al. (2015) Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO₂ emissions scenarios. *Science* 349:45-55.

Gilman E, Chaloupka M, Swimmer Y and Piovano S (2016) A cross-taxa assessment of pelagic longline by-catch mitigation measures: conflicts and mutual benefits to elasmobranchs. *Fish and Fisheries* 17:748–784.

He Q, Bertness MD, Bruno JF, Li B, Chen G, Coverdale TC, Altieri AH, Bai J, Sun T, Pennings SC et al. (2014) Economic development and coastal ecosystem change in China. *Scientific Reports* 4:1-9.

Hebert PD, Cywinska A, Ball SL and deWaard, JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings. Biological sciences*, 270(1512):313–321.

Heithaus MR, Wirsing AJ and Dill LM (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.

Heupel MR, Knip DM, Simpfendorfer CA and Dulvy NK (2014) Sizing up the ecological role of sharks as predators. *Marine Ecology Progress Series* 495:291–298.

Hilborn R (2007) Moving to sustainability by learning from successful fisheries. *Ambio*, 36(4), 296–303.

Hobbs CAD, Potts RWA, Bjerregaard Walsh M, Usher J and Griffiths AM (2019) Using DNA Barcoding to Investigate Patterns of Species Utilisation in UK Shark Products Reveals Threatened Species on Sale. *Scientific Reports* 9(1):1028.

Hoffmann M, Hilton-Taylor C, Angulo A, Böhm M, Brooks TM, Butchart SHM, Carpenter KE, Chanson J, Collen B, Cox NA et al. (2010) The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science* 330:1503–1509.

Holmes BH, Steinke D and Ward RD (2009) Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research* 95:280–288.

IUCN 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-2, <https://www.iucnredlist.org>. (August 22, 2021).

Ip YCA, Chang JJM, Lim KKP, Jaafar Z, Wainwright BJ and Huang, D (2021) Seeing through sedimented waters: environmental DNA reduces the phantom diversity of sharks and rays in turbid marine habitats. *BMC Ecology and Evolution* 21:1–14.

Jabado RW, Al Ghais SM, Hamza W, Henderson AC, Spaet JLY, Shivji MS and Hanner RH (2015) The trade in sharks and their products in the United Arab Emirates. *Biological Conservation*, 181:190–198.

Jacquet JL and Pauly D (2008) Trade secrets: Renaming and mislabeling of seafood. *Marine Policy*, 32(3):309-318.

Janvier P (1999) Catching the first fish. *Nature* 402:21–22.

Jarman SN, Berry O and Bunce M (2018) The value of environmental DNA biobanking for long-term biomonitoring. *Nature Ecology & Evolution* 2:1192–1193.

Kelly RP, Port JA, Yamahara KM, Martone RG, Lowell N, Thomsen PF, Mach ME, Bennett M, Praher E, Caldwell MR et al. (2014) Harnessing DNA to improve environmental management. *Science* 344:1455–1456.

Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111–120.

Kolmann MA, Elbassiouny AA, Liverpool EA and Lovejoy NR (2017) DNA barcoding reveals the diversity of sharks in Guyana coastal markets. *Neotropical Ichthyology* 15:170097.

Leray M and Knowlton N (2015) DNA barcoding and metabarcoding of standardized samples reveal patterns of marine benthic diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:2076–2081.

Liu SYV, Chan CLC, Lin O, Hu CS and Chen CA (2013) DNA Barcoding of Shark Meats Identify Species Composition and CITES-Listed Species from the Markets in Taiwan. *PLOS ONE* 8:e79373.

Lotze HK, Lenihan HS, Bourque BJ, Bradbury RH, Cooke RG, Kay MC, Kidwell SM, Kirby MX, Peterson CH and Jackson JBC (2006) Depletion degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science* 312:1806–1809.

MackKeracher T, Diedrich A and Simpfendorfer CA (2019) Sharks, rays and marine protected areas: A critical evaluation of current perspectives. *Fish and Fisheries*, 20:255-267.

Mariani S, Fernandez C, Baillie C, Magalon H and Jaquemet S (2021) Shark and ray diversity, abundance and temporal variation around an Indian Ocean Island, inferred by eDNA metabarcoding. *Conservation Science and Practice* 3(6).

Marwayana ON, Gold Z, Meyer CP, Barber PH and Paul Barber CH (2021) Environmental DNA in a global biodiversity hotspot: Lessons from coral reef fish diversity across the Indonesian archipelago. *Environmental DNA* 00:1–17.

Merten Cruz M, Szyrwelski BE and Ochotorena de Freitas TR (2021) Biodiversity on sale: The shark meat market threatens elasmobranchs in Brazil. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 31(12):3437–3450.

Meusnier I, Singer GA, Landry JF. et al (2008) A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC Genomics* 9:214.

Miya M, Sato Y, Fukunaga T, Sado T, Poulsen JY, Sato K, Minamoto T, Yamamoto S, Yamanaka H, Araki H, Kondoh M and Iwasaki W (2015) MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2(7).

Molina JM, Cooke SJ, Molina JM and Cooke SJ (2012) Trends in shark bycatch research: current status and research needs. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 22:719–737.

Monuki K, Barber PH and Gold Z (2021) eDNA captures depth partitioning in a kelp forest ecosystem. *PLoS One* 16: e0253104.

Mora C, Aburto-Oropeza O, Ayala-Bocos A, Ayotte PM, Banks S, Bauman AG, Beger M, Bessudo S, Booth DJ, Brokovich E et al. (2011) Global Human Footprint on the Linkage between Biodiversity and Ecosystem Functioning in Reef Fishes. *PLoS Biology* 9:e1000606.

Morris SC (2000) The Cambrian “explosion”: Slow-fuse or megatonnage? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:4426–4429.

Myers RA and Worm B (2003) Rapid worldwide depletion of predatory fish communities. *Nature* 423:280–283.

Nelson JS, Grande TC and Wilson MVH (2016) *Fishes of the world*, 5th ed. Wiley, New Jersey, 752 pp.

O’Byrhim JR, Parsons ECM and Lance SL (2017) Forensic species identification of elasmobranch products sold in Costa Rican markets. *Fisheries Research* 186:144–150.

Peng SC, Babcock LE and Ahlberg P (2020) The Cambrian Period. *Geologic Time Scale* 565–629.

Perry AL, Low PJ, Ellis JR and Reynolds JD (2005) Climate change and distribution shifts in marine fishes. *Science* 308:1912–1915

Perry RI, Ommer RE, Barange M, Jentoft S, Neis B and Sumaila UR (2011) Marine social–ecological responses to environmental change and the impacts of globalization. *Fish and Fisheries* 12:427–450.

Ramos M, Prado F, Foresti F and Porto-Foresti F (2017) Forensic identification by DNA barcode technique of shark species commercially exploited by the fishing fleets of the coast of Sao Paulo, Brazil. *Aquaculture* 472:144-144.

Ratnasingham S and Hebert PDN (2007) BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes* 7:355–364.

Raup DM (1995) *Extinction rates* (Vol. 11). J. H. Lawton, & R. M. May (Eds.). Oxford University Press, Oxford, 248 pp.

Reuter JA, Spacek DV, Snyder MP (2015) High-throughput sequencing technologies. *Molecular cell* 58:586-597

Robinson LM, Hobday AJ, Possingham HP and Richardson AJ (2015) Trailing edges projected to move faster than leading edges for large pelagic fish habitats under climate change. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 113:225–234.

Rock J, Costa FO, Walker DI, North AW, Hutchinson WF, Carvalho GR (2008) DNA barcodes of fish of the Scotia Sea, Antarctica indicate priority groups for taxonomic and systematics focus. *Antarctic Science* 20:253-262.

Rodrigues-Filho LF, Tainá C, Schneider H, Sampaio I and Vallinoto M (2009) Identification and phylogenetic inferences on stocks of sharks affected by the fishing industry off the Northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 32(2):405–413.

Rosa R, Rummer JL and Munday PL (2017) Biological responses of sharks to ocean acidification. *Biology Letters* 13(3):20160796.

Ruppert KM, Kline RJ and Rahman MS (2019) Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation* 17:e00547.

Sage RF (2020) Global change biology: A primer. *Global Change Biology* 26:3–30.

Scherrer K and Galbraith E (2020) Regulation strength and technology creep play key roles in global long-term projections of wild capture fisheries, *ICES Journal of Marine Science* 77:2518–2528

Schnute JT, Maunder MN and Ianelli JN (2007) Designing tools to evaluate fishery management strategies: can the scientific community deliver? *ICES Journal of Marine Science* 64:1077–1084.

Sembing A, Pertiwi NPD, Mahardini A, Wulandari R, Kurniasih EM, Kuncoro AW et al. (2015) DNA barcoding reveals targeted fisheries for endangered sharks in Indonesia. *Fisheries Research*, 164:130–134.

Speed CW, Field IC, Meekan MG and Bradshaw CJ (2010) Complexities of coastal shark movements and their implications for management. *Marine Ecology Progress Series* 408:275-293.

Staffen CF, Staffen MD, Becker ML, Lofgren SE, Muniz YCN et al. (2017) DNA barcoding reveals the mislabeling of fish in a popular tourist destination in Brazil. *PeerJ*, 5:e4006.

Steinke D, Bernard AM, Horn RL, Hilton P, Hanner R and Shivji MS (2017a) DNA analysis of traded shark fins and mobulid gill plates reveals a high proportion of species of conservation concern. *Scientific Reports* 7:9505.

Steinke D, deWaard JR, Gomon MF, Johnson JW, Larson HK, Lucanus O, Moore GI, Reader S, Ward RD (2017) DNA barcoding the fishes of Lizard Island (Great Barrier Reef). *Biodiversity Data Journal* 5:e12409.

Steneck, R. S. & Pauly, D. (2019) Fishing through the Anthropocene. *Current Biology* 29:987–992.

Stevens JD, Bonfil R, Dulvy NK and Walker PA (2000) The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science* 57:476–494.

Taberlet P, Bonin A, Zinger L, Coissac E (2018) *Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring*. Oxford University Press, Oxford, 253 pp.

Tautz D, Arctander P, Minelli A et al. (2002) DNA points the way ahead in taxonomy. *Nature* 418:479.

Tautz D, Arctander P, Minelli A, et al. (2003) A plea for DNA taxonomy. *Trends Ecol. Evol* 18:70–74.

Techera EJ and Klein N (2011) Fragmented governance: Reconciling legal strategies for shark conservation and management. *Marine Policy* 35:73–78.

Thomsen PF, Kielgast J, Iversen LL, Møller PR, Rasmussen M and Willerslev E (2012) Detection of a Diverse Marine Fish Fauna Using Environmental DNA from Seawater Samples. *PLoS One* 7:e41732.

Thomsen PF and Willerslev E (2015) Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 183:4-18.

UNCLOS (2021) The United Nations Convention on the Law of the Sea of 10 December 1982, https://www.un.org/Depts/los/convention_agreements/texts/unclos/UNCLOS-TOC.htm (December 4, 2021)

Velez-Zuazo X, Alfaro-Shigueto J, Mangel J, Papa R and Agnarsson I (2015) What barcode sequencing reveals about the shark fishery in Peru. *Fisheries Research* 161:34–41.

Wangensteen OS, Palacín C, Guardiola M and Turon X (2018) DNA metabarcoding of littoral hardbottom communities: High diversity and database gaps revealed by two molecular markers. *PeerJ* 2018:e4705.

Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR and Hebert PDN (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360:1847–1857.

West KM, Stat M, Harvey ES, Skepper CL, DiBattista JD, Richards ZT, Travers MJ, Newman SJ, and Bunce M (2020) eDNA metabarcoding survey reveals fine-scale coral reef community variation across a remote, tropical island ecosystem. *Molecular Ecology* 29:1069–1086.

Wheeler CR, Gervais CR, Johnson MS, Vance S, Rosa R, Mandelman JW and Rummer JL (2020) Anthropogenic stressors influence reproduction and development in elasmobranch fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 30:373–386.

Xu L, van Damme K, Li H, Ji Y, Wang X, Du F (2019) A molecular approach to the identification of marine fish of the Dongsha Islands (South China Sea). *Fisheries Research* 213:105-112.

Yu DW, Ji Y, Emerson BC, Wang X, Ye C, Yang C, Ding Z (2012) Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution* 3:613-623.

Zhang J, Chiodini R, Badr A, Zhang G (2011) The impact of next-generation sequencing on genomics. *Journal of genetics and genomics* 38:95-109.

Zhang J and Hanner R (2011) DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 62360-5	Data da Emissão: 04/07/2020 12:28:35	Data da Revalidação*: 01/06/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcelo Merten Cruz	CPF: 008.943.800-01
Título do Projeto: Importância de Unidades de Conservação Marinhas: caracterização de biodiversidade por DNA Ambiental (eDNA)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	CNPJ: 92.969.856/0001-98

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de Água Oceânica nas Unidades de Conservação	07/2018	12/2022

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Thales Renato Ochotorena de Freitas	Pesquisador Orientador	238.934.600-63	Brasileira
2	Brenda Godoy Alexandre	Pesquisadora	030.113.770-65	Brasileira
3	Anthony Ari Chariton	Pesquisador colaborador		Estrangeira
4	Alyssa Nicole Luongo	Pesquisadora		Estrangeira

Observações e ressalvas

1	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0623600520200704

Página 1/4

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 62360-5	Data da Emissão: 04/07/2020 12:28:35	Data da Revalidação*: 01/06/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcelo Merten Cruz	CPF: 008.943.800-01
Título do Projeto: Importância de Unidades de Conservação Marinhas: caracterização de biodiversidade por DNA Ambiental (eDNA)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	CNPJ: 92.969.856/0001-98

Outras ressalvas

1	O pesquisador deverá entrar em contato através do email pesquisaparnamarfn@gmail.com informando a data das expedições ao Arquipélago de São Pedro e São Paulo e a Fernando de Noronha e deverá comparecer à sede do ICMBio em Fernando de Noronha para entregar cronograma das atividades antes do início dos trabalhos de campo em FN. Recomendamos que o pesquisador acesse o site https://www.parnanoronha.com.br/pesquisa , se informe e baixe o manual do pesquisador antes de contatar a unidade.	APA Fernando de Noronha
2	O pesquisador deverá entrar em contato através do email pesquisaparnamarfn@gmail.com informando a data das expedições ao Arquipélago de São Pedro e São Paulo e a Fernando de Noronha e deverá comparecer à sede do ICMBio em Fernando de Noronha para entregar cronograma das atividades antes do início dos trabalhos de campo em FN. Recomendamos que o pesquisador acesse o site https://www.parnanoronha.com.br/pesquisa , se informe e baixe o manual do pesquisador antes de contatar a unidade.	PARNA Marinho de Fernando de Noronha
3	O responsável técnico da pesquisa deverá entrar em contato com a chefia da UC para agendamento da expedição que dura em média 35 dias com variações em função das condições de tempo	REBIO Atol das Rocas
4	Os pesquisadores estrangeiros, Anthony Ari Chariton e Alyssa Nicole Luongo possuem vínculo de Registro de expedição científica. Portanto só estrarão contemplados pela Autorização Sisbio mediante a emissão de autorização do MCT, concedida por meio de Portaria ministerial.	COINF

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	NATAL	RN	Marinho	Não	Fora de UC Federal
2	Área de Proteção Ambiental de Fernando de Noronha - Rocas - São Pedro e São Paulo	PE	Marinho	Não	Dentro de UC Federal
3	Reserva Biológica do Atol das Rocas	RN	Marinho	Não	Dentro de UC Federal
4	Parque Nacional Marinho de Fernando de Noronha	PE	Marinho	Não	Dentro de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Pesquisa em unidade de conservação federal	Outras atividades

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0623600520200704

Página 2/4

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 62360-5	Data da Emissão: 04/07/2020 12:28:35	Data da Revalidação*: 01/06/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcelo Merten Cruz	CPF: 008.943.800-01
Título do Projeto: Importância de Unidades de Conservação Marinhas: caracterização de biodiversidade por DNA Ambiental (eDNA)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	CNPJ: 92.969.856/0001-98

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	(Grupo não identificado)	

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	Outro

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0623600520200704

Página 3/4

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 62360-5	Data da Emissão: 04/07/2020 12:28:35	Data da Revalidação*: 01/06/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcelo Merten Cruz	CPF: 008.943.800-01
Título do Projeto: Importância de Unidades de Conservação Marinhas: caracterização de biodiversidade por DNA Ambiental (eDNA)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	CNPJ: 92.969.856/0001-98

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de Amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0623600520200704

Página 4/4