

# ANÁLISE *IN SILICO* DE SIMILARIDADE ENTRE TUBARÕES DA ORDEM CARCHARHINIFORMES UTILIZANDO DNA MITOCONDRIAL

Diego Lima de Andrade, Daniel Siquieroli Vilas Boas

Curso de Ciências Biológicas da Universidade Santa Cecília, Santos – SP  
e-mail do autor: [diego\\_dla2004@hotmail.com](mailto:diego_dla2004@hotmail.com)

## RESUMO

A Classe *Elasmobranchii* é composta por peixes com o esqueleto cartilaginoso: tubarões e raias. Os tubarões são distribuídos em todos os mares e oceanos, em águas tropicais, subtropicais, temperadas e frias apresentando hábitos demersais ou pelágicos. Tubarões da ordem *Carcharhiniformes* são os mais abundantes em número de indivíduos e espécies, já que deste grupo fazem parte algumas famílias numerosas e abundantes. O gene citocromo b é um gene do DNA mitocondrial com uma sequência de aproximadamente 1146 nucleotídeos nessas espécies. O presente trabalho analisou genes do citocromo b de oito espécies de tubarões: *Carcharhinus plumbeus*, *Prionace glauca*, *Galeocerdo cuvier*, *Negaprion brevirostris*, *Carcharhinus porosus*, *Sphyrna tiburo*, *Sphyrna tiburo vespertina* e *Sphyrna lewini*, que estão postados no banco de dados *GenBank*, os resultados foram analisados utilizando o programa *Blast*, que dentre suas funções, alinha duas sequências de DNA informando a porcentagem de proximidade entre as espécies. Todas as espécies foram pareadas entre si e os resultados nos mostraram que a divergência de valores elevados observada entre *Galeocerdo Cuvier* e todos os outros membros da Família *Carcharhinidae*, parece contradizer a sua inclusão neste grupo. Já o pareamento entre *Galeocerdo cuvier* e os membros da família *Sphyrnidae*, apresentaram grande similaridade entre si, isto pode corroborar a sua grande diferença morfológica. Tendo em vista a importância dos elasmobrânquios nos contextos ecológico e socioeconômico, o conhecimento produzido neste estudo, poderá subsidiar futuras pesquisas para compreender as alterações moleculares e a similaridade entre as espécies.

*Palavras Chave:* Citocromo b; Similaridade genética; Tubarões; Carcharhiniformes.

## 1. Introdução

Os tubarões são marinhos, carnívoros e pelágicos, em sua quase totalidade, habitam as águas costeiras e oceânicas, da superfície ao fundo, em praticamente todos os mares e oceanos. Altamente adaptáveis, ocupam diversos nichos ecológicos, dos mares tropicais aos oceanos Ártico e Antártico. Ao redor do planeta são conhecidas cerca de 400 espécies (88 delas no Brasil), cujos tamanhos podem variar de 0,10m a 18m de comprimento (2).

Atualmente existem poucos dados sobre a estrutura e a organização do genoma das espécies de *Chondrichthyes*. A maioria dos estudos realizados teve como foco a análise do conteúdo e da composição do DNA das espécies. Em se tratando de tubarões, são poucos os resultados produzidos até cerca de 25 anos atrás. Apenas recentemente, com trabalhos sobre sistemática e evolução, foram geradas informações relevantes que permitiram alguma compreensão acerca da organização genômica desses animais. Ainda assim, apenas 10% das espécies de peixes cartilaginosos tiveram seu DNA estudado, o que os coloca como grupo de constituição genômica menos conhecida

entre os vertebrados. Isso ocorre pelo fato da pesquisa genética sobre os peixes cartilaginosos permanecer como atividade ocasional e fragmentada e por historicamente, estes animais terem um baixo interesse comercial, condição alterada somente nas últimas décadas (3). Além disso, os estoques naturais de muitas espécies de tubarões estão em acentuado declínio na maioria das regiões do mundo (7). No Brasil, os tubarões são colhidos de forma intensiva, principalmente para comercialização das barbatanas e, secundariamente, a sua carne. Entre 1980 e 1994, eles representaram 6,4% e 12,7 % do total das capturas da pesca nos estados do Paraná e Santa Catarina, respectivamente (8). Esta demanda tem mantido anual a captura de tubarões no Brasil em torno de 30.000 toneladas nas últimas duas décadas, e resultou em um número de espécies sendo classificadas como ameaçadas de extinção (9).

Diante do exposto acima, o presente trabalho tem como objetivos, identificar as relações de similaridade entre oito espécies da ordem *Carcharhiniformes*, podendo subsidiar futuras pesquisas para compreender as alterações moleculares e a similaridade entre as espécies.

## 2. Materiais e Métodos

Fizeram parte desse estudo oito espécies de tubarões da ordem *Carcharhiniformes*: *Carcharhinus plumbeus*, Cpl (Cação - Galhudo), *Sphyrna lewini*, Sle (Tubarão - Martelo), *Prionace glauca*, Pgl (Tubarão - Azul), *Galeocerdo cuvier*, Gcu (Tubarão - Tigre), *Carcharhinus porosus*, Cpo (Cação - Azeiteiro), *Negaprion brevirostris*, Nbr (Cação - Limão), *Sphyrna tiburo*, Sti (Cambeva - Pata), *Sphyrna tiburo vespertina*, Sve (Tubarão - Martelo).

As análises moleculares foram realizadas *in silico* através do alinhamento de sequências de nucleotídeos do gene do citocromo b, com o intuito de se determinar os índices de similaridade entre essas sequências.

As sequências de nucleotídeos foram adquiridas do banco de dados *GenBank* e analisadas pelo programa BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (4), ambos fornecidos on-line pelo NCBI-NLM-NIH (*National Center for Biotechnology Information - National Library of Medicine - National Institute of Health*) (12). Os alinhamentos das sequências de bases foram pareados, ou seja, foram comparados com sequências entre as espécies, com todas as comparações possíveis entre as oito espécies estudadas.

## 3. Resultados

Os resultados das análises moleculares foram mostrados através dos índices de identidade em valores relativos (percentual de identidade entre as espécies) para as espécies pareadas.

## 4. Discussão

Em vista dos resultados obtidos para o gene mitocondrial citocromo b é importante lembrar que é o gene mais utilizado nas literaturas recentes sobre análises moleculares, e que se apresenta completamente sequenciado aproximadamente, 1146 pares de bases de nucleotídeos, depositados no banco virtual *GenBank*.

Com base nos resultados da Tabela 1, pode-se dizer que um resultado interessante decorrentes do presente estudo foi à divergência de valores elevados observados entre *Galeocerdo Cuvier* e todos os outros membros da Família *Carcharhinidae*, o que parece contradizer a sua inclusão neste grupo, apoiando assim (11) *apud* (10) e (2). *Galeocerdo cuvier* e membros da família *Sphyrnidae*, apresentaram grande similaridade entre si, isto pode corroborar a sua grande diferença morfológica. Com todos os outros resultados, a soma das provas de análise parece indicar que tanto a Família *Sphyrnidae* e *Carcharhinidae*, pode na verdade representar famílias distintas. Todos os resultados de similaridade aqui apresentados poderão contribuir para um estudo sobre taxonomia desses animais.

Tabela 1 – Índices de identidade e gaps em valores relativos (percentual de identidade entre as espécies) para as espécies pareadas.

	<b>Cpl</b>	<b>Cpo</b>	<b>Pgl</b>	<b>Nbr</b>	<b>Sti</b>	<b>Sve</b>	<b>Sle</b>	<b>Gcu</b>
<b>Cpl</b>		0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
<b>Cpo</b>	91 %		0 %	0 %	1 %	1 %	0 %	1 %
<b>Pgl</b>	89 %	90 %		0 %	1 %	1 %	1 %	1 %
<b>Nbr</b>	89 %	90 %	88 %		0 %	1 %	0 %	1 %
<b>Sti</b>	88 %	87 %	85 %	87 %		0 %	0 %	2 %
<b>Sve</b>	88 %	87 %	84 %	87 %	96 %		0 %	2 %
<b>Sle</b>	90 %	88 %	87 %	88 %	91 %	90 %		1 %
<b>Gcu</b>	86 %	87 %	86 %	85 %	84 %	84 %	85 %	

Cpl (*Carcharhinus plumbeus*); Sle (*Sphyrna lewini*); Pgl (*Prionace glauca*); Gcu (*Galeocerdo cuvier*); Cpo (*Carcharhinus porosus*); Nbr (*Negaprion brevirostris*); Sti (*Sphyrna tiburo*) e Sve (*Sphyrna tiburo vespertina*)

Cpl	1	ATGGCCATCAACATCCGAAAAACCCATCCACTTTTGAAAATCATAAACCCACGCCCTAGTT	60
Cpo	1	.....T.....T.....C.....A.....T.....	60
Pgl	1	.....T.....T.....C.....A.....T.....C	60
Nbr	1	.....T.....T.....C.....A.....T.....T.....A..	60
Sti	1	.....TT..T.....T..C..G....A.....T...T...G	60
Sve	1	.....TT..T.....T..C..G....A.....T...T...G	60
Sle	1	.....TT..T.....TA..C.....C..A.....T.....G	60
Gcu	1	.....T..T..T.....C.....C..A.....T..T..T...A.T...A..	60
Cpl	61	GACT-TGCCCGCCCCCTCTAATATTTCATATGATGAAATTTGGTTCACTCCTAGGACT	120
Cpo	61	...C-.A..T..T..A.....T.....C....C...A.T.....	120
Pgl	61	...C-.A..T...A.....T.....C....C...T.....	120
Nbr	61	..-C.A..T...A..C..C..C..T.....C....C....GT.....	120
Sti	61	..T-.A..T.....C....C..GT.....C..C.....	120
Sve	61	..T-.A..T.....C....C..GT.....C..C.....	120
Sle	61	...-A..T..T..A..C...C.....C.....	120
Gcu	61	..C.T.-.....T..A.....C.....T.....C.....AT.....T.	120
Cpl	121	ATGCTTAATCATCCAAATCCTCAGGACTCTTCTAGCTATACACTACCGCAGACAT	180
Cpo	121	.....T.....T.....C.....T.....	180
Pgl	121	...T...T..T.....T.....T.....	180
Nbr	121	..T...T.....G..C.....T.....T..	180
Sti	121	..T...T.....T.....A.....C.....T.....G.	180
Sve	121	..T...T.....T.....C.....T.....G.	180
Sle	121	.....T..T.....T.....T.....TG.	180
Gcu	121	...C...T.....T...G.....C...T...T...T..	180
Cpl	181	CTCCATAGCCTTCTCCTCAGTAGTCCATATCTGTGCGACGTCAACTATGGCTGACTTAT	240
Cpo	181	T..T.....T.....A..C.....C.....T.....	240
Pgl	181	T..T.....T.....T.....T.....	240
Nbr	181	T.....C.....T..G....A..T.....	240
Sti	181	.....C.....T..C..T..T.....C..	240
Sve	181	.....C.....T..C..T..T.....C..	240
Sle	181	.....T.....T.....T.....T.....	240
Gcu	181	...T.....T.....T..C.....T..A..T..C.....C..	240

Figura 1 – Alinhamento das seqüências do gene citocromo b para as espécies: Cpl (Carcharhinus plumbeus); Sle (Sphyrna lewini); Pgl (Prionace glauca); Gcu (Galeocerdo cuvier); Cpo (Carcharhinus porosus); Nbr Negaprion brevirostris); Sti (Sphyrna tiburo) e Sve (Sphyrna tiburo vespertina). Evidenciando as diferenças de bases entre as espécies, tendo em vista que o alinhamento foi das primeiras 240 pares de bases do gene citocromo b, Carcharhinus plumbeus foi usado como referência para as seqüências.

## 5. Conclusão

As tendências atuais de exploração da pesca de estoques de elasmobrânquios são insustentáveis, e que muitas espécies de tubarões apresentam um sério risco de extinção. Algumas espécies, como por exemplo, *Prionace glauca* (Tubarão azul) excederam os limites máximos de produção sustentável, como consequência dos atuais volumes de comércio. Em vista dessa idéia e de outras, o trabalho veio a complementar os estudos sobre elasmobrânquios do Brasil e do Mundo. Além disso, os resultados obtidos através do programa *Blast*, podem inferir sobre estudos taxonômicos e evolutivos dos tubarões complementando assim, os poucos estudos que se dispõe desses animais (13, 14).

## 6. Referências Bibliográficas

- (1) GADIG, O. B. F. 1998. Peixes cartilaginosos da costa do estado de São Paulo. *Ceciliana*, VIII (9):41-51.
- (2) Szpilman, Marcelo, 1961 – Tubarões no Brasil: guia prático de identificação / Marcelo Szpilman. – Rio de Janeiro : M. Szpilman, 2004. 160 p.
- (3) PINHAL, D., GADIG, O.B.F. 2007. DNA Ribossomal 5S: seqüência nucleotídica, organização genômica e potencial como biomarcador para análises moleculares em espécies de tubarões. 84p.
- (4) Zheng Zhang, Scott Schwartz, Lukas Wagner, and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", *J Comput Biol* 2000; 7(1-2):203-14.
- (5) Ward,R.D., Holmes,B.H., White,W.T. and Last,P.R. DNA Barcoding Australian Chondrichthyan: Results and Potential Uses in Conservation. *JOURNAL Mar. Freshw. Res.* 59, 57-71 (2008) *JOURNAL Submitted (15-JAN-2008) CSIRO Marine and At-*

mospheric Research, Wealth from Oceans Flagship, GPO Box 1538, Hobart, Tasmania 7001, Australia.

- (6) COMPAGNO, L. J. V. 1984. FAO Species catalogue Vol 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Parts 1, 2/ FAO Fish. Synopsis. (125) vol 4: 1-655.
- (7) Baum JK, Myers RA, Kehler DG, Worm B, Harley SJ and Doherty PA (2003) Collapse and conservation of shark populations in the northwest Atlantic. *Science* 299:389-392.
- (8) Paiva MP (1997) Recursos Pesqueiros Estuarinos e Marinhos do Brasil. Edições UFC, Fortaleza, 286 p.
- (9) Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Norte (CEPNOR/IBAMA) (2004). [http://www.ibama.gov.br/cepnor/index.php?id\\_menu=52](http://www.ibama.gov.br/cepnor/index.php?id_menu=52).
- (10) Rodrigues - Filho, LF; Rocha, T.C; Rêgo, P.S; Schneider, H; Sampaio, I; Vallinoto, M. 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 (2009).
- (11) Compagno LJV (1984) FAO species catalogue. v. 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 2. Carcharhiniformes. FAO Fish Synop 4:251-655.
- (12) NIH Genetic Sequence Database (GenBank), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>.
- (13) 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 J Mar Sci* 57:476-494.
- (14) Dulvy NK, Sadovy Y and Reynolds JD (2003) Extinction vulnerability in marine populations. *Fish Fish* 4:25-64.