



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
CAMPUS DE ARAPIRACA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - LICENCIATURA

JEFERSON DA SILVA SANTOS

**AVALIANDO OS FATORES QUE AFETAM O TAMANHO DO GENOMA EM
CONDRICTES**

ARAPIRACA
2023

Jeferson da Silva Santos

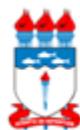
Avaliando os fatores que afetam o tamanho do genoma em Condrictes

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC
apresentado à Universidade Federal de
Alagoas – UFAL, Campus de Arapiraca, como
pré-requisito para a obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Uedson Pereira Jacobina

Arapiraca

2023



Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus Arapiraca
Biblioteca *Campus* Arapiraca - BCA

B238a Barbosa, Jeferson da Silva
Avaliando os fatores que afetam o tamanho do genoma em Condrictes / Jeferson da Silva Santos. – Arapiraca, 2023.
36 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Uedson Pereira Jacobina.
Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas.) -
Universidade Federal de Alagoas, *Campus* Arapiraca, Arapiraca, 2022.
Disponível em: Universidade Digital (UD) – UFAL (*Campus* Arapiraca).
Referências: f. 27-36.

1. Elasmobranchii 2. Elasmobrânquios 3. Holocephali 4. Métodos filogenéticos comparativos I. Jacobina, Uedson Pereira II. Título.

CDU 57

Jeferson da Silva Santos

Avaliando os fatores que afetam o tamanho do genoma em Condrictes

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC
apresentado à Universidade Federal de
Alagoas - UFAL, Campus de Arapiraca como
pré-requisito para a obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Data de Aprovação: 05/05/ 2023.

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
 UEDSON PEREIRA JACOBINA
Data: 05/05/2023 16:59:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Uedson Pereira Jacobina (Orientador)
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Documento assinado digitalmente
 LEONARDO BROETTO
Data: 05/05/2023 16:20:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Leonardo Broetto
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Documento assinado digitalmente
 CLAUDIO LUIS SANTOS SAMPAIO
Data: 05/05/2023 16:42:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Cláudio L. S. Sampaio
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Ao Meu Pai querido José Otávio e minha mãe Rosely Santos, amores da minha vida que me possibilitaram a busca por uma formação e orgulho de ser filho da classe trabalhadora.

E que me motivam futuramente a transmitir os conhecimentos sistematizados pela humanidade, os quais me permitirão exercer a docência não por uma mera obrigação, mas em resposta a uma formação que vislumbra a transformação da realidade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Deus, o qual não se explica de forma científica, mas, por meio da Fé, sinto seu poder atuando em minha vida. Obrigado **Deus**, sou grato por esta vitória!!!

Agradeço a todos professores que contribuíram nessa caminhada desde daqueles do primário, fundamental, ensino médio, e principalmente aos da graduação que me mostraram uma nova perspectiva; agradeço aos meus amigos de turma, principalmente ao meu grupinho; Danielle, Karla, Mateus, Linda, Luciano, Vinicius, Pedro, Tayná e Wendy. Que contribuíram com o percurso da graduação, os quais por diferentes momentos me ajudaram de forma significativa, extremamente importante para a concretização deste sonho. Vocês são parte importante na minha história, os levo comigo sempre. agradeço também aos meus amigos de laboratório, Alany, Denis, Milene e Leandro que contribuíram de várias formas, e agradeço pela oportunidade de aprendizagem e troca de experiências.

A minha família, em especial a meus pais, pelo apoio e incentivo às escolhas que tomei, **Rosely Santos** (mãe) e **José Otávio** (pai) meus eternos exemplos; e aos meus avós que hoje se encontram no céu, meu avô Octaviano, e minha avó Ester, pois sei que de onde estiverem estão olhando por mim, e sentindo orgulho de me verem chegar ao fim dessa etapa.

A meu orientador **Uedson Jacobina**, homem prestativo, enfático e pontual para o crescimento acadêmico frente à universidade. Agradeço por todos os momentos de orientação, amplos de aprendizagem, marcados pelo acolhimento e contribuição na minha caminhada acadêmica. Você é um exemplo de compromisso e respeito.

Por fim, sou grato a todos que de alguma forma, diretamente ou indiretamente, participaram da realização desta etapa.

Deus abençoe a Todos!

RESUMO

Os genomas eucarióticos diferem amplamente em tamanho, porém os fatores evolutivos que moldaram essa variação são pouco conhecidos em condrictes. As informações sobre o tamanho do genoma (GS) estão disponíveis para muitos táxons dentro desse grupo. Entretanto, trabalhos envolvendo a variação do GS são meramente descritivos, não elucidando quais processos evolutivos moldam a sua diversidade. Neste trabalho, por meio de métodos filogenéticos comparativos, buscamos entender quais processos moldam a variação do GS. Para isso, utilizamos variáveis bióticas (estratégia reprodutiva) e abióticas (amplitude de temperatura e salinidade). Ao todo, 114 GS de tubarões, arraias e quimeras foram avaliados. Nossos dados revelaram que o GS varia em cerca de 16,45 vezes entre as espécies. A reconstrução filogenética mostrou cinco clados bem suportados dentro dos condrictes. O K de Bloomberg revelou que não houve sinal filogenético entre a variação do GS e sua trajetória filogenética ($K = 0,5$; p -value: 0,72). Já as análises por meio de métodos filogenéticos comparativos revelaram que as amplitudes térmica e osmótica estão associadas a variação do GS ($p < 0.03$, $r^2 = 0.061$). Além disso, a estratégia reprodutiva das espécies também mostrou forte associação com a variação do GS ($p < 0.007$, $r^2 = 0.063$). Assim, as espécies com os maiores genomas são ovovíparas e as com os menores são vivíparas, seguidos pelas ovíparas. A amplitude de temperatura associada à salinidade, bem como as estratégias reprodutivas associadas ao GS possivelmente estão atrelados à expansão e contração do número de sequências repetitivas distribuídas pelo genoma. A relação significativa aqui encontrada entre GS e estratégia reprodutiva em condrictes pode indicar uma possível adaptação evolutiva desses organismos em relação à sua reprodução. Nesse sentido, nossas descobertas revelam as múltiplas facetas evolutivas que esse grupo antigo e diverso experimentou durante a sua trajetória filogenética.

Palavras-chave: métodos filogenéticos comparativos; elasmobranchii; holocephali; genômica.

ABSTRACT

Eukaryotic genomes differ widely in size, but the evolutionary factors that shaped this variation are poorly known in chondrichthyes. Genome size (GS) information is available for many taxa within this group. However, works involving GS variation are merely descriptive, not elucidating which evolutionary processes shape its diversity. In this work, through comparative phylogenetic methods, we seek to understand which processes shape GS variation. We used biotic (reproductive strategy) and abiotic (temperature and salinity amplitude) variables for this. In all, 114 GS of sharks, rays and chimaeras were evaluated. Our data revealed that GS varies by about 16.45 times between species. Phylogenetic reconstruction showed five well-supported clades within the chondrichthyes. Bloomberg's K revealed that there was no phylogenetic signal between the GS variation and its phylogenetic trajectory ($K = 0.5$; p -value: 0.72). Analyses using comparative phylogenetic methods revealed that thermal and osmotic amplitudes are associated with GS variation ($p < 0.03$, $r^2 = 0.061$). Furthermore, the species' reproductive strategy also showed a strong association with the variation in GS ($p < 0.007$, $r^2 = 0.063$). Thus, species with the largest genomes are ovoviviparous and those with the smallest are viviparous, followed by oviparous. The temperature range associated with salinity and the reproductive strategy associated with GS are possibly linked to the expansion and contraction of the number of repetitive sequences distributed throughout the genome. The significant relationship found here between GS and reproductive strategy in chondrichthyes may indicate a possible evolutionary adaptation of these organisms in relation to their reproduction. In this sense, our findings reveal the multiple evolutionary facets that this ancient and diverse group experienced during its phylogenetic trajectory.

Keywords: comparative phylogenetic methods; elasmobranchii; holocephali; genomics.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GS	Genome size
TEs	Transposable elements
DNA	Deoxyribonucleic acid
COI	Cytochrome Oxidase Subunit
UTR	Untranslated Region
CYTB	Cytochrome b
NADH2	Dehydrogenase Subunit 2
NCBI	National Center for Biotechnology Information
BEAST	Bayesian evolutionary analysis by sampling trees
ESS	Effective Sample Size
GBIF	Global Biodiversity Information Facility
Bio-Oracle	Ocean Rasters for Analysis of Climate and Environment
PGLS	Phylogenetic Generalized Least Squares
PG	Picogramas
LINES	Long Interspersed Nuclear Elements

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Um breve histórico sobre o tamanho do genoma	11
2.2	Correlações com tamanho do genoma	12
2.3	Condrictes	13
3	Justificativa	16
4	METODOLOGIA	17
4.1	Reconstrução Filogenética	17
4.2	Tamanho do genoma	17
4.3	Obtenção de dados ecológicos das espécies	17
4.4	Métodos Filogenéticos Comparativos	18
6	DISCUSSÃO	23
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
	REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

O sucesso evolutivo dos condrictes é em parte devido a eficiência de suas características reprodutivas seletivas, como grande tamanho corporal, taxa de crescimento lento, maturidade tardia, baixa fecundidade (MUSICK *et al*, 2005; KOUSTENI *et al*, 2015; KOUSTENI *et al*, 2019). Este grupo desempenha um importante papel ecológico, ligado a diferentes níveis tróficos nos ecossistemas marinhos, contribuindo fundamentalmente para as áreas onde ocorrem (MATICH *et al*, 2011). Nos aspectos genéticos, por tratar-se de um grupo com taxa de crescimento lento e características reprodutivas seletivas, tem levado diversas espécies a entrarem na lista de extinção, principalmente pela pesca excessiva em diversas partes do globo (LIU *et al*, 2021). São representados por cerca de 1.200 espécies, ao qual habitam uma elevada variedade de habitats, desde zonas costeiras a pelágicas (LIMA; CRUZ, 2011). Estas espécies têm um papel fundamental no equilíbrio e produtividade dos ecossistemas marinhos, ocupando frequentemente lugares de topo nas cadeias alimentares (HENRIQUES *et al*, 2021). Além disso, estes animais são um importante recurso pesqueiro global (DULVY *et al*, 2014). Entretanto, as atividades antrópicas negativas vêm ameaçando o habitat dessas espécies, gerando cada vez mais declínios populacionais em seus estoques (BOELTER, 2020).

Diversos estudos têm procurado entender a diversidade genética e genômica dos condrictes (DUDGEON *et al*, 2012). Entretanto, no que diz respeito aos aspectos genômicos, pouco se discute sobre quais processos podem afetar a variação do tamanho do genoma (GS) dessas espécies. O GS tem se mostrado um traço altamente variável na história evolutiva dos eucariotos, tendo um papel central na diversificação das linhagens (GREGORY, 2005). A variação no GS pode ser afetada por mecanismos genéticos, associados a mutações do tipo inserção, deleção e duplicação, que muitas vezes são moldadas por elementos transponíveis (TEs) (SHAO; HAN; PENG, 2019; BENNETZEN, 2002; PETROV, 2001). De fato, esses eventos podem levar a processos de adaptação e especiação dos organismos (SCLAVU; HERRICK, 2019; SOUZA *et al*, 2019; CARDUCCI *et al*, 2019). Nos últimos anos, a natureza e a importância relativa dos mecanismos moleculares e das forças evolutivas subjacentes à variação do GS tem sido objeto de intensa pesquisa e debate (GREGORY; ELLIOT, 2015). Essas pesquisas vêm permitindo descobrir padrões e

processos que afetam as variações e evolução do genoma ao analisar diferentes linhagens (FERREIRA *et al*, 2007).

Estudos comparativos atestam que não existe qualquer relação entre GS e a complexidade do organismo (GREGORY, 2005; PETROV, 2001). No entanto, nos últimos anos, alguns estudos comparativos têm procurado avaliar se a variação no conteúdo de DNA está mais associada aos aspectos ambientais ou evolutivos (PELLICER *et al*, 2018). Nesse contexto, essas associações têm revelado correlações positivas e/ou negativas, entre variáveis ecológicas como temperatura, salinidade, gradientes de latitude (SANTOS *et al*, 2021). Por outro lado, tendem a mostrar padrões adaptativos, que podem demonstrar padrões contrastantes em relação à quantidade de DNA e a história de vida das espécies, dependendo da classe estudada (RODRIGUEZ, 2020). Em ectotérmicos, esses estudos revelaram que a tolerância térmica é dependente da massa corporal e do GS (LEIVA, 2019). Já mais especificamente nos pássaros, a evolução da capacidade de voo aprimorada, tende a ser acompanhada pela redução do tamanho do genoma propriamente dito (WRIGHT *et al*, 2014). Outros processos evolutivos têm sido diagnosticados em outros grupos, como por exemplo, as taxas de especiação e evolução do tamanho do genoma têm sido positivamente correlacionadas (PUTTICK *et al*, 2015).

No que diz respeito ao GS de condrictes, mais de 134 espécies já possuem informações, onde exibem uma grande variação entre os grupos relacionados (tendo *Oxynotus centrina* o maior GS, de 17,0 pg, e o menor *Hydrolagus collie*, de 1,55 pg). Entretanto, trabalhos envolvendo a variação do GS neste grupo são meramente descritivos, não elucidando quais processos evolutivos moldam a sua diversidade (GREGORY, 2005; JUNG *et al*, 2019; OCHOA-SALOMA *et al*, 2020). Nesse contexto, o presente estudo avaliou quais fatores moldaram a variação do GS por meio de métodos filogenéticos comparativos em representantes de condrictes. Um dos principais objetivos é avaliar se o GS segue uma trajetória filogenética ou se variações ambientais moldam sua diversidade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Um breve histórico sobre o tamanho do genoma

A forma de quantificação do GS é medida em função do valor C (em picogramas), ou seja, que define a quantidade de DNA em cada genoma haplóide (NAHUM, 2001). Mesmo nos estudos precusores sobre GS entre os anos de 1940 a 1960, a variabilidade notável entre conteúdo de DNA de diferentes grupos de organismos já intrigava os pesquisadores (EDDY, 2012). O genoma agrega todo um script molecular orgânico que tem sido moldado sob a luz da história evolutiva de uma determinada espécie (GREGORY, 2005). Mais de cinquenta anos atrás, pesquisadores acreditavam que a quantidade de DNA no genoma estava positivamente correlacionada com a complexidade dos organismos, ou seja, quanto mais complexa a espécie, mais conteúdo de DNA seria necessário para armazenar informações que seriam traduzidas em um fenótipo (TORRES, 2018). Entretanto, estudos comparativos demonstraram que nem sempre organismos mais complexos têm genomas maiores, o que ficou conhecido como paradoxo do valor C (LYNCG, 2008).

Ao examinar a complexidade dos genomas em diferentes espécies, cientistas perceberam que grande parte desse DNA não é traduzido, ou seja, não tem nenhuma informação para sintetizar uma proteína (TORRES, 2018). Logo descobriram que genomas muito amplos possuíam uma enorme quantidade de sequências repetitivas, ou sequências de DNA que ocorrem em várias cópias no genoma dispersas ou em tandem (GREGORY, 2004), e que apenas uma pequena parte do DNA é responsável pela codificação dos genes (BLOMMAERT, 2005). As variações do valor C estão em regiões não codificadoras, que se acumulam ou perdem-se nos genomas ao longo do tempo, aparentemente, sem quaisquer efeitos positivos ou negativos no organismo (ELLIOT; GREGORY, 2015). Porém sabe-se agora que o DNA não codificador são íntrons e regiões UTR (regiões não traduzidas), elementos transponíveis e regiões relacionadas a genes de RNA não codificantes e sequências repetitivas (SIENA, 2015).

2.2 Correlações com tamanho do genoma

Quando abordamos o assunto GS, sabe-se que diversos mecanismos genéticos evolutivos, como as mutações (deleção, duplicações, replicações e inserções) assim como, elementos transponíveis (ETs) podem afetar a sua variação (GREGORY, 2005). Alguns estudos têm tentado, também, conhecer a variação no conteúdo de DNA, associados aos aspectos filogenéticos, assim como associados a fatores ambientais (SANTOS *et al*, 2021). Nesse contexto, tem detectado correlações positivas, negativas ou não-correlação entre traços de história de vida das espécies, dependendo da classe estudada (RODRIGUEZ, 2020).

Em alguns ectotérmicos, estudos demonstraram que a tolerância térmica é dependente da massa corporal e do tamanho do genoma (LEIVA, 2019). Já mais especificamente nos pássaros, a evolução da capacidade de voo aprimorada, tende a ser acompanhada pela redução do tamanho do genoma propriamente dito (WRIGHT *et al*, 2014). Outros processos evolutivos têm sido diagnosticados, como por exemplo, as taxas de especiação e evolução do tamanho do genoma têm sido fortemente correlacionadas, entre as plantas terrestres (SOUSA *et al*, 2019). As angiospermas demonstraram ter taxas maiores, enquanto as gimnospermas demonstram taxas muito lentas em relação ao seu grupo irmão (PUTTICK *et al*, 2015). No grande e antigo lago Baikal, na Rússia, que foi o local de uma grande radiação de crustáceos anfípodes (GURKOV *et al*, 2019), quando avaliado o conteúdo de DNA desses crustáceos, foi detectado alterações genômica incluindo proliferação de elementos transponíveis, que acompanharam a especiação, impulsionados pela seleção que moldou diferenças no tamanho do corpo e preferência de habitat (JEFFREY *et al*, 2017). Já em peixes de nadadeiras raiadas (Actinopterygii), diversas correlações foram associadas positivamente e negativamente, como por exemplo, a diversidade do GS parece não está ligado ao metabolismo, mas é positivamente relacionado com o diâmetro do ovo, indicando uma relação com o cuidado parental (HARDIE, 2004). Já eventos de poliploidização têm sido associados aos grandes genomas de muitos peixes cartilaginosos (STINGO; ROCCO, 2002). Esses elos retratam a grande amplitude do GS encontrada nos peixes, que possui o maior e o menor genoma dentro dos vertebrados. Entretanto, o significado evolutivo desta variação ainda não foi

definitivamente elucidado, principalmente levando em consideração os aspectos filogenéticos das espécies (HARDIE, 2004).

2.3 Condrictes

Entre os peixes, um grupo que se destaca são os condrictes, ao qual constituem os tubarões, arraias e quimeras (INOUE, 2010). São conhecidas mais de 1.200 espécies que habitam uma variedade de habitats, desde zonas costeiras pelágicas a zonas de profundidade (LIMA; CRUZ, 2011). Estas espécies têm um papel fundamental no equilíbrio e produtividade dos ecossistemas marinhos, ocupando frequentemente o topo nas cadeias alimentares (HENRIQUES *et al*, 2021). Além disso, estes animais são importantes recursos pesqueiros globalmente, sendo utilizados na alimentação, produção de cosméticos e de couro, o que culmina em várias espécies a entrarem na lista de extinção, pela pesca incidental ou acidental (DULVY *et al*, 2014). Além disso, as atividades antrópicas têm cada vez mais ameaçado o habitat dessas espécies, gerando cada vez mais declínios em seus estoques (BOELTER, 2020).

Embora os elasmobranchii possuam alta diversidade morfológica, gerada durante a maior parte de sua trajetória evolutiva, desde o Paleozóico até os dias atuais (COMPAGNO, 1990), as métricas de diversidade genética são baixas reveladas em estudos comparativos (DOMINGUES, 2012). No que diz respeito a informações genômicas, análises comparativas do genoma do tubarão branco, com outros condrictes, bem como outros vertebrados, apresentam evidências de adaptação molecular e evolução no conteúdo gênico (MARRA *et al*, 2019). Além disso, por trás de várias características biológicas notáveis deste predador de topo, foi detectado alguns loci, que podem ter sido de importância adaptativa na evolução dessa espécie, como uma melhor cicatrização de feridas e a sua grande sensibilidade no cheiro (MARRA *et al*, 2019).

No que diz respeito ao GS, envolvendo os condrictes, a maioria deles concentram-se em estudos meramente descritivos, descrevendo apenas sua variação (HARDIE; HEBERT, 2003). E em alguns casos, mais relacionados aos aspectos celulares, como o estudo de Hardie & Hebert (2003), avaliando 22 condrictes, onde foi diagnosticado uma correlação positiva entre o GS com regiões celulares e

nucleares dos eritrócitos. Por outro lado, outros estudos destacam mais a variação no seu conteúdo de DNA nuclear, como o estudo de Stingo (1980), avaliando 23 espécies de condrictes (9 Squalomorphii, 11 Batoidea e 3 Galeomorphii) que revelam a variação do valor C de 5,4 pg a 32,3 pg. Sendo os valores mais baixos detectados em Batoidea, com uma ligeira variabilidade interespecífica no nível intrafamiliar.

Estudos de desenvolvimento de tubarões e raias (Elasmobrânquios) forneceram informações sobre o processo de evolução morfológica dos vertebrados. Embora esses estudos sejam supostamente alimentados por informações de sequenciamento molecular em larga escala, sequências de genoma completo de tubarões e raias foram disponibilizadas apenas recentemente (KARAKU, 2021). Em estudos relacionados ao tubarão baleia, foi encontrado fortes relações de escala de características genômicas e fisiológicas, indicando que essas relações de escala, algumas das quais foram notavelmente gerais, moldam o genoma para integrar restrições metabólicas relacionadas ao tamanho do corpo e variáveis ecológicas, como temperatura e profundidade (WEBER *et al*, 2020). Isso destaca a importância da diversidade e o valor dos estudos evolutivos sobre tubarões, uma vez que muitas espécies são exploradas por humanos e encontram-se ameaçadas de extinção em todo o mundo (DULVY *et al*, 2014).

Apesar da importância dos tubarões para os ecossistemas marinhos como predadores de topo e da crescente preocupação com o estado de conservação de muitas espécies, surpreendentemente pouco se sabe sobre muitos aspectos de seus padrões de reprodução e história de vida (FELDHEIM, 2001). A geração de conhecimento acerca da reprodução de tubarões requer tempo, cujo desenvolvimento se dá de acordo com os esforços de diversos profissionais que estudam a biodiversidade (PARSONS *et al.*, 2008). Contudo, informações detalhadas sobre o ciclo reprodutivo estão ausentes para certas espécies de tubarões, o que traz preocupação, uma vez que as evidências apontam para a redução populacional de tais táxons. Tal processo de diminuição dessas populações ocorre devido a modificações ambientais, tais como perda de habitat, pesca excessiva e degradação (MANIRE; GRUBER, 1993; CAMHI, 1998; BAUM; MYERS, 2004). Sabe-se ainda que, o número de espécies de tubarões com dados acerca de seu ciclo de vida reprodutivo supera o valor de 350 (PARSONS *et al*, 2008). Possibilitando avaliar algumas informações sobre correlações positivas e negativas entre e como o tamanho do corpo

correlaciona positivamente com o tamanho da ninhada e o tamanho da prole, e o tamanho dos pais para machos e fêmeas é negativamente correlacionado com o crescimento (CORTÉS, 2000). Todos os condrictes usam fertilização interna e as estratégias reprodutivas vão desde a oviparidade até a viviparidade placentária; a viviparidade é observada em cerca de 60% das espécies de condrictes e é a estratégia reprodutiva predominante em várias famílias de tubarões (PARSONS *et al*, 2008).

3 JUSTIFICATIVA

Nas últimas décadas, a disponibilidade de informações sobre o tamanho do genoma para condrictes se tornaram disponíveis para mais de 100 espécies, representando as principais ordens do grupo. Além disso, informações sobre os traços de história de vida das espécies e variáveis ambientais podem ser extraídas a partir de banco de dados públicos. Nesse contexto, podemos analisar a importância da diversidade dos estudos genéticos evolutivos sobre condrictes, uma vez que muitas espécies são exploradas por humanos e encontram-se ameaçadas de extinção em todo o mundo. No que diz respeito aos aspectos filogenéticos, já existem diversas sequências de genes mitocondriais e nucleares disponíveis em bancos de dados de domínio público, o que permite avaliar quais processos moldam a variação do GS em um contexto filogenético e ecológico. Essas informações podem ser úteis para entender as rotas evolutivas desse grupo antigo e diverso, assim como, para fins de manejo e conservação dessas espécies.

4 METODOLOGIA

4.1 Reconstrução Filogenética

Para a reconstrução filogenética, utilizamos os genes mitocondriais mais comumente usados em condrictes, sendo eles COI (citocromo oxidase subunidade I), Nadh2 (Dinucleotídeo de nicotinamida-adenina 2) e Cytb (citocromo b), depositados no banco de dados de domínio público NCBI. Cada gene foi alinhado de forma separada no Bioedit, e pela ferramenta ClustalW no MEGAX (TAMURA *et al*, 2013). Todos os alinhamentos foram verificados visualmente e corrigidos quando necessário. O teste do melhor modelo evolutivo foi realizado também no MEGAX (TAMURA *et al*, 2013).

Posteriormente, foi usado o software SeaView4 para concatenar os genes (GOUY *et al*, 2010). A partir dessas sequências alinhadas e concatenadas, utilizamos o software BEAST para reconstruir árvores ultra métricas. Duas corridas foram executadas com 10 milhões de gerações. Ao término, a convergência das cadeias foi inspecionada visualmente no Tracer 1.5 (DRUMMOND *et al*, 2012), para verificar as suas convergências, atestando que os valores de ESS (*Effective Sample Size*) estivessem acima de 200. Por fim, conseguimos uma árvore consenso 50% de regra majoritária após o *burn-in*. As árvores foram avaliadas no FigTree v1.3.1 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2009).

4.2 Tamanho do genoma

O tamanho do genoma, ou valor C (em picogramas), foram obtidos a partir do conjunto de dados disponível em <http://www.genomesize.com> (GREGORY, 2022). Para os Condrictes, há informações do tamanho do genoma disponíveis para 134 espécies. Para espécies com múltiplos valores de C, foram utilizados valores médios.

4.3 Obtenção de dados ecológicos das espécies

Foram obtidas informações ecológicas sobre espécies que tinham tamanho do genoma conhecido. As variáveis obtidas foram: intervalo de profundidade, idade

máxima das espécies, comprimento máximo e ciclo de vida, no site FishBase <https://www.fishbase.se/search.php> (FROESE; PAULY, 2019). Os dados de ocorrência das espécies foram obtidos do site *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF) <https://www.gbif.org> (YESSON *et al*, 2007). Nós verificamos essas coordenadas georreferenciadas com informações provenientes do site Fishbase, com o intuito de descartar pontos duplicados e coordenadas errôneas. A distribuição foi plotada usando o software QGIS v. 2.18 (QGIS Development Team, 2014).

Para testar a hipótese adaptativa para o tamanho do genoma, dados climáticos de variáveis marinhas que envolvem amplitude de nicho (temperatura e salinidade), foram extraídas no site Bio-Oracle (*Ocean Rasters for Analysis of Climate and Environment*) (<http://www.bio-oracle.org/explore-data.php>) (TYBERGHEIN *et al*, 2012). Tais variáveis foram coletadas em pixels de tamanho de grid de 5 arcmin (c. 9,2 km²), para o período presente. Selecionamos os arquivos das camadas dos valores médios, tanto para a superfície, quanto para a profundidade média de cada ponto georreferenciado por registro de cada espécie. Ao fim, obtivemos a amplitude dessas variáveis subtraindo o valor máximo do valor mínimo de cada uma das variáveis (OLALLA-TARRAGA *et al*, 2015).

4.4 Métodos Filogenéticos Comparativos

Levando em consideração as relações filogenéticas, analisamos a relação entre o GS, os traços ecológicos e ambientais das espécies, entre os quais verificamos os seguintes fatores abióticos: amplitude da temperatura, amplitude da salinidade da superfície e da profundidade média. Esses traços avaliados são comumente relacionados com fatores ecológicos limitantes de distribuição (HULTGREN *et al*, 2018).

As correlações potenciais entre o tamanho do genoma, os fatores ecológicos e ambientais foram avaliados através de mínimos quadrados generalizados filogenéticos, ou PGLS (*Phylogenetic Generalized Least Squares*), que incorpora informações filogenéticas por meio de uma matriz de comprimento de ramificação (GRAFEN, 1989). Para esta, utilizamos a função `pgls`, com o pacote `Caper` no R 3.6.0 (ORME *et al*, 2013). Como a normalidade não foi uma suposição para as análises de correlação de Pearson e como várias transformações (por exemplo, raiz quadrada ou

log) não melhoraram a assimetria dos dados de tamanho do genoma, usamos dados não transformados para todas as análises. O software Mesquite (FREITAG, 2002) também foi utilizado para reconstrução ancestral do tamanho do genoma e das estratégias reprodutivas das espécies de condrictes. O software CorelDRAW versão X7 foi usado para plotar edição das imagens.

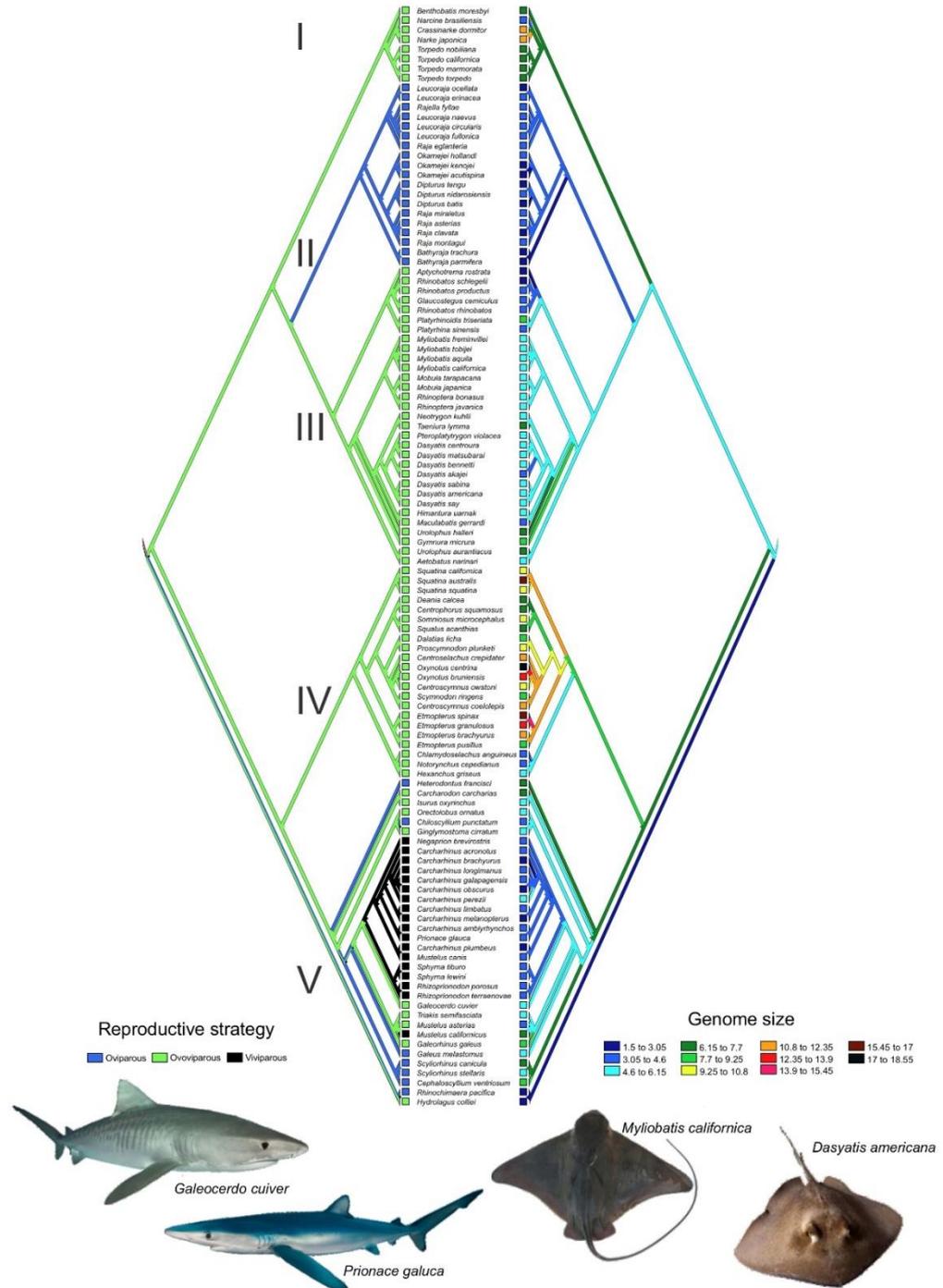
5 RESULTADOS

No total, avaliamos o tamanho do genoma de 114 espécies de condrictes, representando cerca de 10% da diversidade específica até agora catalogada. Tais espécies são pertencentes a 13 ordens (sete ordens de tubarões, quatro de arraias e duas de quimeras), e 38 famílias (20 famílias de tubarões, 16 de arraias e duas de quimeras). O tamanho do genoma demonstrou uma amplitude de 16,45 vezes, com o maior valor C alcançando 17,0 pg, para *Oxynotus centrina* (tubarão-áspero-angular), e o menor correspondendo a 1,55 pg, para *Hydrolagus collie* (quimera).

Nossas análises filogenéticas revelaram a presença de cinco clados bem suportados, com probabilidade posterior entre 0,9 a 1. O **clado 1** é representado pelas famílias Torpedinidae, Narkidae e Narcinidae. O **clado 2** pelas famílias Rajidae e Arhynchobatidae. Já o **clado 3** é composto pelas seguintes famílias: Aetobatidae, Urolophidae, Dasyatidae, Myliobatidae, Mobulidae, Gymnuridae, Rhinopterae, Rhinobatidae, Glaucostegidae, Trygonorrhinidae e Platyrrhinidae. O **clado 4**, por sua vez, contém as famílias Squatinidae, Dalatiidae, Centrophoridae, Etmopteridae, Oxynotidae, Somniosidae, Squalidae, Hexanchidae e Chlamydoselachidae. O **clado 5** é composto pelas famílias: Carcharhinidae, Galeocerdonidae, Sphyrnidae, Scyliorhinidae, Pentanchidae, Orectolobidae, Gynglymostomatidae, Hemiscylliidae, Lamnidae, Heterodontidae, Chimaeridae e Triakidae.

Ao avaliar o GS sob uma perspectiva filogenética, verificou-se que ele varia independentemente da sua história evolutiva, ou seja, grupos próximos filogeneticamente apresentaram GS díspares. Por exemplo, no caso do clado 4, que tem uma variação máxima de 13,95 no valor C entre as espécies que o compõem. Esse fato é notável entre as espécies *Centroselachus crepidater* (valor C de 12.29 pg) e *Oxynotus centrina* (valor C de 17 pg), que mesmo sendo próximos filogeneticamente, pertencendo à ordem Squaliformes, apresentam variação de 4,71 em relação ao valor C. Para mais detalhes ver a figura 1. De fato, o K de Bloomberg revelou que não houve sinal filogenético entre a variação do GS e sua trajetória filogenética ($K = 0,5$; p-value: 0,72). Dessa forma, não há estrutura filogenética para a variação no tamanho do genoma em condrictes. Espécies estreitamente relacionadas têm tamanhos de genomas diferentes e espécies distantemente relacionadas podem conter tamanhos de genoma semelhantes.

Figura 1 - Relações filogenéticas entre as espécies de condrictes aqui avaliadas, considerando o tamanho do genoma e as estratégias reprodutivas de cada uma delas



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Visando avaliar quais fatores afetam a variação do GS, nossas análises por meio de métodos filogenéticos comparativos revelaram que os fatores abióticos (amplitude de temperatura e salinidade) e bióticos (estratégia reprodutiva) afetam o GS. Das cinco variáveis utilizadas de forma independente (amplitude de temperatura, salinidade da superfície, amplitude de salinidade, temperatura de profundidade e estratégia reprodutiva), assim como associadas, apenas salinidade de superfície + temperatura demonstraram estar significativamente associadas à variação do GS ($p < 0.03$, $r^2 = 0.061$), ou seja, as amplitudes térmicas e osmóticas de superfície. Além disso, a estratégia reprodutiva das espécies também mostrou uma forte associação com a variação do tamanho do genoma ($p < 0.007$, $r^2 = 0.063$). Como podemos observar na tabela 1. Ao avaliar os nossos dados vemos que as espécies com os maiores genomas são os ovovíparos.

Tabela 1 - Resultados dos mínimos quadrados generalizados filogenéticos entre o tamanho do genoma com variáveis bióticas e abióticas envolvendo as espécies de condrictes avaliadas no presente estudo

TRAÇOS	p-value	r2	λ
Amplitude Temperatura de Superfície	0.3981	0.006385	0.900
Amplitude Temperatura de Profundidade	0.7211	0.001143	0.904
Amplitude Salinidade de Superfície	0.1133	0.022224	0.918
Amplitude Salinidade de Profundidade	0.9152	0.0001016	0.904
Ciclo de vida reprodutivo	0.007146	0.06283	0.909
Salinidade de prof + Temperatura de prof	0.9376	0.001116	0.903
Salinidade de sup + Temperatura de sup	0.03015	0.06114	0.930

Prof (Profundidade), sup (Superfície). Os melhores modelos são mostrados em negrito. r^2 =Múltiplo R-quadrado. λ = Lambda

Fonte: elaborada pelo autor (2023).

6 DISCUSSÃO

Nossos dados em um contexto filogenético revelaram que múltiplos fatores afetam a variação do tamanho do genoma nos condrictes. Dentre tais fatores estão variáveis abióticas (amplitude de temperatura e salinidade) e biótica (estratégia reprodutiva). Variações no GS muitas vezes podem estar atreladas à expansão e contração do número de sequências repetitivas distribuídas pelo genoma (GUO *et al*, 2010; CANAPA *et al*, 2015; CARDUCCI *et al*, 2019). Atualmente, as evidências indicam que quando ocorrem expansões genômicas, o material genético é dividido em ilhas gênicas. Além disso, sabe-se também que tais regiões do genoma são espaçadas por extensos oceanos de DNA com repetições, que não codificam proteínas, sendo ainda influenciados pela metilação do DNA (GOTTIEB *et al*, 2013). No tubarão branco por exemplo, mais da metade do seu genoma é representado por sequências repetitivas, incluindo uma grande proporção de elementos transponíveis (TEs, *transposable elements*) (MARRA *et al.*, 2019).

Nos condrictes os dados de conjuntos de genomas totalmente sequenciados e disponíveis restringem-se a poucas espécies, como por exemplo a quimera (*Callorhinchus milii*) (VENKATESH *et al*, 2014), em que TEs compõem 42% do seu genoma total (PAPPALARDO *et al*, 2021). Os elementos LINEs (*Long Interspersed Nuclear Elements*) são os mais frequentes (SHAO; HAN; PENG, 2019). Alterações na quantidade de DNA repetitivo (repetições dispersas e em tandem) são consideradas os principais contribuintes para a variação no GS entre as espécies (VITALES *et al*, 2020). Além disso, processos de poliploidia, deleção, adição ou duplicação de genes podem também afetar o tamanho do genoma dos táxons (PAPPALARDO *et al*, 2021). Portanto, estudar processos moleculares é essencial para a compreensão da natureza e das consequências da variação do GS entre diferentes espécies (KUBIS, 1998).

A associação positiva do GS também afeta a amplitude de temperatura e de salinidade, o que também foi detectado em outros estudos envolvendo tolerâncias térmicas (SANTOS *et al*, 2021; PAPPALARDO *et al*, 2021). A tolerância térmica (calor e frio) de organismos ectotérmicos estão ligadas ao tamanho do genoma (LEIVA *et al*, 2019). Para pomacentrídeos, foi encontrado uma associação positiva com as tolerâncias fisiológicas das espécies, sugerindo uma forte variação no tamanho do genoma, com fatores adaptativos de mudanças de temperatura e salinidade (SANTOS

et al, 2021). Muitos estresses ambientais podem atuar nos transposons e consequentemente, no tamanho do genoma (CANAPA *et al*, 2020). Por exemplo, o baiacu espinhoso comparado com o baiacu liso, tem uma baixa densidade gênica e o genoma rico em elementos repetitivos (GUO *et al*, 2010). Em espécies de nototenóides da Antártica ocorre quebra na regulação epigenética por consequência de mudanças ambientais repetitivas, incluindo choques térmicos. Tal fato pode ter levado a ondas sequenciais de ativação de TEs dentro de seus genomas (AUVINET *et al*, 2018).

A variação do GS pode ser influenciada pela amplitude de nicho térmico (SANTOS *et al*, 2021). De fato, nossos dados revelaram que nos condrictes aqui avaliados, a amplitude de temperatura e salinidade foram afetados pelo tamanho do genoma de forma significativa. Em condrictes, existe uma correlação positiva entre o tamanho do genoma e o volume nuclear e celular. Sabe-se que os maiores valores de GS foram encontrados em espécies que vivem em condições extremas de temperatura, luz, pressão e escassa disponibilidade de alimentos, como mar profundo e/ou frio (STINGO *et al*, 1980; HARDIE; HEBERT, 2003). Deste modo, nossos resultados demonstram que as variações no GS estão relacionadas positivamente com mudanças ambientais, tais como as amplitudes térmicas e osmóticas.

Nossas análises também encontraram uma relação entre o GS e as estratégias reprodutivas das espécies, sendo os maiores genomas e variações de GS detectadas nos ovovivíparos, seguido dos ovíparos e vivíparos. A relação significativa encontrada entre tamanho do genoma e ciclo reprodutivo em condrictes pode indicar uma possível adaptação evolutiva desses organismos em relação à sua reprodução (PARSONS *et al*, 2008). Geralmente, uma possível interpretação é que espécies com genomas maiores possuem maiores custos energéticos para a replicação do DNA, o que pode resultar em uma reprodução mais lenta e/ou menos frequente. Por outro lado, espécies com genomas menores podem ter menor custo energético para a replicação do DNA e, portanto, uma reprodução mais rápida e/ou mais frequente (HARDIE; HEBERT, 2003). Nesse sentido, poderíamos esperar a viviparidade com GS maiores, seguido com ovoviviparidade e oviparidade com genomas menores, o que não foi detectado em nossos resultados.

Todos os condrictes usam fertilização interna e as estratégias reprodutivas que vão desde a oviparidade até a viviparidade placentária (PARSONS *et al*, 2008). No

que diz respeito ao provável modo reprodutivo ancestral para este grupo, alguns autores sugerem a oviparidade, que ocorre em 40% das espécies de condrictes, o modo reprodutivo mais ancestral (DULVY; REYNOLDS, 1997). No entanto, estudos recentes sugerem que a viviparidade é ancestral para todos os condrictes, com muitas reversões para oviparidade e reversões secundárias para viviparidade (NAKAYA *et al*, 2020).

A viviparidade, assim como a oviparidade, tem uma série de vantagens, como o desenvolvimento dentro do trato reprodutivo, que reduz o risco de predação de ovos/embriões; homeostase materna do ambiente embrionário e proteção das perturbações ambientais. Desta forma, permite que os embriões se desenvolvam em recém-nascidos precoces, aumentando a sobrevivência pós-parto, sendo a descendência maior do que a oviparidade (WORMS, 1994). Já a oviparidade é vantajosa como método para aumentar a fecundidade em pequenos elasmobrânquios que possuem espaço limitado na cavidade corporal para cuidado e armazenamento dos embriões (CONRATH; MUSICK, 2012). Nesse contexto, esses processos reprodutivos parecem ter sido conduzidos de forma independente entre as linhagens de condrictes, refletindo diferentes estratégias reprodutivas e grande variação do GS com ausência de sinal filogenético.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossas análises filogenéticas comparativas revelaram as múltiplas facetas bióticas e abióticas que afetam o tamanho do genoma, associadas a amplitude de nicho térmico e osmótico. Além disso, os nossos resultados revelaram que as diferentes estratégias reprodutivas nos condrictes também conduzem a variação no GS. Essas variações possivelmente podem estar associadas ao papel dos elementos transponíveis, uma das principais forças motrizes evolutivas no genoma das espécies. Nesse sentido, nossas descobertas podem traçar alguns caminhos evolutivos que este grupo antigo e diverso experimentou durante a sua trajetória filogenética.

REFERÊNCIAS

- AUVINET, J. *et al.* Mobilization of retrotransposons as a cause of chromosomal diversification and rapid speciation: the case for the Antarctic teleost genus *Trematomus*. **BMC genomics**, v. 19, p. 1-18, 2018. Disponível em: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-018-4714-x>. Acesso em: 12 nov. 2022.
- BAUM, Julia K.; MYERS, Ransom A. Shifting baselines and the decline of pelagic sharks in the Gulf of Mexico. **Ecology Letters**, v. 7, n. 2, p. 135-145, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1461-0248.2003.00564.x>. Acesso em 12 nov. 2022.
- BENNETZEN, Jeffrey L. Mechanisms and rates of genome expansion and contraction in flowering plants. **Genetica**, v. 115, n. 1, p. 29-36, 2002. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1016015913350>. Acesso em 11 set. 2022.
- BOELTER, Jéssica persi. Classe Chondrichthyes Fauna digital do Rio Grande do Sul. 2020. Disponível em: <http://ufrgs.br/faunadigitalrs>. Acesso em: 06 dez. 2021.
- BLOMMAERT, Julie. Genome size evolution: towards new model systems for old questions. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 287, n. 1933, p. 20201441, 2020. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rspb.2020.1441>. Acesso em: 12 nov. 2022.
- CARDUCCI, F. *et al.* Transposable elements in vertebrates: Species evolution and environmental adaptation. **The European Zoological Journal**, v. 86, n. 1, p. 497-503, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/24750263.2019.1695967>. Acesso em 06 dez. 2021.
- CARDUCCI, Federica *et al.* An intriguing relationship between teleost Rex3 retroelement and environmental temperature. **Biology letters**, v. 15, n. 9, p. 20190279, 2019. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rsbl.2019.0279>. Acesso em: 11 set. 2022.
- COMPAGNO, Leonard JV. Alternative life-history styles of cartilaginous fishes in time and space. **Environmental Biology of Fishes**, v. 28, n. 1, p. 33-75, 1990. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00751027>. Acesso em 11 set. 2022.
- COMPAGNO, L. J. V.; LAST, P. R. Narkidae. Sleeper rays. FAO identification guide for fishery purposes. **The living marine resources of the Western Central Pacific, FAO, Rome**, p. 1443-1446, 1999. Disponível em: <http://www.bioline.org.br/abstract?sm07003>. Acesso em: 11 set. 2022.

CAMHI, Merry. Sharks and their relatives: **ecology and conservation**. IUCN, 1998. <https://books.google.com.br>. Acesso em 12 dez. 2022.

CANAPA, Adriana et al. Transposons, genome size, and evolutionary insights in animals. **Cytogenetic and genome research**, v. 147, n. 4, p. 217-239, 2015. Disponível em: <https://karger.com/cgr/article/147/4/217/61733/Transposons-Genome-Size-and-Evolutionary-Insights>. Acesso em 13 dez. 2022.

CANAPA, A. et al. Shedding light upon the complex net of genome size, genome composition and environment in chordates. **The European Zoological Journal**, v. 87, n. 1, p. 192-202, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/24750263.2020.1747558>. Acesso em 16 out. 2022.

CONRATH, Christina L.; MUSICK, John A. Reproductive biology of elasmobranchs. **Biology of sharks and their relatives**, v. 2, p. 291-311, 2012. Disponível em: <https://books.google.com.br>. Acesso em: 16 out. 2022.

COSTA, A. M.; MARTINS, C. Estrutura e evolução dos genomas. 2010. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/897774>. Acesso em: 12 dez. 2022.

CORTÉS, Enric. Life history patterns and correlations in sharks. **Reviews in Fisheries Science**, v. 8, n. 4, p. 299-344, 2000. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408340308951115>. Acesso em: 11 set. 2022.

DEL MAR OCHOA-SALOMA, Constanza et al. Establishing genome sizes of focal fishery and aquaculture species along Baja California, Mexico. **Conservation genetics resources**, v. 12, n. 2, p. 301-309, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12686-019-01105-y>. Acesso em: 11 set. 2022.

DOMINGUES, Rodrigo Rodrigues. Conectividade genética, filogeografia e conservação de tubarões pelágicos no Oceano Atlântico ocidental. 2016. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/151471>. Acesso em: 12 dez. 2022.

DRUMOND, A.J., et al 2012. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* 29, 1969–1973. Disponível em: <https://academic.oup.com/mbe/article/29/8/1969/1044583?login=false>. Acesso em 11 set. 2022.

DUDGEON, Christine L. et al. A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. **Journal of fish biology**, v. 80, n. 5, p. 1789-1843, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1095-8649.2012.03265.x>. Acesso em: 12 dez. 2022.

DULVY, Nicholas K.; REYNOLDS, John D. Evolutionary transitions among egg-laying, live-bearing and maternal inputs in sharks and rays. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 264, n. 1386, p. 1309-1315, 1997. Disponível em:

<https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rspb.1997.0181>. Acesso em: 11 set. 2022.

DULVY, Nicholas K. et al. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. **eLife**, v. 3, p. e00590, 2014. Disponível em:

<https://elifesciences.org/articles/590>. Acesso em: 11 Set. 2022.

EDDY, Sean R. The C-value paradox, junk DNA and ENCODE. **Current biology**, v. 22, n. 21, p. R898-R899, 2012. Disponível em: cell.com. Acesso em :12 dez. 2022.

ELLIOTT, Tyler A.; GREGORY, T. Ryan. What's in a genome? The C-value enigma and the evolution of eukaryotic genome content. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1678, p. 20140331, 2015.

Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rstb.2014.0331>. Acesso em: 15 Jun. 2022.

FELDHEIM, Kevin A.; GRUBER, Samuel H.; ASHLEY, Mary V. Multiple paternity of a lemon shark litter (Chondrichthyes: Carcharhinidae). **Copeia**, v. 2001, n. 3, p. 781-786, 2001. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/copeia/article-abstract/2001/3/781/258432/Multiple-Paternity-of-a-Lemon-Shark-Litter>. Acesso em: 12 dez. 2022.

FREITAG, Lori et al. **MESQUITE design: issues in the development of a mesh quality improvement toolkit**. Argonne National Lab., IL (US), 2002. Disponível em: osti.gov. Acesso em: 12 dez. 2022.

FROESE, R. PAULY, D.2019. FishBase [WWW Document]. World Wide Web Electron. Publ. Disponível em: www.fishbase.org. Acesso em: 26 set. 2022.

FERREIRA, MÁRCIO ELIAS; MORETZSOHN, M. de C.; BUSO, GLÁUCIA SALLES CORTOPASSI. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. **Recursos Genéticos Vegetais. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, v. 1, p. 377-420, 2007. Disponível em: researchgate.net. Acesso em: 11 set. 2022.

GOTTLIEB, Andrea et al. Insular organization of gene space in grass genomes. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e54101, 2013. Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0054101>. Acesso em: 10 dez. 2022.

GOUY, Manolo; GUINDON, Stéphane; GASCUEL, Olivier. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. **Molecular biology and evolution**, v. 27, n. 2, p. 221-224, 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/mbe/article/27/2/221/970247?login=false>. Acesso em: 10 dez. 2022.

GRAFEN, Alan. The phylogenetic regression. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences**, v. 326, n. 1233, p. 119-157, 1989. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rstb.1989.0106>. Acesso em: 12 dez. 2022.

GREGORY, T. Ryan. A bird's-eye view of the C-value enigma: genome size, cell size, and metabolic rate in the class Aves. **Evolution**, v. 56, n. 1, p. 121-130, 2002. Disponível em: <https://academic.oup.com/evolut/article-abstract/56/1/121/6755386?login=false>. Acesso em: 10 dez. 2022.

GREGORY, T. Ryan. Macroevolution, hierarchy theory, and the C-value enigma. **Paleobiology**, v. 30, n. 2, p. 179-202, 2004. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/paleobiology/article/abs/macroevolution-hierarchy-theory-and-the-cvalue-enigma/773271D20910C461DC435C4E525CD5D2>. Acesso em: 10 dez. 2022.

GREGORY, T. Ryan. Genome size evolution in animals. In: **The evolution of the genome**. Academic Press, 2005. p. 3-87. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123014634500036>. Acesso em: 12 dez. 2022.

GREGORY, T. RYAN. 2019. Animal Genome Size Database [WWW Document]. Disponível em: <http://www.genomesize.com>. Acesso em: 8 Set. 2021.

GUO, Baocheng et al. Genome size evolution in pufferfish: an insight from BAC clone-based *Diodon holocanthus* genome sequencing. **BMC genomics**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2010. Disponível em: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-11-396>. Acesso em: 10 dez. 2022.

GURKOV, Anton et al. Indication of ongoing amphipod speciation in Lake Baikal by genetic structures within endemic species. **BMC evolutionary biology**, v. 19, n. 1, p. 1-16, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12862-019-1470-8>. Acesso em: 11 set. 2022.

HARDENBERG, Achaz von; GONZALEZ-VOYER, Alejandro. Disentangling evolutionary cause-effect relationships with phylogenetic confirmatory path analysis. **Evolution**, v. 67, n. 2, p. 378-387, 2013. Disponível em: <https://academic.oup.com/evolut/article-abstract/67/2/378/6881587?login=false>. Acesso em: 10 dez. 2022.

HARDIE, David C.; HEBERT, Paul DN. The nucleotypic effects of cellular DNA content in cartilaginous and ray-finned fishes. **Genome**, v. 46, n. 4, p. 683-706, 2003. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/g03-040>. Acesso em: set. 2022.

HARDIE, David C.; HEBERT, Paul DN. Genome-size evolution in fishes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 61, n. 9, p. 1636-1646, 2004. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/f04-106>. Acesso em: 12 dez. 2022.

HESSEN, Dag O.; DAUFRESNE, Martin; LEINAAS, Hans P. Temperature-size relations from the cellular-genomic perspective. **Biological Reviews**, v. 88, n. 2, p. 476-489, 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/brv.12006>. Acesso em: 8 Set. 2021.

HENRIQUES, Ana C et al. TUBARÕES E RAIAS GUARDIÕES DO OCEANO EM CRISE. Associação Natureza Portugal , [S. l.], p. 1-84, 5 abr. 2021. Disponível em: https://wwfeu.awsassets.panda.org/downloads/relatorio__tubaroes_e_raias_guardioes_do_oceano_em_crise.pdf. Acesso em: 11 set. 2022.

HINEGARDNER, Ralph. Evolution of cellular DNA content in teleost fishes. **The American Naturalist**, v. 102, n. 928, p. 517-523, 1968. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/282564>. Acesso em: 10 dez. 2022.

HINEGARDNER, Ralph; ROSEN, Donn Eric. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. **The American Naturalist**, v. 106, n. 951, p. 621-644, 1972. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/282801>. Acesso em 10 dez. 2022.

HULTGREN, K. M. et al. Latitudinal variation in genome size in crustaceans. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 123, n. 2, p. 348-359, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/biolinnean/article/123/2/348/4810469?login=false>. Acesso em: 12 dez. 2022.

INOUE, Jun G. et al. Evolutionary origin and phylogeny of the modern holocephalans (Chondrichthyes: Chimaeriformes): a mitogenomic perspective. **Molecular biology and evolution**, v. 27, n. 11, p. 2576-2586, 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/mbe/article/27/11/2576/1121974?login=false>. Acesso em: 11 set. 2022.

JEFFERY, Nicholas W.; YAMPOLSKY, Lev; GREGORY, T. Ryan. Nuclear DNA content correlates with depth, body size, and diversification rate in amphipod crustaceans from ancient Lake Baikal, Rússia. **Genome**, v. 60, n. 4, p. 303-309, 2017. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/gen-2016-0128>. Acesso em: 22 jun. 2022.

JOHRI, Shaili et al. Taking advantage of the genomics revolution for monitoring and conservation of chondrichthyan populations. **Diversity**, v. 11, n. 4, p. 49, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-2818/11/4/49>. Acesso em: 15 ago. 2022.

JUNGE, Claudia et al. Comparative population genomics confirms little population structure in two commercially targeted carcharhinid sharks. **Marine Biology**, v. 166, n. 2, p. 1-15, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00227-018-3454-4>. Acesso em: 22 jun. 2022.

KURAKU, Shigehiro. Shark and ray genomics for disentangling their morphological diversity and vertebrate evolution. **Developmental Biology**, v. 477, p. 262-272, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012160621001433>. Acesso em: 10 dez. 2022.

KOUSTENI, V.; Megalofonou, P. Aging and life history characteristics of the longnosed spiny dogfish in the Mediterranean: New insights into conservation and management needs. *Fish. Res.* 2015, 168, 6–19. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165783615001046>. Acesso em: 22 jun. 2022.

KOUSTENI, V.; Megalofonou, P. Estratégia reprodutiva de *Scyliorhinus canicula* (L., 1758): Uma abordagem holística baseada em medições macroscópicas e observações microscópicas dos órgãos reprodutivos. *Mar. Freshwater Res.* 2019, 71, 596–616. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165783615001046>. Acesso em: 22 jun. 2022.

KUBIS, Sybille; SCHMIDT, Thomas; HESLOP-HARRISON, John Seymour PAT. Repetitive DNA elements as a major component of plant genomes. **Annals of Botany**, v. 82, p. 45-55, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030573649890779X>. Acesso em: 15 ago. 2022.

LEIVA, Félix P.; CALOSI, Piero; VERBERK, Wilco CEP. Scaling of thermal tolerance with body mass and genome size in ectotherms: a comparison between water-and air-breathers. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 374, n. 1778, p. 20190035, 2019. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rstb.2019.0035>. Acesso em: 15 ago. 2022.

LIMA, L.B. CRUZ, B.S. Resumo sobre reprodução dos elasmobrânquios.. *Webartigos*, [S. l.], p. 1-2, 22 maio 2011. Disponível em: <https://www.webartigos.com/artigos/resumo-sobre-reproducao-dos-elasmobranquios/66734>. Acesso em: 6 dez. 2021.

LIU, Kwang-Ming et al. Multi-model approach on growth estimation and association with life history trait for elasmobranchs. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, p. 591692, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2021.591692/full>. Acesso em: 15 ago. 2022.

LYNCH, Michael. Revolução genômica. *Pesquisa fapesp*, [S. l.], p. 1-2, 4 ago. 2008. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/michael-lynch/>. Acesso em: 6 dez. 2021.

MANIRE, CHARLES A.; GRUBER, SAMUEL H. A preliminary estimate of natural mortality of age-0 lemon sharks, *Negaprion brevirostris*. **NOAA technical report**

NMFS, v. 115, p. 65-71, 1993. Disponível em: Ver em repository.library.noaa.gov. Acesso em: 15 ago. 2022.

MARRA, Nicholas J. et al. White shark genome reveals ancient elasmobranch adaptations associated with wound healing and the maintenance of genome stability. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 10, p. 4446-4455, 2019. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1819778116>. Acesso em: 15 ago. 2022.

MATICH, Philip; HEITHAUS, Michael R.; LAYMAN, Craig A. Contrasting patterns of individual specialization and trophic coupling in two marine apex predators. **Journal of Animal Ecology**, v. 80, n. 1, p. 294-305, 2011. Disponível em: Ver em besjournals.onlinelibrary.wiley.com. Acesso em: 6 dez. 2021.

MEYERSON, Laura A. et al. Plant genome size influences stress tolerance of invasive and native plants via plasticity. **Ecosphere**, v. 11, n. 5, p. e03145, 2020. Disponível em: <https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ecs2.3145>. Acesso em: 10 dez. 2022.

MUSICK, John A.; ELLIS, Julia K.; HAMLETT, W. Reproductive evolution of chondrichthyans. HAMLETT, WC, Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyes, sharks, batoids and chimaeras, p. 45-71, 2005. NAKAYA, Kazuhiro; WHITE, William T.; HO, Hsuan-Ching. Discovery of a new mode of oviparous reproduction in sharks and its evolutionary implications. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 12280, 2020. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=5WC1DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA45&dq=info:-GAucNkfY4cJ:scholar.google.com/&ots=kCtOMgvxPE&sig=pfvgsHufp6GEsjuZDFdAsYh9g_c#v=onepage&q&f=false. Acesso em 12 dez. 2022.

JEFFERY, Nicholas W.; YAMPOLSKY, Lev; GREGORY, T. Ryan. Nuclear DNA content correlates with depth, body size, and diversification rate in amphipod crustaceans from ancient Lake Baikal, Russia. **Genome**, v. 60, n. 4, p. 303-309, 2017. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/gen-2016-0128>. Acesso em: 22 jun. 2022.

OLALLA-TÁRRAGA, Miguel Á. et al. Phylogenetic path analysis reveals the importance of niche-related biological traits on geographic range size in mammals. **Global Change Biology**, v. 21, n. 9, p. 3194-3196, 2015. Disponível em: Ver em academia.edu. Acesso em: 10 out. 2022.

ORME, David et al. The caper package: comparative analysis of phylogenetics and evolution in R. **R package version**, v. 5, n. 2, p. 1-36, 2013. Disponível em: Ver em [cran.stat.unipd.it](https://cran.r-project.org/web/packages/caper/index.html). Acesso em: 12 dez. 2022.

PANKHURST, Ned W.; MUNDAY, Philip L. Effects of climate change on fish reproduction and early life history stages. **Marine and Freshwater Research**, v. 62, n. 9, p. 1015-1026, 2011. Disponível em: <https://www.publish.csiro.au/MF/mf10269>. Acesso em: 10 dez. 2022.

PAPPALARDO, Anna Maria et al. Transposable elements and stress in vertebrates: An overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1970, 2021. Disponível em: [Ver em mdpi.com](https://www.mdpi.com). Acesso em: 15 ago. 2022.

PARSONS, Glenn R. et al. A review of shark reproductive ecology: life history and evolutionary implications. **Fish reproduction**, p. 435-469, 2008. Disponível em: [academia.edu](https://www.academia.edu). Acesso em: 18 dez. 2022.

PELLICER, Jaume et al. Genome size diversity and its impact on the evolution of land plants. **Genes**, v. 9, n. 2, p. 88, 2018. Disponível em: [mdpi.com](https://www.mdpi.com). Acesso em: 6 dez. 2021.

PEARCE, Jessica et al. State of shark and ray genomics in an era of extinction. **Frontiers in Marine Science**, v. 8, p. 744986, 2021. Disponível em: [mdpi.com](https://www.mdpi.com). Acesso em: 6 dez. 2021.

PETROV, Dmitri A. Evolution of genome size: new approaches to an old problem. **TRENDS in Genetics**, v. 17, n. 1, p. 23-28, 2001. Disponível em: [sciencedirect.com](https://www.sciencedirect.com). Acesso em: 15 ago. 2022.

PUTTICK, Mark N.; CLARK, James; DONOGHUE, Philip CJ. Size is not everything: rates of genome size evolution, not C-value, correlate with speciation in angiosperms. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1820, p. 20152289, 2015. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rspb.2015.2289>. Acesso em: 10 dez. 2022.

RAMBAUT, A., DRUMMOND, A.J., 2009. FigTree version 1.3. 1 [computer program]. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em: 08 out. 2021.

RODRIGUEZ, Pablo Emanuel del Valle. **Gradiente latitudinal de tamanho do genoma em Cactaceae: análise de representantes das subfamílias Cactoideae, Pereskioideae e Opuntioideae**. 2020. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/38472>. Acesso em: 10 out. 2022.

SCLAVI, Bianca; HERRICK, John. Genome size variation and species diversity in salamanders. **Journal of evolutionary biology**, v. 32, n. 3, p. 278-286, 2019. Disponível em: onlinelibrary.wiley.com. Acesso em: 15 ago. 2022.

SHAO, Feng; HAN, Minjin; PENG, Zuogang. Evolution and diversity of transposable elements in fish genomes. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-51888-1>. Acesso em: 10 dez. 2022.

SOUZA, Gustavo et al. Do tropical plants have smaller genomes? Correlation between genome size and climatic variables in the Caesalpinia Group (Caesalpinioideae, Leguminosae). **Perspectives in plant ecology, evolution and systematics**, v. 38, p. 13-23, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1433831918301616>. Acesso em: 12 dez. 2022.

- SIENA, Adamo D. O lado negro do genoma. [S. l.], 1 out. 2015. Disponível em: <http://ead.hemocentro.fmrp.usp.br/joomla/index.php/noticias/adotepauta/675-o-lado-negro-do-genoma>. Acesso em: 11 nov. 2021.
- STINGO, Vincenzo; DU BUIT, Marie-Henriette; ODIERNA, Gaetano. Genome size of some selachian fishes. **Italian Journal of Zoology**, v. 47, n. 1-2, p. 129-137, 1980. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/11250008009440330>. Acesso em: 15 ago. 2022.
- STINGO, V.; ROCCO, L. Selachian cytogenetics: a review. **Genetica**, v. 111, n. 1, p. 329-347, 2001. Disponível em: link.springer.com. Acesso em: 8 Out. 2022.
- TAMURA, Koichiro et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013. Disponível em: <https://academic.oup.com/mbe/article/30/12/2725/1017851?login=false>. Acesso em: 12 dez. 2022.
- TORRES , Tatiana T. Para genomas, tamanho e documentos?. [S. l.], 6 fev. 2018. Disponível em: <https://darwinianas.com/2018/02/06/para-genomas-tamanho-e-documento/>. Acesso em: 6 nov. 2021.
- TYBERGHEIN, Lennert et al. Bio-ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling. **Global ecology and biogeography**, v. 21, n. 2, p. 272-281, 2012. Disponível em: onlinelibrary.wiley.com. Acesso em: 10 dez. 2022.
- VAN DER BIJL, Wouter. phylopath: Easy phylogenetic path analysis in R. **PeerJ**, v. 6, p. e4718, 2018. Disponível em: <https://peerj.com/articles/4718/>. Acesso em: 8 out. 2022.
- VITALES, Daniel et al. Genome size variation at constant chromosome number is not correlated with repetitive DNA dynamism in *Anacyclus* (Asteraceae). **Annals of Botany**, v. 125, n. 4, p. 611-623, 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/aob/article/125/4/611/5614520?login=false>. Acesso em: 15 ago. 2022.
- WANG, Dandan et al. Which factors contribute most to genome size variation within angiosperms?. **Ecology and evolution**, v. 11, n. 6, p. 2660-2668, 2021. Disponível em: onlinelibrary.wiley.com. Acesso em: 8 out. 2022.
- WEBER, Jessica A. et al. The whale shark genome reveals how genomic and physiological properties scale with body size. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 34, p. 20662-20671, 2020. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1922576117>. Acesso em: 12 dez. 2022.
- WOURMS, John P. The challenges of piscine viviparity. **Israel Journal of Ecology and Evolution**, v. 40, n. 3-4, p. 551-568, 1994. Disponível em: https://brill.com/view/journals/ijee/40/3-4/article-p551_19.xml. Acesso em: 8 out. 2022.

WRIGHT, Natalie A.; GREGORY, T. Ryan; WITT, Christopher C. Metabolic 'engines' of flight drive genome size reduction in birds. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1779, p. 20132780, 2014. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rspb.2013.2780>. Acesso em: 8 out. 2022.

XIA, Xuhua. Body temperature, rate of biosynthesis, and evolution of genome size. **Molecular Biology and Evolution**, v. 12, n. 5, p. 834-842, 1995. Disponível em: academic.oup.com. Acesso em: 12 ago. 2022.

YESSON, Chris et al. How global is the global biodiversity information facility?. **PloS one**, v. 2, n. 11, p. e1124, 2007. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0001124>. Acesso em: 10 dez. 2022.