

**Additional file 2.** NTS class I and NTS class II nucleotide sequences from the stingray species included in this study. (a) Nucleotide sequence alignment of short NTS repetitions of class I; (b) partial nucleotide sequence alignments of long NTS repetitions of class II obtained from the stingrays genome. Species are referred to as follows: Pfalkneri = *Potamotrygon falkneri*, Pmotoro = *P. motoro*, Paireba = *Paratrygon aiereba*. Dots represent conserved nucleotides and hyphens report indels. The microrepetition TCCC expanded in the *P. aiereba* genome is indicated in gray shading. Dots represent conserved bases and hyphens report indels.

**a)**

|             |            |            |            |            |            |            |            |            |
|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Pmotoro11   | TTACTGCCAG | CAGGGGCTGC | CCACCAGGCA | GGCTGCGGGC | AGTGCCGGCC | CCGAGGCAGC | CAACCTTTTG | GCCGGAGGGA |
| Pmotoro12   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro13   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro14   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro15   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro16   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri21 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri22 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri23 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri24 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri25 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri26 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Paireba31   | ..G.....   | .....      | .....      | .....      | ..A.....   | .....      | .....      | .....      |
| Paireba32   | ..G.....   | .....      | .....      | .....      | ..A.....   | .....      | .....      | .....      |
|             |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Pmotoro11   | GGCTGAGGGA | CTTTGCTGTG | TGCTCTCTGG | GAGATGTGCT | TGTGGCAAGA | TCGACCCGGA | AGCGCCAAGC | GCACCATCTG |
| Pmotoro12   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro13   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro14   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro15   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro16   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri21 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri22 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri23 | .....      | .....      | .....      | .....      | ..G.....   | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri24 | .....      | .....      | .....      | .....      | ..G.....   | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri25 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri26 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Paireba31   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Paireba32   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
|             |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Pmotoro11   | TGCTGCCAGC | AATATCCACC | AACAAGTGCC | CAGCGCAGGA | TCTCTGGTGT | GTCAATGGGG | TTGACCCCAA | ACACTACGTC |
| Pmotoro12   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro13   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro14   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro15   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro16   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri21 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri22 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri23 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri24 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri25 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri26 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Paireba31   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | ..C..A     | .....      | .....      |
| Paireba32   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | ..C..A     | .....      | .....      |
|             |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Pmotoro11   | AGTGTTCCT  | TCC-----   | -CTCCCTCCG | CCTCTGACCA | AAGCGGAAAG | CCAGGTCCTT | CTGACCCGTC | AGTCTGAATT |
| Pmotoro12   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro13   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro14   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro15   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pmotoro16   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri21 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri22 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri23 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri24 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri25 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Pfalkneri26 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Paireba31   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
| Paireba32   | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      | .....      |
|             |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Pmotoro11   | GGCCAGAAAT | GTGTGCAGAG | ATTGCCTATG | GCCATACTAG | CCTGAATCG  | 359        |            |            |
| Pmotoro12   | .....      | ..A.....   | .....      | .....      | .....      | 358        |            |            |

|             |             |                |             |             |             |     |
|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-----|
| Pmotoro13   | .....       | .....          | .....       | .....       | .....       | 361 |
| Pmotoro14   | .....A..... | .....          | .....       | .....       | .....       | 360 |
| Pmotoro15   | .....A..... | .....          | .....       | .....A..... | .....       | 359 |
| Pmotoro16   | .....A..... | .....          | .....       | .....A..... | .....       | 344 |
| Pfalkneri21 | .....G..... | .....A.....    | .....       | .....       | .....A..... | 360 |
| Pfalkneri22 | .....G..... | .....A.....    | .....       | .....       | .....A..... | 361 |
| Pfalkneri23 | .....       | .....          | .....       | .....       | .....       | 356 |
| Pfalkneri24 | .....A..... | .....          | .....       | .....       | .....       | 360 |
| Pfalkneri25 | .....       | .....          | .....       | .....       | .....       | 361 |
| Pfalkneri26 | .....A..... | .....          | .....       | .....       | .....       | 358 |
| Paiereba31  | .....G..... | .....G..GC..   | .....G..... | .....       | .....       | 369 |
| Paiereba32  | .....G..... | .....A.G..GC.. | .....G..... | .....A..... | .....       | 366 |

b)

|             |             |             |                |                   |                   |                   |              |                   |
|-------------|-------------|-------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------|-------------------|
| Pfalkneri01 | TTGCTGTT-T  | TGCTGCTGCT  | GCTGTTGCTG     | CTGCTGCCG-        | -----CA           | CTGAACAGAT        | GTCCGCGAGTA  | GGAGCTGCTC        |
| Pfalkneri02 | .....A-     | .....       | .....C.....    | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pfalkneri03 | .....-      | .....       | .....C.....    | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro01   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro02   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro03   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro04   | .....       | .....A..... | .....C..T..    | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro05   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro06   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Paiereba01  | .....C.GC   | .....       | .....          | .....             | .....C.T          | .....             | .....        | .....             |
| Paiereba02  | .....G.GC   | .....       | .....C.....    | .....             | .....C.T          | .....             | .....G.....  | .....A..          |
| Paiereba03  | .....C.GC   | .....       | .....          | .....             | .....C.T          | .....             | .....        | .....             |
| Paiereba04  | .....C.GC   | .....       | .....C.....    | .....T.C          | TGCTGCTC.T        | .....             | .....        | .....             |
| Paiereba05  | .....C.-C   | .....       | .....          | .....             | -GCTGCTC.T        | .....             | .....        | .....             |
| Pfalkneri01 | TCTTCTTTTC  | AGTCCGACTC  | TGACATACAC     | TGTCGGCACT        | GCGCTGCTCA        | ATCAGCCCAG        | AAACGCAGGC   | ACCCGGCTCC        |
| Pfalkneri02 | .....       | .....       | .....          | .....             | .....T.....       | .....C.....T..... | .....A.....  | .....             |
| Pfalkneri03 | .....       | .....       | .....          | .....             | .....T.....T..... | .....C.....       | .....A.....  | .....             |
| Pmotoro01   | .....T..A.. | .....C..... | G.....         | .....C.....       | .....T.....T..... | .....C.....       | .....A.....  | .....             |
| Pmotoro02   | .....T..... | .....C..... | G.....         | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....       | .....A.....  | .....             |
| Pmotoro03   | .....T..... | .....C..... | G.....         | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....       | .....A.....  | .....             |
| Pmotoro04   | .....T..... | .....C..... | G.....         | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....       | .....A.....  | .....             |
| Pmotoro05   | .....T..... | .....C..... | G.....         | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....       | .....A.....  | .....             |
| Pmotoro06   | .....T..... | .....C..... | G.....         | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....       | .....A.....  | .....             |
| Paiereba01  | .....       | .....C..... | .....G.....    | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....       | .....A.....  | .....T.....       |
| Paiereba02  | .....A..... | .....C..... | .....          | .....C.....       | .....A.....T..... | .....C.....       | .....A.....  | .....T.....       |
| Paiereba03  | .....       | .....C..... | .....          | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....A..... | .....A.....  | .....?.T.....     |
| Paiereba04  | .....       | .....C..... | .....G.....    | .....C.....       | .....T.....       | .....C.....A..... | .....A.....  | .....T.....       |
| Paiereba05  | .....       | .....C..... | .....          | .....C.....A..... | .....T.....       | .....C.....       | .....A.....  | .....T.....       |
| Pfalkneri01 | TGCTGTCAAG  | GCACACGAAT  | ACAAAAATGT     | GCTTTTGCGA        | AGCAGTCAGC        | TGCACCTGCA        | GCATTATCCG   | TTGTAATTGC        |
| Pfalkneri02 | .....       | .....       | .....          | .....A.....       | .....             | .....             | .....A.....  | .....C.....       |
| Pfalkneri03 | .....       | .....       | .....          | .....             | .....             | .....             | .....A.....  | .....C.....       |
| Pmotoro01   | .....       | .....       | .....G.....    | .....             | .....G.....       | .....T.....       | .....C.....  | .....CC.C.....    |
| Pmotoro02   | .....       | .....G..... | .....G.....    | .....?            | .....G...C.....   | .....T.....       | .....C..G..  | .....CC.C.....    |
| Pmotoro03   | .....       | .....G..... | .....G.....    | .....             | .....G...C.....   | .....T.....       | .....C..G..  | .....CC.C.....    |
| Pmotoro04   | .....T..... | .....G..... | .....G.....    | .....             | .....G...C.....   | .....T.....       | .....C..G..  | .....CC.C.....    |
| Pmotoro05   | .....       | .....G..... | .....G.....    | .....             | .....G...C.....   | .....T.....       | .....C..G..  | .....CC.C.....    |
| Pmotoro06   | .....       | .....G..... | .....G.....    | .....             | .....G...C.....   | .....T.....       | .....C..G..  | .....CC.C.....    |
| Paiereba01  | .....       | .....G..... | .....G.....    | .....T.....       | .....G.....       | .....T.C.....     | .....GT..... | .....C..C..G..... |
| Paiereba02  | .....       | .....G..... | .....T..G..... | .....T.....       | .....G.....       | .....T.C.....     | .....GT..... | .....C..C..G..... |
| Paiereba03  | .....       | .....G..... | .....G.....    | .....T.....       | .....G.....       | .....T.C.....     | .....AT..... | .....C..C..G..... |
| Paiereba04  | .....       | .....G..... | .....G..A..... | .....T.....       | .....G...C.....   | .....T.....       | .....CT..... | .....C..C..G..... |
| Paiereba05  | .....       | .....G..... | .....T.....    | .....T.....       | .....G.....       | .....T.C.....     | .....GT..... | .....C..C..G..... |
| Pfalkneri01 | TTCTCTCTCC  | TCGCACCACT  | TCAGACGCAC     | GCCCCGCACTC       | GCAACTTGCC        | ACACGCTCTT        | CTTTACCCCTC  | TTTTCTCCAC        |
| Pfalkneri02 | .....       | .....T..... | .....          | .....             | .....T.....       | .....             | .....        | .....             |
| Pfalkneri03 | .....       | .....T..... | .....          | .....             | .....             | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro01   | .....T..... | .....       | .....          | .....             | .....G.....       | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro02   | .....       | .....       | .....G.....    | .....             | .....G.....       | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro03   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....G.....       | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro04   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....T.....       | .....             | .....        | .....G.....       |
| Pmotoro05   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....G.....       | .....             | .....        | .....             |
| Pmotoro06   | .....       | .....       | .....          | .....             | .....G.....       | .....             | .....        | .....             |
| Paiereba01  | .....       | .....       | .....          | .....             | .....A.....       | .....C.....       | .....        | .....             |
| Paiereba02  | .....       | .....       | .....          | .....             | .....A.....       | .....C.....       | .....        | .....             |
| Paiereba03  | .....       | .....       | .....          | .....             | .....A.....       | .....C.....       | .....        | .....             |
| Paiereba04  | .....       | .....       | .....          | .....             | .....A.....       | .....C.....       | .....        | .....             |
| Paiereba05  | .....       | .....       | .....          | .....             | .....A.....       | .....C.....       | .....        | .....             |
| Pfalkneri01 | TCCTCTGCCT  | TCGCCTCCAA  | CTTTGCGCTT     | CCAGCCCCCTT       | -----             | -----CA           | CTCCCCCTCTC  | ACCTGC----        |
| Pfalkneri02 | .....       | .....       | .....          | .....             | -----             | -----             | .....G.....  | -----             |
| Pfalkneri03 | .....       | .....       | .....          | .....             | -----             | -----             | .....        | -----             |
| Pmotoro01   | .....       | .....       | .....          | .....             | CACTCACACC        | CTACCCCTT..       | .....A.....  | -----             |
| Pmotoro02   | .....       | .....       | .....          | .....             | CACTCACACC        | CTACCCCTT..       | .....A.....  | -----             |
| Pmotoro03   | .....       | .....       | .....          | .....             | CACTCACACC        | CTACCCCTT..       | .....A.....  | -----             |
| Pmotoro04   | .....       | .....A..... | .....          | .....             | TAGTCACACC        | CTACCCCTT..       | .....C.....  | -----             |
| Pmotoro05   | .....       | .....       | .....          | .....             | CACTCACACC        | CTACCCCTT..       | .....        | -----             |
| Pmotoro06   | .....       | .....       | .....          | .....             | CACTCACACC        | CTACCCCTT..       | .....        | -----             |

|             |            |            |            |            |             |            |            |
|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|
| Paiereba01  | .....      | .....      | .....      | CACTCACATC | CTACCCTA..  | .C.TT....  | C...CTAACT |
| Paiereba02  | .....      | T.....     | .....      | CACTCACATT | CTACCCTA..  | .C.TT....  | C...CTAACT |
| Paiereba03  | .....      | .....      | .....      | CACTCACATC | CTACCCTA..  | .C.TT....  | C...CTAACT |
| Paiereba04  | .....      | .....      | .....      | CACTCACATC | CTACCCTA..  | .C.TT....  | C...CTAACT |
| Paiereba05  | .....      | .....      | .....      | CACTCACATC | CTACCCTA..  | .C.TT....  | C...CTAACT |
|             |            |            |            |            |             |            |            |
| Pfalkneri01 | ---CCTCCTC | ACCATGCGCT | GCTTCACCGC | ACTACACTGC | TTGCCGCTCA  | CCATAGCCTA | CACCTCACAA |
| Pfalkneri02 | ---        | .....      | .....      | .....      | .....       | .....      | .....      |
| Pfalkneri03 | ---        | .....      | .....      | T.....     | .....       | .....      | A...       |
| Pmotoro01   | ---        | .....      | T.....     | .....      | .....       | C.....     | .....      |
| Pmotoro02   | ---        | .....      | T.....     | .....      | .....       | G..C       | A.....     |
| Pmotoro03   | ---        | .....      | T.....     | .....      | .....       | C.....     | .....      |
| Pmotoro04   | ---        | .....      | G.....A    | .....      | .....       | C.....     | .....      |
| Pmotoro05   | ---        | .....      | .....      | .....      | .....       | C.....     | .....      |
| Pmotoro06   | ---        | .....      | .....      | .....      | .....       | C.....     | .....      |
| Paiereba01  | TGC.....A  | .....      | .....      | .....      | .....       | T...AC     | .....      |
| Paiereba02  | TGC.....   | .....      | .....      | .....      | .....       | T...AC     | G.....     |
| Paiereba03  | TGC.....   | .....      | TG..       | .....      | .....       | T.T.AC     | G.....     |
| Paiereba04  | TGC.....   | .....      | .....      | .....      | .....       | T...AC     | .....      |
| Paiereba05  | TGC.....   | .....      | .....      | .....      | .....       | T.T.AC     | G.....A... |
|             |            |            |            |            |             |            |            |
| Pfalkneri01 | TGCCTCACAC | GCACACTCAC | TCACTCACAC | ACACACACAC | ACACACACAA  | GCGCGCGCGC | GCACACAAAA |
| Pfalkneri02 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....       | .....      | CGCGCTCACT |
| Pfalkneri03 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....       | .....      | A.....     |
| Pmotoro01   | .....      | .....      | .....      | .....      | AG.G--C     | .....      | A.....     |
| Pmotoro02   | .....      | .....      | .....      | .....      | AG.G--C     | .....      | A.....     |
| Pmotoro03   | .....      | .....      | .....      | .....      | AG.G--C     | .....      | A.....     |
| Pmotoro04   | .....      | A.....     | .....      | .....      | AG.G--C     | .....      | A.....     |
| Pmotoro05   | .....      | .....      | .....      | A          | G--G.G--C   | .....      | A.....     |
| Pmotoro06   | .....      | .....      | .....      | A          | G--G.G--C   | .....      | A.....     |
| Paiereba01  | .T.....-   | -----      | .....T.    | TT.....    | G...GC      | A...A..GA. | A...A...   |
| Paiereba02  | ?T.....-   | -----      | .....      | TT.....    | G...GC      | A...--A.   | A...A...   |
| Paiereba03  | .T.....-   | -----      | .....      | TT.....    | G...GC      | A...--A.   | A...A...   |
| Paiereba04  | .T.....-   | -----      | .....T.    | TT.....    | G...GC      | A...A..A.  | A...A...   |
| Paiereba05  | .T.....-   | -----      | .....T.    | TT.....    | G...GC      | A...A..A.  | A...A...   |
|             |            |            |            |            |             |            |            |
| Pfalkneri01 | CACCTCTAAA | CTGCCCTGAC | AGCCGCTCGA | CTCTCTTTCC | CTT-GATTTCG | CCTTTACACA | CCCTT-CTGG |
| Pfalkneri02 | .....      | .....      | .....      | .....      | .....       | G.....     | .....      |
| Pfalkneri03 | .....      | .....G     | .....      | .....      | .....       | .....      | T.....     |
| Pmotoro01   | .....      | G.....     | G.....     | G.....     | .....       | .....      | C.....     |
| Pmotoro02   | .....      | AG.....    | G.....     | G.....     | .....       | .....      | C.....     |
| Pmotoro03   | .A.....    | .....      | G.....     | G.....     | .....       | .....      | C.....     |
| Pmotoro04   | .....      | A...TG..G  | A.....     | GG..       | .....       | .....      | T.?-G.C    |
| Pmotoro05   | .....      | G.....     | G.....     | G.....     | G.....      | .....      | T...C      |
| Pmotoro06   | .....      | G.....     | G.....     | G.....     | G.....      | .....      | .....      |
| Paiereba01  | .....C.-   | .....      | G.....     | .....      | -C.....     | T.....C    | A...AT..C  |
| Paiereba02  | .....C.-   | .....      | G...A..... | .....      | -C.....     | .....C     | A...AT..C  |
| Paiereba03  | .....C.-   | .....      | G.....     | .....      | -C.....     | .....C     | A...AT..C  |
| Paiereba04  | .....C.-   | G.....     | G.....     | .....      | -C.....     | .....C     | A...AT..C  |
| Paiereba05  | .A....C.-  | G.....     | G.....     | .....      | -C.....     | G.....C    | A...AT..C  |