

PROJETO BÁSICO AMBIENTAL UHE SÃO MANOEL

Programa de Investigação Genética da Ictiofauna

Relatório Parcial – Primeira Campanha

EQUIPE TÉCNICA RESPONSÁVEL PELO DESENVOLVIMENTO DAS ATIVIDADES DO PROGRAMA			
INTEGRANTE	CONSELHO DE CLASSE	CTF IBAMA	ASSINATURA
Gabriel de Menezes Yazbeck	CRBio 37256/04-D	300187	

Agosto 2015

Visto por:		Elaborado por:		Rev.: 001 08/09/2015	
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático			1

ÍNDICE

1 –	Introdução.....	01
2 –	Objetivos.....	02
3 –	Metodologia.....	02
4 –	Resultados e Discussões.....	04
	4.1 – Amostras para Análise Genética.....	04
	4.2 – Recursos Genéticos para Análise Populacional de Peixes.....	04
	4.3 – Escolha das Espécies.....	11
	4.4 – Desenvolvimento de Novos Marcadores Moleculares por Meio de NGS.....	12
5 –	Conclusões e Considerações Finais.....	12
6 –	Referências Bibliográficas.....	12
7 –	Glossário.....	14
8 –	Anexo.....	15

Visto por:		Elaborado por:		 DOC AMBIENTAL Consultoria	Rev.: 001 08/09/2015	1
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

1 – Introdução

A execução do Programa de Investigação Genética da Ictiofauna, nos termos do Projeto Básico Ambiental (PBA) da UHE São Manoel (LEME, 2014) foi elaborada com base no disposto na Nota Técnica nº 06/2012 – COHID/CGENE/DILIC/IBAMA e Nota Técnica nº 006822/2013 CGENE/IBAMA, que atende à condicionante 2.1 e aos itens a, b e c da condicionante 2.23 da Licença Prévia nº 473/2013, de 29 de novembro de 2013.

Foi proposta a análise da diversidade e estrutura genética de populações de peixes à montante e à jusante, na região da Cachoeira das Sete Quedas, no rio Teles Pires, entre o Mato Grosso e o Pará, alvo da implementação da UHE São Manoel em, pelo menos, duas estações do ano, para seis espécies da ictiofauna, a serem escolhidas *a posteriori*, em função do: i) tamanho amostral de espécimes coletados, de forma a respeitar o tamanho mínimo de 30 indivíduos por espécie e ii) disponibilidade de marcadores moleculares já desenvolvidos e validados na literatura técnico-científica.

Almeja-se o emprego de, ao menos, cinco marcadores moleculares por espécie, sempre que possível. A escolha leva em conta, ainda, critérios de interesse comercial, endemismo, *status* de conservação e importância alimentar. Para tanto, foram obtidas amostras datadas e georreferenciadas, oriundas das atividades de campo realizadas pelo Programa de Monitoramento da Ictiofauna, também componente do PBA da UHE São Manoel.

Os marcadores considerados para análise são os microssatélites de DNA, marcadores baseados em seqüências simples repetitivas (p.ex. CTCTCTCTCT ou AGCAGCAGCAGCAGC), polimórficas e hipervariáveis (grande número de alelos encontrados nas populações) entre indivíduos, de forte caráter espécie-específico.

Muitas vezes, porém, microssatélites permitem a “amplificação cruzada” entre espécies próximas relacionadas (amplificações heterólogas). Ou seja, geralmente para análise de uma determinada espécie-alvo, é necessária a existência prévia de marcadores descritos para tal espécie ou em espécies filogeneticamente próximas. O processo de testes heterólogos demanda tempo, entretanto, e é muitas vezes comprometida pela presença de artefatos técnicos que comprometem a qualidade da análise (YAZBECK & BARROCA, 2013). Essa será a primeira alternativa a ser explorada em casos de ausência de marcadores espécie-específicos.

Diante da ausência ou insuficiência de marcadores descritos para uma determinada espécie de interesse e para contornar as desvantagens colocadas pela transferência de marcadores heterólogos, pode-se empregar as novas metodologias de seqüenciamento de DNA de nova geração (NGS), técnicas de ponta, de ótima relação custo benefício, capazes de promover uma rápida identificação de dezenas de marcadores inéditos válidos. Cabe ressaltar que esse trabalho, em si, é de grande mérito, em termos de esforço conservacionista, uma vez que levam à descrição rápida de novos marcadores genéticos para aplicações como as aqui apresentadas.

Visto por:		Elaborado por:		 DOC AMBIENTAL Consultoria	Rev.: 001 08/09/2015	1
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

Os espécimes de peixes foram coletados à jusante e à montante do ponto de construção da barragem da UHE São Manoel (9° 11' 29"S e 57° 02' 60"), porém em número limitado. A fim de se efetuar uma análise tecnicamente válida da estrutura da diversidade genética populacional de peixes, mais espécimes deverão ser ainda coletados, na região da cachoeira de Sete Quedas, no rio Teles Pires, MT, na divisa com o Pará, de forma a compreender as Áreas de Influência Indireta (AII), Direta (AID) e Diretamente Afetada (ADA) do empreendimento. As amostras foram entregues em julho de 2015 no Laboratório de Recursos Genéticos em microtubos de 1,5 mL, originalmente esterilizados, contendo cerca de 1 mL de álcool absoluto ou 70% (v/v).

2 – Objetivos

O Programa de Investigação Genética da Ictiofauna da UHE São Manoel tem como objetivo geral avaliar e monitorar a variabilidade genética de peixes migratórios no rio Teles Pires, nas Áreas de Influência Direta e Indireta da UHE São Manoel, visando esclarecer o nível de estruturação genética populacional nestas áreas.

Na presente etapa de estudo, o Programa tem como objetivos específicos:

- definir as espécies-alvo de peixes para investigação;
- receber, processar e tomar espécimes e amostras de tecido das espécies-alvo;
- e selecionar marcadores microssatélites apropriados para análises genéticas populacionais.

3 – Metodologia

No dia 20 de julho de 2015 foi registrada pelo Laboratório de Recursos Genéticos da Universidade Federal de São João del-Rei a entrada de 41 amostras de nadadeiras de peixes acondicionadas em microtubos de polipropileno previamente autoclavados, contendo quantidades suficientes de álcool etílico diluído a 70% (v/v), oriundas da primeira campanha de campo do Programa de Monitoramento da Ictiofauna da UHE São Manoel, a qual foi realizada no período de 28 de junho a 12 de julho de 2015 (**Quadro 3.1**).

As amostras estão em bom estado de conservação e foram acondicionadas a 4°C nos refrigeradores do Laboratório de Recursos Genéticos, no Campus Tancredo de Almeida Neves (<http://www.ufsj.edu.br/recgenlab/>) e receberam os números de tombo 15001 a 15041 do Banco de DNA da ictiofauna da Universidade Federal de São João del-Rei (<http://www.zootecnia.ufsj.edu.br/busca2v/main.php>).

Visto por:		Elaborado por:			Rev.: 001 08/09/2015	2
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

QUADRO 3.1: AMOSTRAS GENÉTICAS OBTIDAS PELA PRIMEIRA CAMPANHA DE CAMPO (JULHO/2015) DO PROGRAMA DE MONITORAMENTO DA ICTIOFAUNA E ENVIADAS AO PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DA ICTIOFAUNA DA UHE SÃO MANOEL, TOMBADAS NO BANCO DE DNA DA UFSJ/MG, M = MONTANTE DO LOCAL DE BARRAMENTO, J = JUSANTE DO LOCAL DE BARRAMENTO.

Nº de Tombo Banco de DNA	Espécie	Posição	Coordenadas Geográficas UTM SAD 69 Zona 21 L	Nº de Amostras por Ponto de Coleta	Nº Total de Amostras
15001	<i>Brycon falcatus</i>	M	502.226 / 8.979.616	3	4
15002	<i>Brycon falcatus</i>				
15007	<i>Brycon falcatus</i>				
15016	<i>Brycon falcatus</i>	M	494.689 / 8.983.410	1	
15018	<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>	M	517.283 / 8.978.300	2	5
15019	<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>				
15025	<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>	M	524.496 / 8.968.549	1	
15038	<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>	J	495.261 / 8.991.859	2	
15041	<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>				
15021	<i>Leiarius marmoratus</i>	M	524.496 / 8.968.549	1	1
15028	<i>Leporinus fasciatus</i>	M	493.941 / 8.984.326	1	2
15034	<i>Leporinus fasciatus</i>	J	495.261 / 8.991.859	1	
15003	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	M	502.226 / 8.979.616	3	4
15004	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>				
15010	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>				
15024	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>				
15013	<i>Pinirampus pirinampu</i>	M	494.689 / 8.983.410	2	4
15015	<i>Pinirampus pirinampu</i>				
15026	<i>Pinirampus pirinampu</i>	M	524.496 / 8.968.549	1	
15029	<i>Pinirampus pirinampu</i>	J	495.261 / 8.991.859	1	
15008	<i>Prochilodus nigricans</i>	M	502.226 / 8.979.616	2	14
15009	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15014	<i>Prochilodus nigricans</i>	M	494.689 / 8.983.410	2	
15017	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15020	<i>Prochilodus nigricans</i>	M	517.283 / 8.978.300	1	
15030	<i>Prochilodus nigricans</i>	J	495.261 / 8.991.859	9	
15031	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15032	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15033	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15035	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15036	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15037	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15039	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15040	<i>Prochilodus nigricans</i>				
15005	<i>Pseudoplatystoma punctifer</i>	M	502.226 / 8.979.616	1	2
15011	<i>Pseudoplatystoma punctifer</i>	M	494.689 / 8.983.410	1	
15012	<i>Zungaro zungaro</i>	M	494.689 / 8.983.410	1	5

Visto por:		Elaborado por:			Rev.: 001 08/09/2015	3
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

Continuação...

Nº de Tombo Banco de DNA	Espécie	Posição	Coordenadas Geográficas UTM SAD 69 Zona 21 L	Nº de Amostras por Ponto de Coleta	Nº Total de Amostras
15022	<i>Zungaro zungaro</i>		524.496 / 8.968.549	2	
15023	<i>Zungaro zungaro</i>	M			
15006	<i>Zungaro zungaro</i>		502.226 / 8.979.616	2	
15027	<i>Zungaro zungaro</i>	M			
Total					41

4 – Resultados e Discussões

4.1 – Amostras para Análise Genética

No total, foram identificadas nove espécies diferentes pertencentes a duas Ordens de peixes (Siluriformes e Caraciformes) e quatro famílias (Pimelodidae, Prochilodontidae, Anostomidae e Bryconidae). Considera-se que, apesar de permitir delinear um perfil inicial de riqueza e abundância de espécies no sistema focado, o número inicial de amostras é pequeno, sendo que para uma cobertura compreensiva da área total analisada irá depender de um esforço mais amplo e duradouro de amostragem.

Para a robustez das análises visadas e uma resposta satisfatória sobre o estado da estrutura genética de populações de diferentes espécies de peixes na região, a área abrangida deverá ter continuidade de execução do Programa de Monitoramento da Ictiofauna, almejando aumentar o número de amostras de peixes nas Áreas Diretamente Afetada (ADA), de Influência Direta (AID) e Indireta (AII) da UHE São Manoel. Se possível, amostragens em tributários e lagoas marginais também são desejáveis.

Considera-se que o escopo do tamanho e amplitude geográfica das amostras é essencial para uma maior verossimilhança das estimativas de estrutura genética populacional da ictiofauna na área do empreendimento. Tamanhos amostrais de apenas 30 peixes, possivelmente, são insuficientes para uma verificação da diversidade genética de microssatélites, dado a disponibilidade limitada de marcadores moleculares. Assim sendo, recomenda-se o aumento em até três vezes esse número, abrangendo o maior número possível de pontos ao longo da distribuição das espécies na região. Ainda, acerca deste respeito, a inclusão de marcadores mitocondriais em muito enriqueceria as análises, devido à possibilidade de se corroborar os padrões delimitados pelos marcadores nucleares e devido à possibilidade de detecção de padrões divergentes em relação às fêmeas.

4.2 – Recursos Genéticos para Análise Populacional de Peixes

Foi feito um levantamento sobre a disponibilidade de recursos genéticos na forma de marcadores microssatélites já descritos em domínio público ou em desenvolvimento no Laboratório de Recursos Genéticos da Universidade Federal de São João del-Rei (YAZBECK, não publicado), para espécie-alvo ou espécies congênicas. Marcadores que tenham evidências diretas ou potenciais de uso de heterólogo (p.ex. isolados em outras espécies e utilizados para

Visto por:		Elaborado por:			Rev.: 001 08/09/2015	4
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

deteção de variação em amplificações cruzadas na espécie de interesse) são apontados como paliativo à falta de marcadores espécie-específicos. O resultado obtido por este levantamento é exposto no **Quadro 4.2.1**.

QUADRO 4.2.1: DISPONIBILIDADE DE MARCADORES MOLECULARES ESPÉCIE-ESPECÍFICOS OU HETERÓLOGOS DESCRITOS PARA AS ESPÉCIES DETECTADAS NA AMOSTRAGEM OBTIDA PELA PRIMEIRA CAMPANHA DE CAMPO (JULHO/2015) DO PROGRAMA DE MONITORAMENTO DA ICTIOFAUNA DA UHE SÃO MANOEL.

Espécie	Microssatélite Espécie-Específico	Possibilidade de Uso Heterólogo	Referências
<i>Brycon falcatus</i>	Não	Sim	Barroso <i>et al.</i> (2003); Sanches & Galetti (2006); Aksoyet <i>et al.</i> (2013); Yazbeck (não-publicado)
<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>	Não	Sim	Souza <i>et al.</i> (2012)
<i>Leiarius marmoratus</i>	Não	Sim	Souza <i>et al.</i> (2012)
<i>Leporinus fasciatus</i>	Não	Sim	Morelli <i>et al.</i> (2007); Oliveira <i>et al.</i> (2015); Villanova <i>et al.</i> (2015); Yazbeck (não-publicado)
<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	Sim	Sim	Souza <i>et al.</i> (2012)
<i>Pinirampus pirinampu</i>	Não	Sim	Revaldaveset <i>et al.</i> (2005)
<i>Prochilodus nigricans</i>	Não	Sim	Barbosa <i>et al.</i> (2006); Yazbeck e Kalapothakis (2007); Rueda <i>et al.</i> (2011); Yazbeck (não-publicado)
<i>Pseudoplatystoma punctifer</i>	Sim	Sim	Saulo-Machado <i>et al.</i> (2011)
<i>Zungaro zungaro</i>	Não	Sim	Carrillo-Avillaet <i>et al.</i> (2009)

No **Quadro 4.2.2**, a seguir, são compilados alguns pares de oligonucleotídeos iniciadores (ou *primers*) da reação em cadeia da polimerase (PCR) capazes de serem utilizados como marcadores moleculares para as espécies encontradas acima, ou como potenciais candidatos à aplicação de marcadores microssatélites de amplificação cruzada (heteróloga) nas espécies-alvo. A ressalva é feita, entretanto, à limitação do emprego de marcadores heterólogos sem o devido desenvolvimento e otimização, para redução de artefatos, como presença de alelos nulos (que não são detectados na PCR), queda de amplificação dos alelos mais longos, anelamento parálogo dos primers no genoma alvo, falta de polimorfismo ou mesmo ausência completa de amplificação (YUE *et al.*, 2010).

QUADRO 4.2.2: RECURSOS GENÉTICOS DESCRITOS PARA USO NAS ESPÉCIES DETECTADAS NA PRIMEIRA CAMPANHA DE CAMPO (JULHO/2015) DO PROGRAMA DE MONITORAMENTO DA ICTIOFAUNA DA UHE SÃO MANOEL.

Espécie	Locus	Primers (5'>3')	Referências
<i>Brycon falcatus</i>	BoM1-F	CCATCTCTACTTTTTGGTTCC	Barroso <i>et al.</i> (2003); Sanches & Galetti (2006); Aksoyet <i>et al.</i> (2013); Yazbeck (não-publicado)
	BoM1-R	TGCCAGATACAGCCC	
	BoM2-F	CTGGCAGCGGAAGAG	
	BoM2-R	CCCACATCTCTCCCCTTCG	
	BoM5-F	CGACCACAATAGGATTAGGG	
	BoM5-R	CTGGAGTTTGTGTGTGGA	
	BoM6-F	GGAGTTTGTGTGTGGAGACCGAG	
	BoM6-R	GCACGCAGACACCAGA	
	BoM7-F	CTTGCCCCAGGTCTCACT	

Visto por:	Elaborado por:		Rev.: 001 08/09/2015	5
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor			

Continuação...

Espécie	Locus	Primers (5'>3')	Referências
<i>Brycon falcatus</i>	BoM7-R	CGGGAGTGACGAAATG	
	BoM12-F	GCAGCAGAAAGAAACAG	
	BoM12-R	CGGGGAGATTTCAACCT	
	BoM13-F	CATTTCTCAGTCCTTTTCAGC	
	BoM13-R	CCCACTTAGGGTCGCAC	
	Bh5-F	CTTCCACTCATACCGGCACT	
	Bh5-R	ACATCTGGCATTAGGCATAG	
	Bh6-F	GCGTTGCGTGTGTATGTTAA	
	Bh6-R	AGAGGTGTCCACAAAGTTTT	
	Bh8-F	CCATGGCTCAACACAGATAT	
	Bh8-R	TGTACGAATCCTGAAATGCT	
	Bh13-F	AGCAATTTAAGCAAGTGAAG	
	B13-R	GCGTCCGAGCAGTAGTTATA	
	Bh15-F	GAGAGCATTGTCAGGATTTA	
	Bh15-R	ACTAATGACTGCTACTGCGG	
	Bh16-F	CCTCCAATGAAAACAGTGCG	
	Bh16-R	ACGACTTAGCCACCCACCCT	
	Bh17-F	GTCAGCACTCAGCACATAGC	
	Bh17-R	AGAGAGCCTGAAAGTGAGTC	
	BAM_06	TTCTCCAGCTAATCTTCC	
	BAM_06-R	TAGTGTCTGTATAGGGTTCTTG	
	BAM_10	GCACAGCAGCGCAGTCAAA	
	BAM_10-R	TGCCCTTCACGGATAACACAAT	
	BAM_11	GCTGTTGGCTGGTGGACTATTCTC	
	BAM_11 R	GCCTCCTTTCACCTGTTCTTCA	
	BAM_14	AATCAGGTCCAAGTTTCAA	
	BAM_14 R	ACGAGGTGTATCAGCAGAGA	
	BAG_22	TGTAGTAGTTCTGTCTGCTG	
	BAG_22 R	TGGAGTTGTTGGTGTGAATC	
	BAG_25	CTGTATGCTGGTGTGTATGC	
	BAG_25 R	GTGTGTGAGTGTGAGAGGTG	
	BAG_27	CACAGACACAGTCCCTCATT	
	BAG_27 R	CACACCCAGAAAGAATGAC	
BAG_31	CAAGACAAACCAGGGAAACC		
BAG_31 R	GCTAGATCCAGCAGATGTAG		
<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>	Phrac1	GTCCAGTCCTGCTGCCTAAA	Souza <i>et al.</i> (2012)
	Phrac1R	GACTTTTGGGGGTATATGTCTAT	
	Phrac2	GGGTTCTCTGCAGTATATTCAAGA	
	Phrac2R	ACCCTCCGGTTACAAGACC	
	Phrac4	TCCTCCCTCTTGTGTTTGTGACA	
Phrac4R	TTTCTGACAGACATGCGCCTACAC		
<i>Leiarius marmoratus</i>	Phrac6	AAAGAATTCTCGCTGGTAGTAA	
	Phrac6R	GTGGGGCAAACATAAGAACAAA	
	Phrac7	CAAAACAAAAACAAAAGGGGAAGG	
	Phrac7R	CCAAGCAAGGGAAGTGTGAGC	
	Phrac9	ACCGGCACCTAGCGTATGT	
Phrac9R	GCCGGAAGGGGAAAAATG		

Visto por:

Thiago Millani
CoordenadorJuhei Muramoto
Gestor

Elaborado por:

Gabriel de Menezes Yazbeck
Coordenador TemáticoRev.: 001
08/09/2015

Continuação...

Espécie	Locus	Primers (5'>3')	Referências
<i>Phractocephalus hemioliopus</i>	Phrac 14	TTAGGGGAAGTGAACAAGGGAGTG	
	Phrac 14R	TTGATGAAGGTGATGGTGGTGAAG	
	Phrac 15	ACACAATTAAGACCAAACCTACTG	
	Phrac 15 R	GTTTGAACACGTGAGCTTGATGAC	
	Phrac 19	ACATTCAGGCCTGCATACACTCAC	
	Phrac 19R	TCTGCTTGGGTTTTCTCCTACACA	
<i>Leporinus fasciatus</i>	Lmac 02	ACTTCCCTCCCTAATCTGTG	Morelli <i>et al.</i> (2007); Oliveira <i>et al.</i> (2015); Villanova <i>et al.</i> (2015); Yazbeck (não-publicado).
	Lmac 02 R	AGGGTGTAAAGATGTATGAAG	
	Lmac 03	TGTATGTGGTGTGGCTGAATG	
	Lmac 03 R	AAACAAAGTAGAAGTGAACG	
	Lmac 04	CTGTCACTCTGTCAACTTTT	
	Lmac 04 R	TAAGGGAAAGCGGATACGGG	
	Lmac 05	CGTGTGCTTCTGTTTGTGTG	
	Lmac 05 R	GGCTGAAGTATGAGAGGTAAG	
	Lmac 06	CTTACTTCACTTTTACAGCAG	
	Lmac 06 R	CCCGAGCCGCGTCACACTTC	
	Lmac 07	GTGGGAACATTTGGGATTAT	
	Lmac 07 R	CAGAAGAGAGGGCGAGAGGG	
	Lmac 08	CCATTTCTGTCTTACCTTTG	
	Lmac 08 R	CTTCGGGAGTTGACAGCACC	
	Lmac 09	TAAACAAACGGTGGGCAGTG	
	Lmac 09 R	TATCTTCACTAATCAAACCTCC	
	LoLAR5	AACCTCCATCTGACACCCATA	
	LoLAR5 R	GGGACAAAGCGGAGGATAAT	
	LoLAR6	GACGGTGACGAATGTGTGTC	
	LoLAR6 R	TGCAGAAGGCAAAGAACTGA	
	LoLAR7	CAGAGCTGCTCCATGACTGA	
	LoLAR7 R	CTCATGGGAAGCGAGTGTTT	
	LoLAR8	CTCACGTTCCCTCTCTCACG	
	LoLAR8 R	CGGGCCAAAACAGAGATAG	
	LoLAR9	TGTGCATATGAAGGCGGTAA	
	LoLAR9 R	ACCCCTAACACATGGAATGG	
	LoLAR11	GGGAAAGGAACTGTTGCATTAT	
	LoLAR11 R	ATTCAGAGCTGATCCCTCCA	
	LoLAR15	CCTCCACCTTACCCTTTC	
	LoLAR15 R	GCAGAGGCAGAGTCAGCAG	
	LoLAR17	GCTTGTGTGATTCTCCAGCA	
	LoLAR17 R	TGCACGAGCTACATCAAAGG	
	LoLAR22	AGCGAGGAGGAAAACAACAA	
	LoLAR22 R	AGCGCCAACCTTCACTGAG	
	LoLAR23	ACTCTAAAAGCTCCCGCACA	
	LoLAR23 R	AACCACCAGTGAACCTTTGC	
LoLAR24	TTAGATCTGCCGGAGTCACC		
LoLAR24 R	GTGGTCCAGTCTCCATCAG		
LoLAR25	GTGGAGCAAAGAGGCGTAAG		
LoLAR25 R	ACACCACCATGCTGCCTTAT		
LoLAR27	TTCAGCTGCATCATTTCAGG		
LoLAR27 R	AACCTCCATCTGACACCCATA		
LoLAR29	GCAGAATACGGGAACTAGGC		
LoLAR29 R	TGTTACATTGCTGTCTGAG		

Visto por:

Thiago Millani
CoordenadorJuhei Muramoto
Gestor

Elaborado por:

Gabriel de Menezes Yazbeck
Coordenador TemáticoRev.: 001
08/09/2015

Continuação...

Espécie	Locus	Primers (5'>3')	Referências
<i>Leporinus fasciatus</i>	LoLAR30	CTTGGCTCTTCCTGATGCTC	
	LoLAR30 R	AAACCGTGTCTGTGCCTAAAA	
	LoLAR31	CTCGTTGTAACCTGAACAGCA	
	LoLAR31 R	CACAGCCCCTTGTGTTCTTT	
	LoLAR33	CAAGCTCATAACCCTGCAGTC	
	LoLAR33 R	CATCTCAGGAGGAAATGACCA	
	LoLAR35	ATCGCAGTGCTGTCAATATGT	
	LoLAR35 R	ATGGCAATGCCTCTCAACAT	
	LoLAR37	TGGAGATGTTGTGTCTGTAGGG	
	LoLAR37 R	TTAGAGCCCAAGCTCTCGAC	
	LoLAR38	TGGGCCTCGCGTATTTATAG	
	LoLAR38 R	TCATGTTGGTCTTGAATGCTG	
	Lobt01	CGGAAACACTGCGGAG	
	Lobt01 R	AATTATAGGAACCGTCTGG	
	Lobt02	GGTCCATTGACTTACAT	
	Lobt02 R	CAGCAAAGTGATACATATCC	
	Lobt03	CGGGTTTCTGCCATCTC	
	Lobt03 R	GGGTGGAGAGAGAGCGC	
	Lobt04	GGAGTTCTGACCACTACTAAGG	
	Lobt04 R	GAGTAGATTGAATGTGACAGCC	
	Lobt05	ATGCACCGACCTGTTCC	
	Lobt05 R	CGGCTCAGGACAATAGATAGAT	
	Lobt06	AGTGCGTTCGTGAAATGTAGTG	
	Lobt06 R	TCAGTCCATCTGTGCTTCAGTT	
	Lobt07	GTTTACAGAAGTGAGTGAT	
	Lobt07 R	ATGTATAGGGCTGAGTCA	
	Lobt08	CTATCCACCACTGCCTTGAC	
	Lobt08 R	GGCTTATTTCACTCTCTACTC	
	Lobt09	TCTGCATGACTAGGTGTTTG	
	Lobt09 R	CTTACCACCTCTGACTATACA	
Lobt10	CTCACGTAATGGTTCAACTC		
Lobt10 R	TTCTCTTTCTCTCCTTGCTC		
<i>Pinirampus pirinampu</i>	Pcor1	AAACCCGAGGATAACCAGTC	Revaldaves <i>et al.</i> (2005)
	Pcor1 R	CAGCGTGCTACTAACACAAAC	
	Pcor2	GATATGCAAATAAGAAGGTC	
	Pcor2 R	TCTTCTGGCTTTTCTCCTCT	
	Pcor5	GACTAAGATTACACAGAGATTC	
	Pcor5 R	CTTGGTGGGGAAAACAGGC	
	Pcor6	CATGATTAAGGGCTGTAT	
	Pcor6 R	GGGATAGATGGCGTAAGCAG	
	Pcor7	ATGCTGGGATACGCTCAGAC	
	Pcor7 R	GTGGCGAGTGAACAAGTCC	
<i>Prochilodus nigricans</i>	Par10	TGATACGGTCAGCTTTGCAG	Carvalho-Costa <i>et al.</i> (2006); Yazbeck & Kalapothakis (2007); Barbosa <i>et al.</i> (2008) Rueda <i>et al.</i> (2011) Yazbeck (não-publicado)
	Par10 R	CTCTGTGGCCAGATGCTAGA	
	Par12	CGAGCTGGTACCGTCACATA	
	Par12 R	AGCATGATGCAAAGGATCTG	
	Par13	CATCTCACCCATTCAATTCCA	
	Par13 R	AACACCCCACTTAGATACACCA	
	Par14	GTATTAGGGGAGAGAATTTG	
Par14 R	TCTCATCAGTTATCACCAAC		

Visto por:	Elaborado por:		Rev.: 001 08/09/2015	8
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor			

Continuação...

Espécie	Locus	Primers (5'>3')	Referências
<i>Prochilodus nigricans</i>	Par15	AGTTGGTTACACCTAACATC	
	Par15 R	TCTTAATATGGGTCCACTAC	
	Par21	CAAAAGGATAAGTAGCTCAG	
	Par21 R	TAGCTCTGTTTATGATGACC	
	Par26	AGGTATGCAATGTTCACTC	
	Par26 R	CTCTCTATCTGCCTTTCTTC	
	Par31	GAGATGTTCTACCTTTTTG	
	Par31 R	TAGCCTCTCATTGTCTAGTG	
	Par34	AAGGCCTAGCTAGCAGAATCAA	
	Par34 R	TCCCTGTGTTCAAGTCTCC	
	Par35	AGCCAGAGGAGACCTGAACA	
	Par35 R	CCTCCCTCCTCCAGATCTTT	
	Par43	GGCGTCTGACTCGTTACCTC	
	Par43 R	AACCTCATTCCCTCAAGTGC	
	Par53	ACGAATAACTGGCTGGCTGT	
	Par53 R	CAGCCAATCATGGACTCAGA	
	Par54	GCTGTTGTTGTAGAGTGAAG	
	Par54 5	AGAATCTGTTCTACCAAG	
	Pli30	GATGTCGGTTCTTGTACAGTGGTG	
	Pli30 R	AGCTGCTGAGGATTCTGGGTCC	
	Pli34	TGTTGGATGTAAAAAGTGC	
	Pli34 R	GCTCGCTGGCATGTAAAGATGG	
	Pli43	AGTCCACTCCTTAGGCGAGTGAG	
	Pli43 R	ATAGACGGGCATGTGTCACAGCT	
	Pli60	GCTAGGACGGTTAGCGTCCACTG	
	Pli60 R	CGACACGTACATCATTACCTCGG	
	Pli61	ACCAAGGTGGGATTCCTTGGTC	
	Pli61 R	TTCTCCATCTCTGGCTGCGCA	
	Par66	TCTATAACTGTGGTCGTATG	
	Par66 R	GAGGTTTTGAGATCAGTTG	
	Par69	AATCTTTCTAGGCTGTAGG	
	Par69 R	GGGAAGTAGAAAGAAGAAAC	
	Par71	TGTCGTCTGAAAGGAGTC	
	Par71 R	GAGGTTGTCCATTTTTAGAG	
	Par76	GGGTTACATTACATTCTAGG	
	Par76 R	CAAGTCTCTTCTGCTAACTG	
	Par80	CTAACCTACAAACCTCATT	
	Par80 R	CTGTAAAAGCTCCACTTATC	
	Par82	CTTAACAAGGTGAAACAAC	
	Par82 R	TTTAAACTGTAGGCACAGAC	
	Par83	CATTTTCTAACAGCACTCC	
	Par83 R	TTCTTGTTCTCTGTGTAAC	
	Par85	CCACTTAATGAGACCACAC	
	Par85 R	TTTCATTAGACTCGGTGAG	
	Par86	ATCCGTCTCTATGTGTGTC	
	Par86 R	TCTACAGTTACTTGGAGGAC	
PL3	TCTGAGCTGTGAGGAATGGA		
PL3 R	AGAGCGCTCAAGCACAAAGAT		
PL9	CGAACATTCTGCTGGGTGTA		
PL9 R	TCTCCAACCACTGGGAGAAC		

Visto por:

Thiago Millani
CoordenadorJuhei Muramoto
Gestor

Elaborado por:

Gabriel de Menezes Yazbeck
Coordenador TemáticoRev.: 001
08/09/2015

Continuação...

Espécie	Locus	Primers (5'>3')	Referências
<i>Prochilodus nigricans</i>	PL14	TGCCCAACTGAACTGAG	
	PL14 R	CTCATCAACCTGCCTGGAAT	
	PL23	TTGGCTACTTCCCAACAC	
	PL23 R	GGGGAAGTGTGACGATGC	
	PL25	GAAGCTTGGGCTCTTGACAT	
	PL25 R	CGTTTGCCTCTAGCCTTTTG	
	PL28	GAAGCTTGGGCTCTTGACAT-3	
	PL28 R	CGTTTGCCTCTAGCCTTTTG	
	PL34	GAGCGGATTCTCCACATGAT	
	PL34 R	TAATGTGCTCCCTCCACAG	
	PL35	TCTGAGTCCCTCCATGACAA	
	PL35 R	TGTGTGTGTGTGTGGTTTG	
	PL64	AGAGCAACACAGGGAGGAGT	
	PL64 R	ACGCTCTGCTCAGCCATACT	
	PL119	GAAAAAGGCTAGGGGACTGG	
	PL119 R	GAGGAAAAT TGCCTT TTGTAGG-	
	PL139	CAGTGGCATGATGAT TAGATGG-	
	PL139 R	CACCTTTTGTGGCTTTTAGG-	
	PL190	GCTTGGGAGCCTATTCATCC	
<i>Pseudoplatystoma punctifer</i>	Ppu1	CAGCATCAGCGAAAAGTTG	Saulo-Machado <i>et al.</i> (2011)
	Ppu1 R	CAGTGGCGCATTCTGTAATC	
	Ppu2	CAGAACCAGATCCAACGTCA	
	Ppu2 R	CTCCCTAGACTTCCATTTCC	
	Ppu3	CAGACTCTCCGGCTGTTTA	
	Ppu3 R	CCATAGAGATGAAGCAAGAGGG	
	Ppu4	GGTCTGATATGGAGGTCGTGA	
	Ppu4 R	CGGTGTCTCTGGGCTATTTT	
	Ppu5	AACAAGGCACCTAACTCCCC	
	Ppu5 R	GATGATGGATCTCCTCCCTGT	
	Ppu6	TATCGGTTCTGGGTCAATCC	
	Ppu6 R	ATGTTGGCTGAGAGCATGG	
	Ppu7	ACGACTCCTCTCCAATCCAT	
	Ppu7 R	AATAGACTTCTGGGCTCCGAC	
	Ppu8	GGTCTGAAGAAGAAGGGTCA	
	Ppu8 R	ATGGAGAAGTGGAGGAACTGC	
	Ppu9	CAGTGAGCCATACCTTCAGAG	
	Ppu9 R	TGGATGGACAGATAGACAGG	
	Ppu10	GTTACCATGACCACTCGTTGC	
	Ppu10 R	AGTATTCTTGTGCGTAGCCCC	
	Ppu11	GGTCACTTATTGTCTCGTGTCC	
	Ppu11 R	GGAGCGAAGGAATTGTTGTG	
	Ppu12	CGCTTTTCTCTCAGCTTC	
	Ppu12 R	TTGGCTCACTACATCCCACTC	
	Ppu13	ATCAATTCCCAGCCGGAG	
	Ppu13 R	TCTCAGGGGCCATTCTCA	
	Ppu14	GCGAGGTCATCCCTGTTG	
	Ppu14 R	AGGCCGGAGATGGTCTGT	
	Ppu15	GGCCAAAGTAACAGGCCA	
	Ppu15 R	GAGCGCCCAAGGTTAC	

Visto por:

Thiago Millani
CoordenadorJuhei Muramoto
Gestor

Elaborado por:

Gabriel de Menezes Yazbeck
Coordenador TemáticoRev.: 001
08/09/2015

Continuação...

Espécie	Locus	Primers (5'>3')	Referências
<i>Zungaro zungaro</i>	Zjahu01	TTAACTCACACACCTACC	Carrillo-Avillaet <i>al.</i> (2009)
	Zjahu01 R	AGTACTGTACACACCACCTG	
	Zjahu02	ACACTGCTTACCCATGTC	
	Zjahu02 R	AAGGTATGTGGTATACGATG	
	Zjahu03	TATACGACATTTGGAGAG	
	Zjahu03 R	CGTTCTCAGAGTGGTATG	
	Zjahu04	TGCAAATCTCAGTTACACCTCAC	
	Zjahu03 R	AAACGGTTATGGTCGACTCTTC	
	Zjahu04 R	CAGGAAGTGTAAAGGTC	
	Zjahu05	ACTGACAGTTCTCTCTGTTG	
	Zjahu05 R	CATTTTGTCTTCCATCCAG	
	Zjahu06	TCTTAATCCATCCATCCATC	
	Zjahu06 R	ACTCTGAAGATGTGTGACT	
	Zjahu07	CCTATGGGTTTAGAATGG	
	Zjahu07 R	GATTTGCACTGTACATCGTC	
	Zjahu08	CTCAGATTGAACAGTCATGC	

Os dados acima fornecem um repertório de marcadores moleculares a serem utilizados dentro o conjunto destas nove espécies, caso venham ser analisadas do ponto de vista genético. Estes marcadores podem ser aferidos por meio de eletroforese.

Ressalta-se a importância do emprego de tamanhos amostrais suficientemente grandes e técnicas adequadas ao objetivo (escapando de potenciais armadilhas como o uso de estimadores arcaicos), e emprego de estatísticas modernas de estrutura genética populacional como o D de Jost ou o G'_{ST} (Yazbeck e Barroca, 2013).

4.3 – Escolha das Espécies

Baseado na abrangência da amostragem, aliado à disponibilidade de recursos genéticos descritos para uso em análises genéticas populacionais, além da importância sócio-ambiental das espécies amostradas, recomenda-se a priorização das seguintes espécies para o Programa de Investigação Genética da Ictiofauna da UHE São Manoel:

1. *Prochilodus nigricans*
2. *Zungaro zungaro*
3. *Phractocephalus hemiliopterus*
4. *Hemisorubim platyrhynchos*
5. *Brycon falcatus*
6. *Pinirampus pirinampu*

As demais espécies detectadas na amostragem também poderão ser alvo de análise com marcadores moleculares heterólogos ou específicos, caso necessário.

Visto por:		Elaborado por:			Rev.: 001 08/09/2015	11
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

4.4 – Desenvolvimento de Novos Marcadores Moleculares por Meio de NGS

Na hipótese da necessidade de desenvolvimento de novos marcadores moleculares microssatélites, conforme apontado no Programa de Investigação Genética da Ictiofauna da UHE São Manoel (LEME, 2014): “No caso de existir espécies que não possuem marcadores microssatélites, estes deverão ser desenvolvidos pela equipe do Programa”.

Por esta razão, como algumas espécies amostradas possuem apenas recursos genéticos indiretos em literatura, recomenda-se o desenvolvimento de novos marcadores por meio de método de NGS (METZKER, 2010) como o sequenciamento-por-síntese (HISEQ, 2000), ou superior, para a rápida caracterização de novos marcadores moleculares do tipo microssatélites ou como polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs). Essa técnica oferece a melhor relação melhor custo-benefício, por obtenção de pares de base (pb) de DNA genômico (LIU *et al.*, 2012) e viabiliza a análise da estrutura genética de populações com maior definição (número virtualmente ilimitado de *loci* genéticos para análise fidedigna e estatisticamente não-viesada).

5 – Conclusões e Considerações Finais

Amostras de tecido relativas ao Programa de Investigação Genética da Ictiofauna da UHE São Manoel foram recebidas, acondicionadas e tombadas no Banco de DNA da Ictiofauna da UFSJ. Estas amostras estão depositadas com os números de acesso 15001 a 15041 no Laboratório de Recursos Genéticos (CTAN-UFSJ).

Foram selecionadas seis espécies para análises genético-populacionais da distribuição da variabilidade genética (*Prochilodus nigricans*, *Zungaro zungaro*, *Phractocephalus hemiliopterus*, *Hemisorubim platyrhynchos*, *Brycon falcatus* e *Pinirampus pirinampu*), sendo que outras três espécies detectadas também poderão ser utilizadas. Coletivamente, estas espécies apresentam centenas de marcadores microssatélites candidatos a serem empregados em análises genético-populacionais.

Entretanto, para uma melhor aferição dos objetivos de se determinar a estrutura genética populacional, recomenda-se adotar tamanhos e abrangências amostrais maiores, adoção de marcadores mitocondriais, desenvolvimento de marcadores por meio de NGS HiSeq 2000 ou superior e emprego de técnicas estatísticas robustas e não-enviesadas.

6 – Referências Bibliográficas

BARBOSA, A. C. D. R. *et al.* 2008a. Description of novel microsatellite loci in the Neotropical fish *Prochilodus argenteus* and cross-amplification in *P. costatus* and *P. lineatus*. **Genetics and Molecular Biology**, **31(1)**:357-360.

BARBOSA, A. C. D. R. *et al.* 2008b. Description of novel microsatellite loci in the Neotropical fish *Prochilodus argenteus* and cross-amplification in *P. costatus* and *P. lineatus*. **Genetics and Molecular Biology**, **31(1)**:357-360.

Visto por:		Elaborado por:			Rev.: 001 08/09/2015	12
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

- BARROSO, R. M. *et al.* 2003. Identification and characterization of microsatellites loci in *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconinae). **Molecular Ecology Notes**, **3(2)**:297-298n.
- CARRILLO-AVILA, M. *et al.* 2009. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in the threatened catfish Jaú, *Zungaro jahu* (Siluriformes, Pimelodidae). **Conservation Genetics**, **10(5)**:1597-1599.
- LIU, L. *et al.* 2012. Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. **BioMed Research International**.
- METZKER, M. L. 2010. Sequencing technologies – the next generation. **Nature Reviews. Genetics**, **11(1)**:31-46.
- MORELLI, K. A. *et al.* 2007. Isolation and characterization of eight microsatellite loci in *Leporinus macrocephalus* (Characiformes: Anostomidae) and cross-species amplification. **Molecular Ecology Notes**, **7(1)**:32-34.
- OLIVEIRA, K. K. C.; LIMA, A. P. S.; COIMBRA, M. R. M. 2014. Isolation and characterization of the first microsatellite markers in the Neotropical freshwater fish piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837). **Conservation Genetics Resources**, **7(1)**:77-79.
- RUEDA, E. C. *et al.* 2011. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the migratory freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes: Prochilodontidae). **Conservation Genetics Resources**, **3(4)**:681-684.
- SANCHES, A.; GALETTI, P. M. 2006. Microsatellites loci isolated in the freshwater fish *Brycon hilarii*. **Molecular Ecology Notes**, **6(4)**:1045-1046.
- SAULO-MACHADO, A. C. *et al.* 2010. Polymorphic microsatellite DNA markers for the Amazonian catfish *Pseudoplatystoma punctifer* (Siluriformes: Pimelodidae). **Conservation Genetics Resources**, **3(2)**:307-310.
- SOUZA, C. A. *et al.* 2011. Development and characterization of microsatellite loci in *Phractocephalus hemiliopterus* (Siluriformes: Pimelodidae) and their cross-species amplification in six related species. **Conservation Genetics Resources**, **4(2)**:499-501.
- VILLANOVA, G. V. *et al.* 2015. Isolation and characterization of 20 polymorphic microsatellite loci in the migratory freshwater fish *Leporinus obtusidens* (Characiformes: Anostomidae) using 454 shotgun pyrosequencing. **Journal of Fish Biology**, **86(3)**:1209-1217.
- YAZBECK, G. DE M. & BARROCA, T. M. 2013. Estudos de diversidade e estrutura genética de populações de peixes neotropicais. In: A genética dos peixes neotropicais. Charleston, SC: Amazon, [s.d.]. p. 121-159.

Visto por:		Elaborado por:		 DOC AMBIENTAL Consultoria	Rev.: 001 08/09/2015	13
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

YAZBECK, G. M.; KALAPOTHAKIS, E. 2007. Isolation and characterization of microsatellite DNA in the piracema fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes). **Genetics and molecular research: GMR**, 6(4):1026-1034.

YUE, G. H.; KOVACS, B.; ORBAN, L. A. 2010. New problem with cross-species amplification of microsatellites: generation of non-homologous products. **Dong Wu Xue Yan Jiu = Zoological Research / "Dong Wu Xue Yan Jiu" Bian Ji Wei Yuan Hui Bian Ji**, 31(2):131-140.

7 – Glossário

Acido Desoxirribonucleico (DNA): Biomolécula heteropolimérica de quatro nucleotídeos alternativos diferentes (adenina, A, guanina, G, Citosina, C e Timina, T), capazes de codificar a informação biológica intrínseca de cada espécie e de transmiti-la através das gerações;

Alelos: Formas variantes alternativas de um gene, presentes em um determinado *locus*;

Eletroforese: Metodologia de separação de espécies iônicas (ex. DNA) através de um campo elétrico;

Marcador molecular: Metodologia baseada no DNA capaz de caracterizar diferentes *loci* e sua variação em uma determinada espécie biológica (ex. SNP, microssatélites etc.);

Microssatélites: Classe de marcadores baseados em sequências curtas de DNA (2-7 pb) que se repetem lado a lado, conspícuas no genoma de todas espécies eucariotas (ex.: animais, fungos e plantas) e caracteristicamente variáveis entre indivíduos de uma população (p.ex. possuem vários alelos);

NGS: Conjunto de metodologias de sequenciamento de DNA chamadas de nova ou segunda geração que tem em comum abordagens massivamente paralelizadas na obtenção de dados genéticos, efetivamente capaz de levantar toda a informação genética de um genoma de interesse em um ou poucos ensaios. Alguns exemplos de plataformas enquadradas como NGS são: Roche 454, *Illumina HiSeq*, *MiSeq* e *IonTorrent*;

Sequenciamento de DNA de Sanger: Metodologia clássica de sequenciamento de DNA, baseado em química de terminação do crescimento da cadeia de DNA em síntese, seguido de separação eletroforética com sensibilidade de até 1 pb de escrutínio;

Pares de base (pb): Unidade de medida de tamanho de fragmentos/moléculas de DNA, ou mesmo de genomas inteiros. Um par de bases corresponde a um par de bases nitrogenadas de nucleotídeos acoplados por complementaridade de Watson-Crick (A-T, G-C, C-G ou T-A) em uma dupla-fita de DNA. O genoma humano haplóide, por exemplo, tem $3,2 \times 10^9$ pb.

SNP: Polimorfismos de ponto único são marcadores moleculares viabilizados pelas técnicas de PCR e sequenciamento de DNA e são constituídos por diferenças em um único nucleotídeo variável na população em uma determinada posição do genoma;

Visto por:		Elaborado por:		 DOC AMBIENTAL Consultoria	Rev.: 001 08/09/2015	14
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

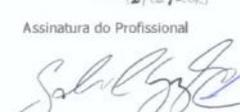
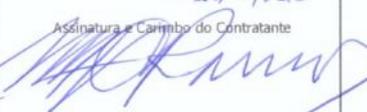
PCR: Reação em cadeia da polimerase, metodologia de amplificação *in vitro* de fragmentos de DNA, extraídos a partir de quantidades irrisórias de material biológico de qualquer organismo, dado conhecimento prévio de determinadas sequências de DNA e que viabiliza a aplicação barata e eficiente de marcadores moleculares em espécies de interesse;

Polimorfismo: A existência, em frequências apreciáveis (ex.: $\geq 1\%$), de mais de uma forma alélica de um gene, ou seja, a existência de pelo menos dois alelos diferentes em um *locus* gênico.

8 – Anexo

Apresenta-se, a seguir, a ART da equipe responsável pela execução do Programa de Investigação Genética da Ictiofauna do PBA da UHE São Manoel.

Visto por:		Elaborado por:			Rev.: 001 08/09/2015	15
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor	Gabriel de Menezes Yazbeck Coordenador Temático				

Serviço Público Federal CONSELHO FEDERAL/CRBIO - CONSELHO REGIONAL DE BIOLOGIA			
ANOTAÇÃO DE RESPONSABILIDADE TÉCNICA - ART			1-ART Nº: 2015/00913
CONTRATADO			
2.Nome: GABRIEL DE MENEZES YAZBECK		3.Registro no CRBio: 030728/01	
4.CPF: 049.978.806-04	5.E-mail: gabriel@ufsj.edu.br	6.Tel: (32)3373-3961	
7.End.: OPERARIO URIEL DE MOURA FERREIRA 105		8.Compl.: APTO 203	
9.Bairro: VILA MARIA (BONFIM)	10.Cidade: SÃO JOÃO DEL REI	11.UF: MG	12.CEP: 36307-422
CONTRATANTE			
13.Nome: DOC AMBIENTAL CONSULTORIA LTDA - ME			
14.Registro Profissional:		15.CPF / CGC / CNPJ: 08.799.177/0001-01	
16.End.: ALAMEDA JATOBÁ 108			
17.Compl.:		18.Bairro: ROSA DOS VENTOS	19.Cidade: VESPASIANO
20.UF: MG	21.CEP: 33200-000	22.E-mail/Site: rspeconsultoria@gmail.com	
DADOS DA ATIVIDADE PROFISSIONAL			
23.Natureza : 1. Prestação de serviço Atividade(s) Realizada(s) : Execução de estudos, projetos de pesquisa e/ou serviços;			
24.Identificação : EXECUÇÃO DO PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DA ICTIOFAUNA DA UHE SÃO MANOEL - PARANAÍTA (MT) E JACAREACANGA (PA)			
25.Município de Realização do Trabalho: PARANAÍTA			26.UF: MT
27.Forma de participação: EQUIPE		28.Perfil da equipe: BIÓLOGO PLENO, DOUTOR SENIOR EM GENÉTICA, MÉDICO VETERINÁRIO	
29.Área do Conhecimento: Genética;		30.Campo de Atuação: Meio Ambiente	
31.Descrição sumária : EXECUÇÃO DO PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE ICTIOFAUNA EM LOCAL ALVO DE IMPLEMENTAÇÃO DE BARRAGEM DE AHE (APROVEITAMENTO HIDRELÉTRICO) DE SÃO MANOEL NO RIO TELES PIRES, NA REGIÃO DA CACHOEIRA DAS SETE QUEDAS NA DIVISA ENTRE O MATO GROSSO E O PARÁ. SERÃO ELEITAS SEIS ESPÉCIES DE PEIXES PARA ESTUDOS DE ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES À MONTANTE E À JUSANTE DO EIXO DE BARRAMENTO. SERÃO ANALISADOS PELO MENOS 30 INDIVÍDUOS POR ESPÉCIE, SEMPRE QUE POSSÍVEL SERÃO UTILIZADOS PELO MENOS CINCO MARCADORES MOLECULARES MICROSSATÉLITES. MARCADORES INÉDITOS SERÃO ISOLADOS POR NGS, CASO NECESSÁRIO.			
32.Valor: R\$ 78.734,88	33.Total de horas: 240	34.Início: ABR/2015	35.Término: MAR/2016
36. ASSINATURAS			37. LOGO DO CRBIO 
Declaro serem verdadeiras as informações acima			
Data: 21/02/2015 Assinatura do Profissional 		Data: 28/02/2015 Assinatura e Carimbo do Contratante 	
38. SOLICITAÇÃO DE BAIXA POR CONCLUSÃO Declaramos a conclusão do trabalho anotado na presente ART, razão pela qual solicitamos a devida BAIXA junto aos arquivos desse CRBio.		39. SOLICITAÇÃO DE BAIXA POR DISTRATO	
Data: / /	Assinatura do Profissional	Data: / /	Assinatura do Profissional
Data: / /	Assinatura e Carimbo do Contratante	Data: / /	Assinatura e Carimbo do Contratante

**CERTIFICAÇÃO DIGITAL DE DOCUMENTOS
NÚMERO DE CONTROLE: 9205.3013.2113.1900**

OBS: A autenticidade deste documento deverá ser verificada no endereço eletrônico www.crbio01.org.br

Visto por:	Elaborado por:		Rev.: 001 08/09/2015	16
Thiago Millani Coordenador	Juhei Muramoto Gestor			