

PROJETO BÁSICO AMBIENTAL UHE TELES PIRES

PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DA ICTIOFAUNA DA UHE TELES PIRES – RIO TELES PIRES, PARANAÍTA/MT

Relatório Final

EQUIPE TÉCNICA RESPONSÁVEL PELO DESENVOLVIMENTO DAS ATIVIDADES DO PROGRAMA			
INTEGRANTES	CONSELHO DE CLASSE	CTF IBAMA	ASSINATURA
Prof. Dr. Alexandre Wagner S. Hilsdorf	CRMV-4 659/Z	1901351	
MSc. Márcia Oliveira Barbosa Silva	CRBio 13426/04D	361640	
MSc. Renê Eiji Souza Hojo	CRBio 37349/04D	763478	

Abril - 2013

Sumário

1 APRESENTAÇÃO.....	4
2 INTRODUÇÃO	4
3 OBJETIVOS	5
4 METAS	6
5 ASPECTOS METODOLÓGICOS	6
5.1 Área de Abrangência	6
5.2 Metodologia aplicada	6
5.3 Procedimentos com exemplares capturados	9
5.4 Análises Genéticas.....	9
5.5 Extração de DNA.....	9
5.6 Iniciadores para teste.....	10
5.6 Condições de PCR usadas para geração de amplicon do D-Loop e sequenciamento	10
5.7 Sequenciamento.....	11
5.8 Análises estatísticas.....	12
5.8.1 Qualidade e alinhamento das sequência.....	12
5.8.2 AMOVA	12
5.8.3 Teste de neutralidade.....	13
5.8.4 Rede de haplótipos.....	14
6 RESULTADOS	14
6.1 Amostras.....	14
6.2 Reações de PCR	16
6.3 Amostras extraídas e Sequenciadas	17
6.4 Espécies sequenciadas.....	18
6.4.1 <i>Curimata inornata</i>	18
6.4.1.1 AMOVA	18
6.4.1.2 Teste de Neutralidade	18
6.4.1.3 Rede de haplótipos.....	19
6.4.1.4 Conclusões.....	20
6.4.2 <i>Plagioscion squamosissimus</i>	20
6.4.2.1 AMOVA	20
6.4.2.2 Teste de neutralidade	21
6.4.2.3 Rede de Haplótipos	21
6.4.2.4 Conclusões	22
6.4.3 <i>Melanocharacidium cf. dispilomma</i>	22
6.4.3.1 AMOVA.....	22
Melanocharacidium cf. dispilomma.....	
6.4.3.2 Teste de neutralidade	23
6.4.3.3 Rede de haplótipos	23
6.4.3.4 Conclusões	24
6.4.4 <i>Prochilodus nigricans</i>	24
6.4.4.1 AMOVA.....	24
6.4.4.2 Teste de neutralidade	25
6.4.4.3 Rede de haplótipos	25
6.4.4.4 Conclusões	26
6.4.5 <i>Brycon falcatus</i>	27
6.4.5.1 AMOVA.....	27
6.4.5.2 Teste de neutralidade	27
6.4.5.3 Rede de haplótipos	28
6.4.5.4 Conclusões	28
6.4.6 <i>Zungaro zungaro</i>	29
6.4.6.1 AMOVA.....	29

6.4.6.2	Teste de neutralidade	29
6.4.6.3	Rede de haplótipos	30
6.4.6.4	Conclusões	30
6.4.7	<i>Myleus torquatus</i>	31
6.4.7.1	AMOVA.....	31
6.4.7.2	Teste de neutralidade	31
6.4.7.3	Rede de haplótipos	32
6.4.7.4	Conclusões	32
6.5	Espécies não amplificadas	33
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
8.	EQUIPE TÉCNICA.....	37
9.	REFERÊNCIAS.....	37
10.	ANEXOS.....	40

**PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE ICTIOFAUNA DA
UHE TELES PIRES**

1 APRESENTAÇÃO

Este documento constitui-se do relatório parcial referente às atividades desenvolvidas no programa de investigação genética de ictiofauna no rio Teles Pires, área de influência da futura Usina Hidrelétrica de Teles Pires, Paranaíta/MT. São apresentados neste documento os objetivos, as metodologias, e resultados preliminares pela *Bios Consultoria e Serviços Ambientais Ltda.*

2 INTRODUÇÃO

A identificação de populações é uma das preocupações básicas em programas de controle e conservação da variabilidade genética e, conseqüentemente, em programas de manejo e conservação de espécies, pela sua relação direta com o uso sustentável dos recursos naturais e a manutenção da produtividade total dos ecossistemas.

Recentes estudos populacionais com peixes têm utilizado os padrões de diferenciação genética também na determinação de regiões de berçários e caracterização de filopatria em diversas espécies (SCHREY e HEIST, 2003; PEREIRA *et al.*, 2009). Entre os segmentos do DNA mitocondrial, a região não codificadora, conhecida como *D-loop*, é especialmente relevante em estudos populacionais, em razão de apresentar as maiores taxas evolutivas de todo o genoma.

As observações de que os haplótipos de mtDNA de populações de muitas espécies estão localizados geograficamente em regiões distintas, introduziu uma dimensão filogenética nas discussões sobre estrutura de populações e levou à proposição do termo “filogeografia”. Desse modo, com base na distribuição geográfica dos haplótipos de mtDNA e no grau de divergência de sequências entre eles, categorias filogeográficas podem caracterizar áreas de ocupação, distribuição de populações, existência de barreiras ao fluxo gênico ou extinção de genótipos intermediários, ocorrência de zonas híbridas, taxas de migração e inferências cladísticas. De maneira geral, a presença de clones de mtDNA filogeneticamente próximos reflete a ocorrência de fluxo gênico ou a presença de barreiras recentes, enquanto descontinuidades genéticas mais profundas podem evidenciar separações populacionais historicamente mais antigas.

Os métodos de conservação devem ser adotados com base na estrutura das populações. Se uma população é estruturada, sua diversidade deve ser localmente conservada, visto que já devem existir adaptações locais que seriam perdidas se esta população fosse misturada com indivíduos de outras populações. No entanto, se a população é homogênea em todos os pontos de sua distribuição, então se pode optar por concentrar os esforços de proteção dessa espécie em uma determinada área e utilizar esses espécimes como fonte de indivíduos para re-colonização de outras áreas mais impactadas, quando houver necessidade.

No rio Teles Pires está sendo implantada a Usina Hidrelétrica Teles Pires, na divisa dos estados de Mato Grosso e Pará, compreendendo os municípios de Paranaíta – MT e Jacareacanga – PA, sendo Paranaíta, a cidade mais próxima, à 85 quilômetros. O lago formado pela barragem ocupará uma área de 150 km².

Informações sobre existência de estruturação populacional serão fundamentais para a tomada de decisão sobre a possível construção de um sistema de transposição de peixes no barramento da futura UHE Teles Pires, no rio Teles Pires. Assim, caso as populações estejam isoladas pela cachoeira de Sete Quedas, a construção de um sistema de transposição para peixes não será recomendada. Caso não haja estruturação populacional, haverá necessidade de construção de sistema de transposição para evitar que a criação de uma barreira artificial, no caso o barramento da UHE Teles Pires, isole populações que têm livre fluxo gênico.

Dessa maneira, o Programa de Investigação Genética da Ictiofauna além de importante, visa a atender ao Parecer Técnico nº 111/2010 - COHID/CGENE/DILIC/IBAMA, particularmente o exposto nas páginas 142/143 do referido documento.

3 OBJETIVOS

O Programa de Investigação Genética de Ictiofauna tem como objetivo gerar informações suficientes para identificar os níveis de variabilidade genética intra e inter populacional de espécies de peixes comumente encontradas na região da cachoeira de Sete Quedas, de interesse comercial e/ou interesse ecológico.

Para isto foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- Realizar campanha para amostragem de indivíduos de espécies de peixes de interesse comercial e/ou interesse ecológico, comumente encontradas na região (migradoras e não migradoras) de duas populações locais (a montante e a jusante da cachoeira Sete Quedas);

- Gerar dados genéticos (sequências do gene mitocondrial *D-loop*) de duas populações locais de cada uma das espécies de peixes analisadas;
- Utilizar as ferramentas analíticas disponíveis para identificar os níveis de variabilidade genética das populações/espécies que determina a ocorrência de estruturação populacional.

4 METAS

A meta deste Programa é identificar a estruturação populacional das espécies alvo de peixes migradoras e não migradoras na área da UHE Teles Pires.

5 ASPECTOS METODOLÓGICOS

5.1 Área de Abrangência

A área de amostragem abrange aproximadamente 30 km acima e 30 km abaixo da cachoeira de Sete Quedas, no rio Teles Pires, Paranaíta/MT e as capturas dos peixes foram realizadas em seis pontos distribuídos em toda a área de influência da implantação da UHE Teles Pires (Tabela 1; Mapa 01).

Todos os peixes do programa de investigação genética foram capturados através de uma campanha de campo com duração de 21 (vinte e um) dias no mês de agosto/2012, contemplando o período seco.

5.2 Metodologia aplicada

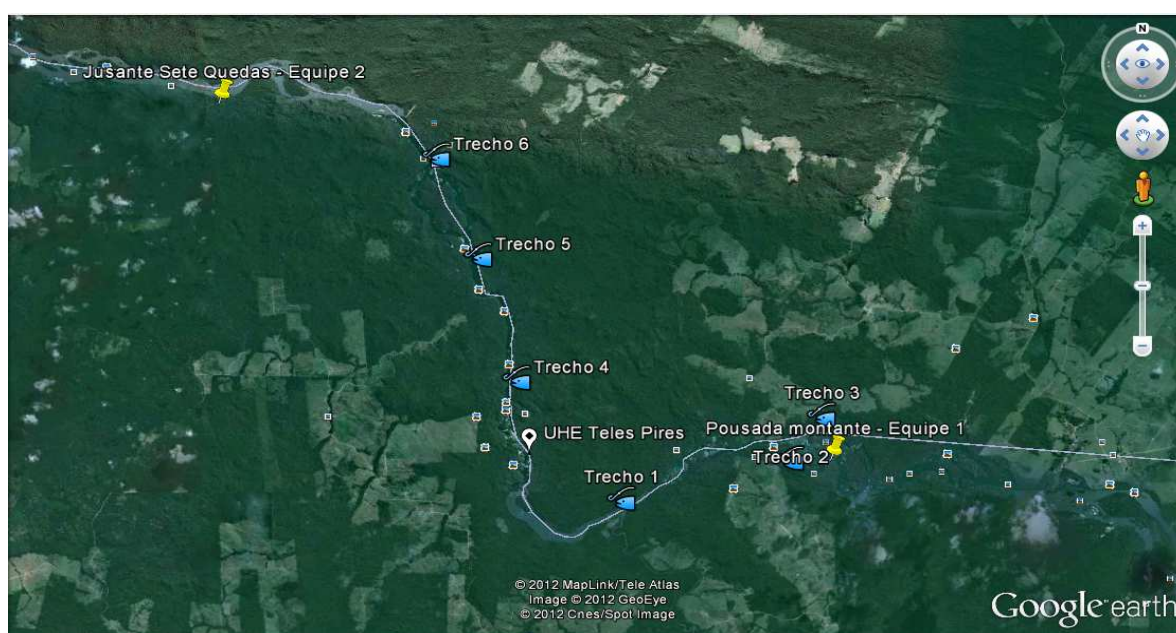
Para as capturas, utilizaram-se conjuntos de redes malhadeiras, de diferentes tamanhos de malhas (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120 mm entre nós opostos); rede de arrasto (malha 5,0 mm entre nós opostos); tarrafas de diversos tamanhos; espinhéis; anzol (diversos tamanhos) e linha (Figuras 1 a 6). As redes malhadeiras foram armadas no início da manhã, permanecendo cada uma delas por 12 horas em cada ponto de amostragem, distribuídos a jusante e a montante da cachoeira Sete Quedas no rio Teles Pires.

Ao longo do dia até o entardecer, foram realizadas vistorias para despesca dos peixes capturados com intervalos de 3 horas.

Tabela 1. Pontos amostrais de ictiofauna para o programa de investigação genética da UHE Teles Pires, rio Teles Pires/MT (agosto, 2012).

Ponto	Local	Coordenadas
Trecho 1	Montante	8961332
Trecho 2	Montante	8963980
Trecho 3	Montante	8963584
Trecho 4	Jusante	8966538
Trecho 5	Jusante	8971254
Trecho 6	Jusante	8975108

Obs: os trechos foram denominados desta forma, pois para cada área foram percorridos e amostrados até 7 km.



Mapa 1. Pontos amostrais de ictiofauna para o programa de investigação genética da UHE Teles Pires, rio Teles Pires/MT (Google Earth, 2012).



Figura 1. Amostragens com redes de emalhar, no rio Teles Pires (agosto, 2012).



Figura 2. Amostragens com redes de arrasto, no rio Teles Pires (agosto, 2012).



Figura 3. Amostragens com tarrafas, no rio Teles Pires (agosto, 2012).



Figura 4. Amostragens com espinhel no rio Teles Pires (agosto, 2012).



Figura 5. Amostragens com caniço, no rio Teles Pires (agosto, 2012).



Figura 6. Soltura dos exemplares no rio Teles Pires, após a coleta de fragmentos para análise genética (agosto, 2012).

5.3 Procedimentos com exemplares capturados

Cinco exemplares de cada espécie e localidade foram fixados em formol 10%, conservados em álcool 70% e depositados em uma coleção credenciada junto ao IBAMA, como espécimes-testemunho do presente estudo, os demais exemplares amostrados foram devolvidos vivos ao local de captura.

Após a captura, os peixes foram retirados dos respectivos petrechos de pesca tomando-se todos os cuidados necessários ao bem-estar dos mesmos, cortando a malha da rede sempre que necessário para evitar lesões. Os peixes foram colocados em tanque de 100 litros da embarcação, contendo água do rio, trocada após cada captura. A quantidade de peixes colocada no tanque foi de acordo com o tamanho dos exemplares, visando o mínimo de estresse. Para cada exemplar foi realizada uma biópsia da nadadeira caudal sem sacrifício dos exemplares capturados. Em seguida, o local do qual a amostra foi retirada foi banhado com solução curativa “polvidine” e após esse procedimento os peixes foram soltos no mesmo local de captura.

Os tecidos foram acondicionados em etanol 95% e enviados para o Laboratório de Genética de Organismos Aquáticos e Aquicultura (LAGOAA) do Núcleo Integrado de Biotecnologia da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC)/SP onde são processados com o isolamento do DNA, amplificação pela técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) da região *D-loop* mitocondrial (região mais variável para estudos populacionais), purificação e sequenciamento. As sequências geradas serão analisadas *in silico* por programas específicos de análise genética.

Para cada espécie foi coletada uma amostra de cerca de 30 (trinta) indivíduos acima e 30 (trinta) indivíduos abaixo da cachoeira Sete Quedas, totalizando cerca de 600 amostras.

5.4 Análises Genéticas

O DNA total será obtido a partir de amostras de nadadeiras ou músculo, utilizando *kits* comerciais para extração de DNA total.

5.5 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada com o *kit* de extração NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel), conforme instruções do fabricante. Optou-se por utilizar o *kit*, pois uma extração de DNA com alto grau de pureza com o DNA não denaturado é o passo inicial e imprescindível para a obtenção de resultados rápidos e exatos.

O protocolo baseia-se na homogeneização do tecido, lise do tecido para a liberação do conteúdo citoplasmático, remoção do RNA, purificação das amostras para a remoção das proteínas e posterior precipitação do DNA.

Após a extração, as amostras foram avaliadas quanto à integridade e concentração de DNA e comparadas com o marcador molecular *Low DNA Mass* (Invitrogen), por meio de gel de agarose 0,8% em tampão TAE 1X (0,04M Tris-acetato, 0,001M EDTA), corado com brometo de etídio (1 mg/mL), fotografados sob luz UV, para confirmação da concentração de DNA as amostras também foram quantificadas no espectrofotômetro NanoVue™ GE life science e por espectrofotômetro NanoPhotometer® modelo P-300 da empresa Implen. As concentrações variaram entre 50 e 200 ng/μL e aproximadamente 1,8 na relação A₂₆₀/A₂₈₀, o que indica baixa contaminação proteica ou por RNA.

5.6 Iniciadores para teste

Como não há iniciadores específicos descritos para as dez espécies utilizadas neste estudo para a amplificação da região controladora do DNA mitocondrial (*D-loop*) foram utilizados cinco iniciadores descritos para espécies filogeneticamente próximas, disponíveis no Laboratório de genética de organismos aquáticos e aquicultura (LAGOAA) e no Laboratório de Biologia e Genética de Peixes – UNESP/Botucatu (Tabela 2). A concentração dos iniciadores utilizados foi de 10mM.

Tabela 2. Sequências dos iniciadores.

Primer	Sequência	Referência
DLA-D	5'-TCC YAC CCC TAA CTC CCA AAG-3'	Montoya-Burgos (2003)
DLA-R	5'-AGT CAG GAC CAA RCC TTT GTG C-3'	Montoya-Burgos (2003)
FTT-F	5'-GCC TAA GAG CAT CGG TCT TGT AA-3'	Sivasundar et al. (2000)
F12-R	5'-GTC AGG ACC ATG CCT TTG TG-3'	Sivasundar et al. (2000)
CR1	5'-ACT GTA AGA AGG GCG TAC GTA GGT-3'	Dados não publicados
Perc12S1	5- GCG GAT ACT TGC ATG TGT AA -3'	Santa Brígida et al. 2007
A1	5'-TTC CAC CTC TAA CTC CCA AAG CTAG -3'	Lee et al, 1999
L15774M	5'-CAACATGAATTGGAGGTATACCAAGT-3'	Cronin et al.,1993
H16498	5'-CCTGAAGTAGGAACCAAGATG-3'	Meyer et al., 1990

5.6 Condições de PCR usadas para geração de amplicon do D-Loop e sequenciamento

As reações de PCR foram feitas com um mix de 0,5 μM de cada iniciador, 1,5 a 3,5 mM MgCl₂, 2,5 mM de dNTPs, 1 unidade de Taq DNA polimerase, 30-100 ng de DNA total, 1,25 μl de tampão 10× Taq e volume de água para completar 12,5 ul. . A variação na quantidade de MgCl₂ foi utilizada visando modificar a especificidade da reação.

As condições para a amplificação da região D-loop com os primers LGPA R e LGPA F e Perc12r e A1 e L e H, foram de 94° C por 1 minuto para desnaturação inicial, seguidos por 35 ciclos para anelamento e duplicação da região alvo de 94°C por 30 segundos; 50°C por 30 segundos; 72°C por 1 minuto finalizando com a extensão final à 72°C por 7 minutos e 4° C ∞ para conservar a reação.

Para os primers FTTF e F12R, DLA-D e CR1 e DLA-D / DLA-R programa para a PCR foi realizado utilizando o método *touchdown* para evitar a amplificação de sequências não específicas. O programa consiste em desnaturação inicial do material a 95°C durante 5 minutos; 2 ciclos com denaturação a 95°C durante 1 minuto, permanência a 60°C durante 30 segundos para anelamento e extensão a 68°C durante 1 minuto e 30 segundos; 2 ciclos com denaturação a 95°C durante 1 minuto, permanência a 57°C durante 30 segundos para anelamento e extensão a 68°C durante 1 minuto e 30 segundos; 28 ciclos com denaturação a 95°C durante 1 minuto, permanência a 55°C durante 30 segundos para anelamento e extensão a 68°C durante 1 minuto e 30 segundos; seguindo-se a extensão final durante 10 minutos a 68°C.

As reações de PCR foram visualizadas em géis de agarose a 1,0% (0,1g de agarose/ 1ml de tampão TAE 1%), corados com brometo de etídio (1mg/mL), e posteriormente digitalizados em fotodocumentador ImageQuant 300 (GE HealthcareLife Sciences), utilizando-se luz UV. A verificação do tamanho das bandas obtidas foi realizada por comparação com o marcador de peso molecular 100pb (Invitrogen e Fermentas).

5.7 Sequenciamento

Após a amplificação do fragmento de interesse, foi realizada a purificação enzimática do produto de PCR usando o kit *ExoSAP-IT*[®], seguindo as recomendações do fabricante.

Para a reação de sequenciamento (Sanger et al. 1977), foi utilizado 1 µl da solução proveniente da purificação enzimática, a reação foi realizada em um volume final de 10 µl, utilizando entre 30-40 ng/µl do material amplificado e purificado para cada um dos dois iniciadores, seguindo o protocolo do kit de sequenciamento *DYEEamic ET dye terminator* (Applied Biosystems).

O produto da reação de sequenciamento foi purificado utilizando-se EDTA (0,5Mm) como agente quelante para a eliminação dos iniciadores, dNTPs e ddNTPs não incorporados durante a amplificação de sequenciamento e acetato de sódio como agente protetor do produto amplificado, sendo utilizado o protocolo recomendado pelo fabricante, seguindo o manual do kit de sequenciamento *DYEEamic ET dye terminator* (Applied Biosystems). A leitura dos fragmentos de DNA sequenciados foi realizada em sequenciador automático modelo ABI 3130 (Applied Biosystems).

5.8 Análises estatísticas

5.8.1 Qualidade e alinhamento das sequências

A qualidade das sequências foram visualizadas no programa CodonCode Aligner 1.4.1 (2005) e/ou otimizadas no Bioedit, versão 7.05.3. Todas as sequências foram alinhadas usando ClustalX, versão 1.83.

5.8.2 AMOVA

Padrões espaciais e temporais de variação genética em populações naturais fornecem informações importantes para a genética da conservação porque apontam estratégias de como maximizar a diversidade genética. Para se pesquisar tais padrões, há a necessidade de se conhecer modelos e estimativas de diferenciação genética, tais como a análise da estrutura genética das populações realizada pela Análise da Variância Molecular (AMOVA – Analysis of molecular variance), (Excoffier et al., 1992) no programa Arlequin, versão 3.5.1.2. (Excoffier e Lischer, 2010).

Esta análise é uma estimativa de estrutura genética populacional que leva em conta a variação na frequência gênica dos haplótipos, e o número de diferenças de sítios de restrição entre eles. Os valores de divergências são incorporados a uma análise de variância para estimar o grau de subdivisão genética intraespecífica (Excoffier et al., 1992). Desta forma são produzidas estimativas dos componentes de variância e valores análogos ao F_{ST} (Wright, 1951), modificados para genomas haplóides (Weir e Cockerham, 1984). A significância estatística do F_{ST} é muito utilizada como medida genética de diferenciação entre subgrupos de uma população (Epperson, 2003).

Para quantificar o efeito do cruzamento parental (*inbreeding*) na subestrutura de população, Wright (1978) definiu o que veio a ser chamado “índice de fixação”, onde:

- ✓ F_{ST} 0,00 - 0,05: indicativo de pouca diferenciação genética
- ✓ F_{ST} 0,05 - 0,15: diferenciação genética moderada
- ✓ F_{ST} 0,15 – 0,25 indicativo de um alto nível de diferenciação genética
- ✓ F_{ST} > 0,25: nível muito alto de diferenciação genética

Este índice é igual á redução no grau de heterozigose esperada com cruzamentos aleatórios em qualquer um dos níveis hierárquicos de uma população em relação a outro nível mais inclusivo da hierarquia (Epperson, 2003).

5.8.3 Teste de neutralidade

Para avaliar a neutralidade do processo de seleção natural foram usados os testes de F_s de Fu e D de Tajima executados no programa DnaSP.

- D de Tajima - O teste de neutralidade seletiva D de Tajima, se baseia no modelo dos sítios infinitos sem recombinação (Kimura, 1969), apropriado para sequências curtas de DNA. O modelo dos sítios infinitos assume que os sítios ao longo de uma sequência de DNA sofrem mutações independentes e irregulares e que a probabilidade de um mesmo sítio sofrer mutações duas vezes é infinitamente pequena (Epperson, 2003). Se o resultado destes testes forem não significativos podemos dizer que as populações estão em equilíbrio genético. Estes testes de neutralidade também foram usados como indicadores de recente expansão populacional quando a hipótese nula de neutralidade for rejeitada devido a valores negativos significativos ($p < 0,05$). Eventos como expansão populacional, efeito “gargalo de garrafa” ou heterogeneidade nas taxas de mutação podem gerar tais valores significativos (Tajima, 1993).
- F_s de Fu – É um teste de neutralidade mais sensível aos eventos de seleção. A variabilidade genética foi estimada usando os seguintes parâmetros: diversidades nucleotídicas (π) (Nei, 1987), diversidades haplotípicas (H_d) (Nei and Tajima, 1981) e número de sítios polimórficos (S) pelo programa DnaSP (Rozas et al., 2003).
- Diversidade nucleotídica (π) - Conceito em genética molecular utilizado para medir o grau de polimorfismo numa população. É definido como o número médio em dois sítios homólogos escolhidos aleatoriamente a partir da população amostrada.
- Diversidade haplotípica (h) - Calcula a probabilidade de dois haplótipos diferentes estarem presentes na mesma amostra. É o correspondente a taxa de heterozigosidade do genoma nuclear, utilizado para medir o grau de variabilidade genética.

5.8.4 Rede de haplótipos

A rede de haplótipos foi realizada no programa Network 3.1.1.1 (Bandelt et al. 1999), para verificar a distribuição dos haplótipos nas populações e estabelecer a relação filogenética entre os alelos encontrados e avaliar a existência de correlação entre a estrutura genética e geográfica. Tais dados foram calculados com critérios de parcimônia estatística por meio do algoritmo *Median Joing*.

6 RESULTADOS

6.1 Amostras

Foram capturados 635 exemplares de peixes, pertencentes a 11 espécies (Prancha 01). Destas, 6 tem comportamento migrador e 5 não-migrador. Estes foram capturados a jusante e montante da cachoeira de Sete Quedas, no rio Teles Pires, MT de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3. Número de exemplares de peixes por espécie e comportamento, capturados no rio Teles Pires, MT (agosto, 2012).

Espécie	Comportamento	Montante	Jusante	Total
<i>Brycon falcatus</i>	Migrador	31	31	62
<i>Brycon pesu</i>	Migrador	30	30	60
<i>Curimata inornata</i>	Não-Migrador	30	34	64
<i>Melanocharacidium cf. dispilomma</i>	Não-Migrador	30	30	60
<i>Myleus torquatus</i>	Migrador	31	35	66
<i>Phractocephalus hemioliopterus</i>	Migrador	0	10	10
<i>Plagioscion squamosissimus</i>	Não-Migrador	31	31	62
<i>Prochilodus nigricans</i>	Migrador	39	30	69
<i>Squaliforma emarginata</i>	Não-Migrador	30	36	66
<i>Zungaro zungaro</i>	Migrador	30	30	60
<i>Hypostomus sp.3</i>	Não-Migrador	30	26	56
Total Geral		312	323	635

A - Migradores



1



2



3



4



5



6

B – Não Migradores



7



8



9



10



11

Prancha 1 A e B – Espécies de peixes capturadas para programa de investigação genética da UHE Teles Pires, rio Teles Pires/MT (agosto, 2012). **(A) Espécies migradoras:** (1) *Brycon falcatus*; (2) *Brycon pesu*; (3) *Myleus torquatus*; (4) *Prochilodus nigricans*; (5) *Phractocephalus hemiliopterus* e (6) *Zungaro zungaro*. **(B) Espécies não-migradoras:** (7) *Curimata inornata*; (8) *Melanocharacidium* cf. *dispilomma*; (9) *Plagioscion squamosissimus*; (10) *Hyposotmus* sp.3 e (11) *Squaliforma emmarginata*.

6.2 Reações de PCR

Foi realizada a padronização das reações de PCR e após ser determinado o melhor conjunto de iniciadores, concentração de magnésio e temperatura de anelamento (Tabela 4) para cada espécie, os produtos das amplificações, visualizados em gel de agarose a 1% (Figura 7) foram purificados e sequenciados em sequenciador automático. (Figura 8).

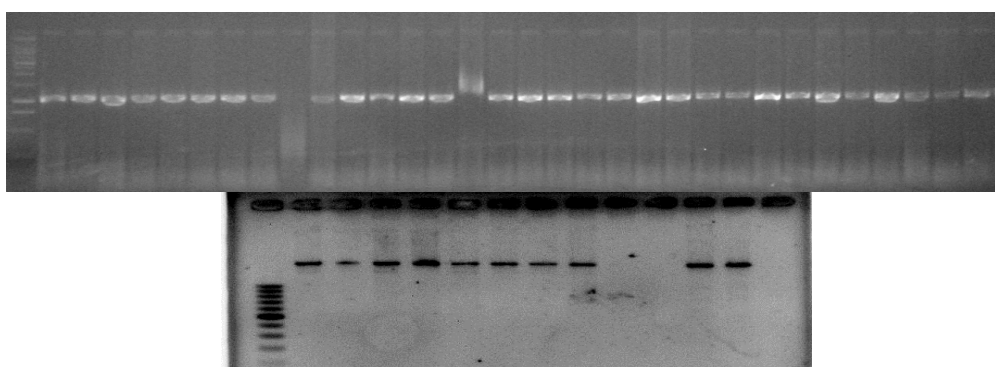


Figura 7. Fragmentos de D-loop de indivíduos da espécie *Zungaro zungaro* e *Prochilodus nigricans*. Gel em agarose 1%.

Tabela 4. Conjunto de iniciadores, concentração de magnésio e temperatura de anelamento de cada espécie estudada.

Espécie	Temp. de anel.	[] Mg ⁺² Cl	Iniciadores
<i>Zungaro zungaro</i>	60°C e 57°C	2,5mM	FTT-F e F12-R.
<i>Myleus torquatus</i>	60°C e 57°C	2,5mM	FTT-F e F12-R.
<i>Melanocharacidium cf. displiomma</i>	60°C e 57°C	2,5mM	FTT-F e CR1
<i>Curimata inornata</i>	50°C	2,5mM	Perc 12 e A1
<i>Prochilodus nigricans</i>	60°C e 57°C	2,5mM	Perc 12 e A1
<i>Plagioscion squamosissimus</i>	50°C	3,0mM	LGPA R e LGPA F
<i>Brycon falcatus</i>	50°C	3,0mM	H e L

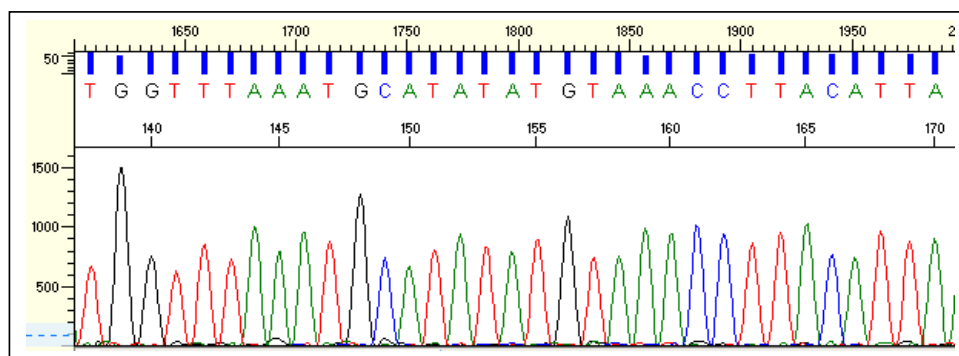


Figura 8. Porção inicial do eletroferograma gerado a partir da sequência nucleotídica do *D-loop*

6.3 Amostras extraídas e Sequenciadas

Todas as amostras enviadas ao Laboratório de Genética de Organismos aquáticos e Aquicultura – LAGOAA foram organizadas conforme tabela abaixo:

Tabela 5. Número de exemplares de peixes por espécie com DNA extraído e número de sequências nucleotídicas obtidas.

Espécies	Amostras extraídas			Amostras sequenciadas		
	Montante	Jusante	Total	Montante	Jusante	Total
<i>Brycon falcatus</i>	31	31	62	28	24	52
<i>Curimata inornata</i>	30	34	64	15	13	28
<i>Melanocharacidium cf. dispilomma</i>	30	30	60	11	24	35
<i>Myleus torquatus</i>	31	35	66	29	23	52
<i>Plagioscion squamosissimus</i>	31	31	62	27	28	55
<i>Prochilodus nigricans</i>	39	30	69	23	27	50
<i>Zungaro zungaro</i>	30	30	60	27	31	58
<i>Brycon pesu</i>	30	30	60	Não foram obtidas amplificações		
<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	0	10	10	Não foram obtidas amplificações		
<i>Squaliforma emarginata</i>	30	36	66	Não foram obtidas amplificações		
<i>Hypostomus sp.</i>	30	26	56	Não foram obtidas amplificações		
Total Geral	312	323	635	160	169	329

6.4 Espécies sequenciadas

6.4.1 *Curimata inornata*

Ao iniciar o alinhamento das sequências foi observado que alguns animais apresentavam grandes diferenças nas sequências sugerindo que estes possam ter apresentado problemas no sequenciamento. Dos 64 animais que foram sequenciados, 28 sequências a montante e a jusante foram avaliadas e analisadas quanto aos parâmetros abaixo.

6.4.1.1 AMOVA

Estes resultados mostram um índice alto de diversidade genética, representado pela diversidade haplotípica $h = 70\%$, o valor representa a variabilidade de tipos diferentes de sequências da região do DNA mitocondrial avaliados no presente estudo. A baixa variabilidade das sequências pode representar um estrangulamento populacional ou colonização recente. O índice de divergência nucleotídica representa um percentual de divergência de mutações entre os haplótipos que surgem ao longo do processo evolutivo da população. O valor de $\pi = 1,51\%$ está dentro dos parâmetros para peixes (Tabela 7).

Tabela 6. Características moleculares das sequências *Curimata inornata* e índices de diversidade nucleotídica e haplotípica

<i>Curimata inornata</i>	
Número de sequências	28
Número total de sítios	374
Número de sítios polimórficos (S)	27
Número total de mutações (Eta)	29
Diversidade nucleotídica ($\pi \pm S.D$)	$\pi = 0,01512 (\pm 0,002)$
Número de haplótipos (h)	10
Diversidade haplotípica ($hd \pm S.D$)	0,704 ($\pm 0,089$)
Φ_{ST}	0,6865 ($p = 0,000$)

6.4.1.2 Teste de Neutralidade

O teste de neutralidade de Tajima (Tabela 7) verifica se que o marcador utilizado é de caráter neutro, isto é, não está submetido por forças de seleção.

Fator importante, pois o resultado representa que a diferenciação populacional foi gerada por isolamento e ausência de conectividade entre as populações.

Os valores negativos do teste de neutralidade demonstram que a região mitocondrial utilizada para a presente análise é igual a zero e, assim, o marcador pode ser considerado neutro. Outra avaliação que se pode inferir deste valor é que a população apresenta um excesso de polimorfismo de baixa frequência relativo ao esperado, o que indica que a espécie está em expansão populacional.

Tabela 7. Valores do teste de neutralidade de Tajima para a população a jusante e montante. Significância estatística é de $p < 0,05$.

Teste de Neutralidade		
	Jusante	Montante
D de Tajima	-1.28129	-1.88528
Valor de P	0.10200	0.01400

Por último a comparação entre as duas regiões amostradas apresentou um valor de a diferenciação populacional Φ_{ST} (similar ao F_{ST}) baixo. Isto pode ser explicado pela natureza não migradora da espécie, sendo que esta estruturação poderia já estar presente anteriormente à construção da barragem. Esta hipótese somente poderá ser corroborada com estudos mais amplos da espécie na região com amostragens em tributários da bacia. De acordo com Wright (1978) valores maiores do que 0,25 representam alta estruturação genética.

6.4.1.3 Rede de haplótipos

A separação entre as localidades pode ser visualizada na rede de haplótipos abaixo, que mostra claramente a separação dos haplótipos a montante e jusante (Figura 9).

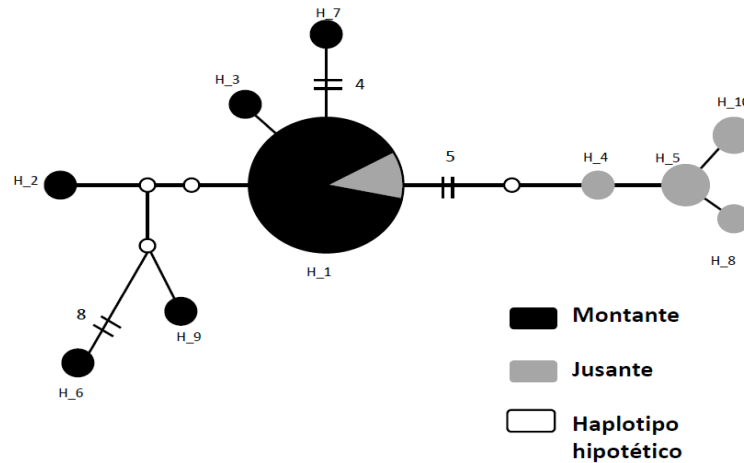


Figura 9. Rede de haplótipos com a separação dos haplótipos de *Curimata inornata* a montante e a jusante. O tamanho do círculo é proporcional à quantidade de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipo.

6.4.1.4 Conclusões

- O índice de diversidade das populações avaliadas pode ser considerado altas devido aos valores de $h = 70\%$ e $\pi = 1,51\%$.
- O valor de $\Phi_{ST} = 0,6865$ ($p = 0,000$) mostra que as populações da espécie em questão, a montante e a jusante apresentam alta estruturação genética.
- Os valores de Tajima e F_u , bem como a rede de haplótipos sugerem que a população esteja em processo expansão.

6.4.2 *Plagioscion squamosissimus*

6.4.2.1 AMOVA

Foram avaliados 55 indivíduos ao longo da jusante e montante. Das análises realizadas, os resultados mostram que há um índice alto de diversidade genética, representado pela diversidade haplotípica $h = 89\%$ e nucleotídica de $\pi = 2,43\%$ que representa um percentual de divergência de mutações entre os haplótipos que surgem ao longo do processo evolutivo da população.

Tabela 8. Características moleculares das sequências e índices de diversidade nucleotídica e haplotípica.

<i>Plagioscion squamosissimus</i>	
Número de sequências	55
Número total de sítios	561
Número de sítios polimórficos (S)	31
Número total de mutações (Eta)	34
Diversidade nucleotídica ($\pi \pm S.D$)	$\pi = 0,02437$ ($\pm 0,0007$)
Número de haplótipos (h)	18
Diversidade haplotípica ($hd \pm S.D$)	0,893 ($\pm 0,023$)
Φ_{ST}	0.44578 (p= 0,5910)

6.4.2.2 Teste de neutralidade

O marcador escolhido para este estudo nesta espécie não está submetido por forças de seleção, representando que a diferenciação populacional foi gerada por isolamento. Há pouca conectividade entre as populações, tal afirmação pode ser averiguada pelo teste de neutralidade de Tajima (Tabela 09). A comparação entre as duas regiões amostradas apresentou um valor de diferenciação populacional Φ_{ST} (similar ao F_{ST}) alta, $\Phi_{ST} = 0,445$ (p=0,591).

Tabela 9. Valores do teste de neutralidade de Tajima para a população a jusante e montante. Significância estatística é de p<0,05.

Teste de Neutralidade		
	Jusante	Montante
D de Tajima	-1.04820	-0.51461
Valor de P	0.56500	0.14900

6.4.2.3 Rede de Haplótipos

A afirmação sobre a separação entre as populações pode ser visualizada na rede de haplótipos abaixo, que mostra claramente a separação dos haplótipos a montante e a jusante (Figura 10).

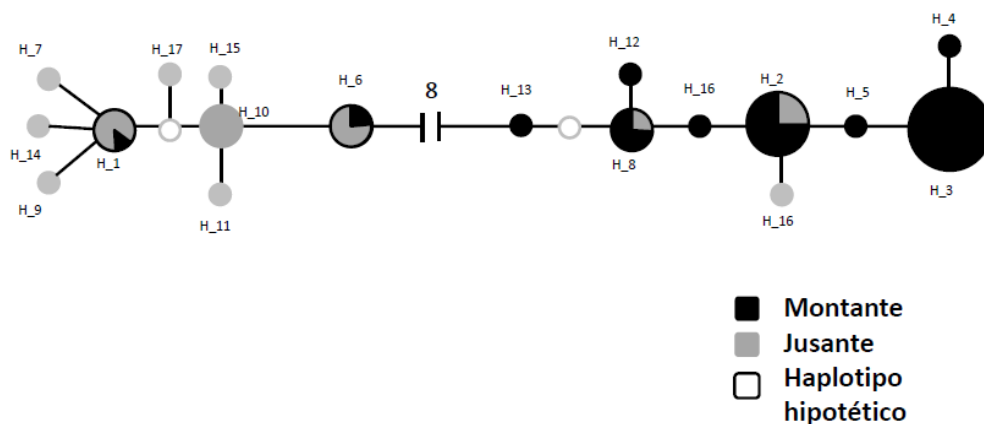


Figura 10. Rede de haplótipos com a separação dos haplótipos a montante e a jusante. O tamanho do círculo é proporcional à quantidade de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipos.

6.4.2.4 Conclusões

- O índice de diversidade da população aqui analisada pode ser considerado alto devido aos valores de $h = 89\%$ $\pi = 2,43\%$
- O valor de $\Phi_{ST} = 0,445$ ($p = 0,00591$) mostra que as populações a montante e a jusante da espécie em questão apresentam alta estruturação genética.
- Os valores de Tajima e F_u , bem como a rede de haplótipos sugerem que a população esteja em processo expansão e apresentam baixa conectividade.

6.4.3 *Melanocharacidium cf. dispilomma*

A avaliação das sequências indicou que muitas se encontravam abaixo da qualidade esperada, o que dificultaria o processo de análise ocasionando resultados errôneos, assim, dos 60 animais que foram sequenciados, 35 sequências a montante e a jusante foram avaliadas e analisadas.

6.4.3.1 AMOVA

A diversidade haplotípica alta $h = 61\%$ indica o índice alto de diversidade genética, ou seja, uma grande variabilidade das sequências de D-loop, acrescentado ao valor do índice de divergência nucleotídica de $\pi = 1,50\%$, sugere que a população encontra-se em expansão. (Tabela 10).

Tabela 10. Características moleculares das sequências *Curimata inornata* e índices de diversidade nucleotídica e haplotípica.

Melanocharacidium cf. dispilomma	
Número de sequências	35
Número total de sítios	307
Número de sítios polimórficos (S)	12
Número total de mutações (Eta)	12
Diversidade nucleotídica ($\pi \pm S.D$)	$\pi = 0,01504 (\pm 0,001)$
Número de haplótipos (h)	6
Diversidade haplotípica ($hd \pm S.D$)	0,612 ($\pm 0,054$)
Φ_{ST}	0,835 ($p=0.000$)

6.4.3.2 Teste de neutralidade

O teste de neutralidade de Tajima foi negativo (Tabela 11), representando que o marcador utilizado é de caráter evolutivo/neutro e a população apresenta sinais de expansão.

Quando realizada a comparação entre as duas regiões amostradas foi alcançado um valor de a diferenciação populacional Φ_{ST} (similar ao F_{ST}) alto, $\Phi_{ST}=0,835$ ($p=0.000$). Isto pode ser explicado pela natureza não migradora da espécie.

Tabela 11. Valores do teste de neutralidade de Tajima para a população a jusante e montante. Significância estatística é de $p < 0,05$.

Teste de Neutralidade		
	Jusante	Montante
D de Tajima	-128,003	0,000
Valor de P	0.11100	100,000

6.4.3.3 Rede de haplótipos

A diferenciação populacional da montante e jusante da barragem é mostrada através do esquema na rede de haplótipos abaixo. (Figura 11).

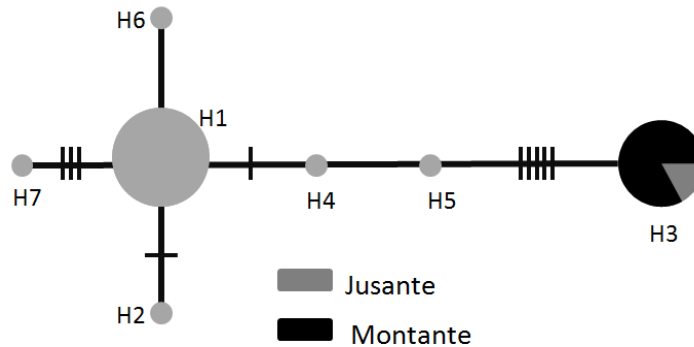


Figura 11. Rede de haplótipos com a separação dos haplótipos a montante e a jusante. O tamanho do círculo é proporcional à quantidade de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipo.

6.4.3.4 Conclusões

- O índice de diversidade da população desta espécie pode ser considerado moderado devido aos valores de $h = 61\%$ $\pi = 1,5\%$.
- O valor relativamente alto de $\Phi_{ST} = 0,835$ ($p = 0,000$) sugere que as populações desta espécie apresentam alta estruturação genética a jusante e montante.
- Os valores de Tajima e F_u , bem como a rede de haplótipos sugerem que a população esteja em processo expansão/ equilíbrio.

6.4.4 *Prochilodus nigricans*

Cinquenta sequências a montante e a jusante foram avaliadas e usadas para análise genética.

6.4.4.1 AMOVA

A alta diversidade haplotípica $h = 96\%$ e valor de divergência nucleotídica de $\pi = 1,18\%$ demonstra alta diferenciação mutacional entre os haplótipos (Tabela 12).

Tabela 12. Características moleculares das sequências *Prochilodus nigricans* e índices de diversidade nucleotídica e haplotípica.

<i>Prochilodus nigricans</i>	
Número de sequências	50
Número total de sítios	321
Número de sítios polimórficos (S)	25
Número total de mutações (Eta)	26
Diversidade nucleotídica ($\pi \pm$ S.D)	$\pi = 0,01181 (\pm 0,001)$
Número de haplótipos (h)	30
Diversidade haplotípica ($hd \pm$ S.D)	0,960 ($\pm 0,016$)
Φ_{ST}	0, 01773 (p= 0.15934)

6.4.4.2 Teste de neutralidade

O teste de neutralidade de Tajima foi negativo (Tabela 13), caracterizando que a população também apresenta sinais de expansão e excesso de polimorfismo de baixa frequência.

Tabela 13. Valores do teste de neutralidade de Tajima para a população a jusante e montante. Significância estatística é de $p < 0,05$.

Teste de Neutralidade		
	Jusante	Montante
D de Tajima	-0.84442	-0.25689
Valor de P	0.21700	0.43100

Em relação ao índice de diferenciação populacional o valor baixo de $\Phi_{ST} = 0, 01773$ ($p = 0.15934$) significa que não há diferença genética entre as populações a montante e a jusante.

6.4.4.3 Rede de haplótipos

A rede de haplótipos (Figura 12) mostra a não separação dos haplótipos a montante e a jusante, corroborando para a afirmação que nesta população não há diferenciação genética.

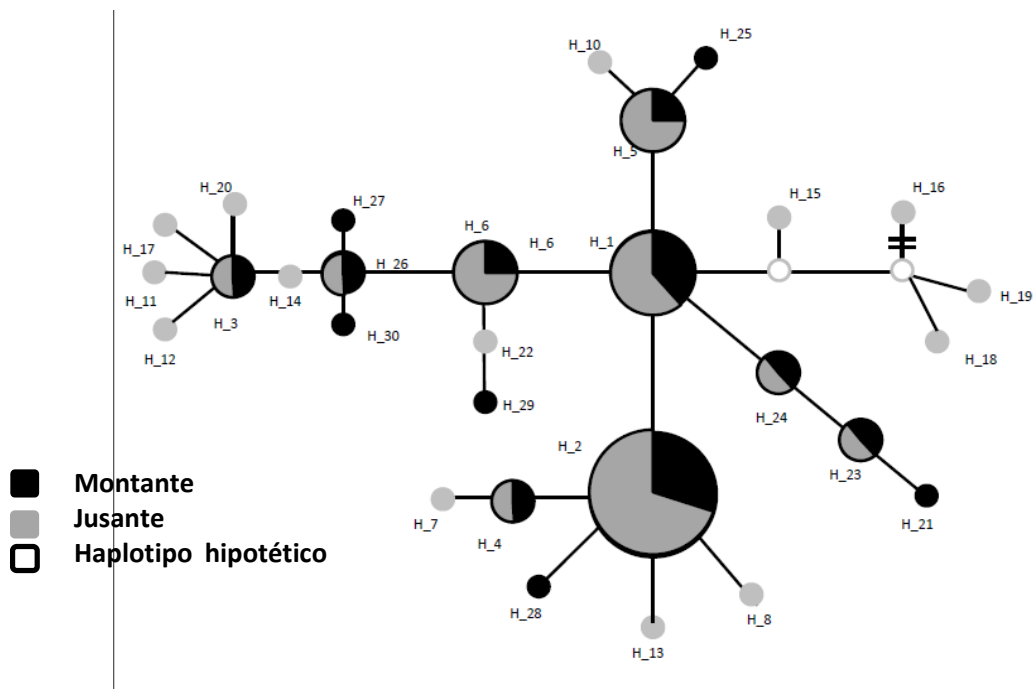


Figura 13. Rede de haplótipos com a separação dos haplótipos a montante e a jusante. O tamanho do círculo é proporcional à quantidade de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipo.

6.4.4.4 Conclusões

- O índice de diversidade das populações avaliadas pode ser considerado alto devido aos valores de $h = 96\%$ $\pi = 1,18$, ocasionado pela grande variação genética.
- O valor de Φ_{ST} mostra que as populações a montante e a jusante da espécie em questão apresentam baixa estruturação genética. Esta ausência de estruturação pode ser atribuída a altos níveis de fluxo gênico devido a características da espécie com alta capacidade de dispersão.
- Os valores de Tajima e F_u bem como a rede de haplótipos sugerem que a população esteja em processo de expansão.

6.4.5 *Brycon falcatus*

Cinquenta e duas amostras foram avaliadas com 393 pares de bases, foram obtidos 79 haplótipos, ou seja, sequências que apresentam ao menos diferença em uma base nucleotídica quando comparada as demais.

6.4.5.1 AMOVA

A diversidade haplotípica $h = 91\%$ é alta assim como o valor de divergência nucleotídica $\pi = 7,08\%$ o que demonstra expansão populacional, (Tabela 14).

Tabela 14. Características moleculares das sequências *Brycon falcatus* e índices de diversidade nucleotídica e haplotípica.

<i>Brycon falcatus</i>	
Número de sequências	52
Número total de sítios	393
Número de sítios polimórficos (S)	79
Número total de mutações (Eta)	84
Diversidade nucleotídica ($\pi \pm S.D$)	$\pi = 0,07084 (\pm 0,00614)$
Número de haplótipos (h)	32
Diversidade haplotípica ($hd \pm S.D$)	0,915 ($\pm 0,034$)
Φ_{ST}	0.07282 (± 0.04985)

6.4.5.2 Teste de neutralidade

O teste de neutralidade de Tajima (Tabela 15) apresentou valores positivos o que significa níveis baixos de polimorfismos, indicando uma diminuição no tamanho da população e/ou equilíbrio.

Tabela 15. Valores do teste de neutralidade de Tajima para a população a jusante e montante. Significância estatística é de $p < 0,05$.

Teste de Neutralidade		
	Jusante	Montante
D de Tajima	0.92573	2.61352
Valor de P	0.87100	1.00000

Em relação ao índice de diferenciação populacional o valor foi de $\Phi_{ST} = 0.07282$ ($p=0.04985$) significando que não há diferença genética entre as populações a montante e a jusante.

6.4.5.3 Rede de haplótipos

Os dados descritos pelo teste de neutralidade podem ser exemplificados com a rede de haplótipos (Figura 14) que mostram a grande distribuição dos mesmos haplótipos a montante e jusante.

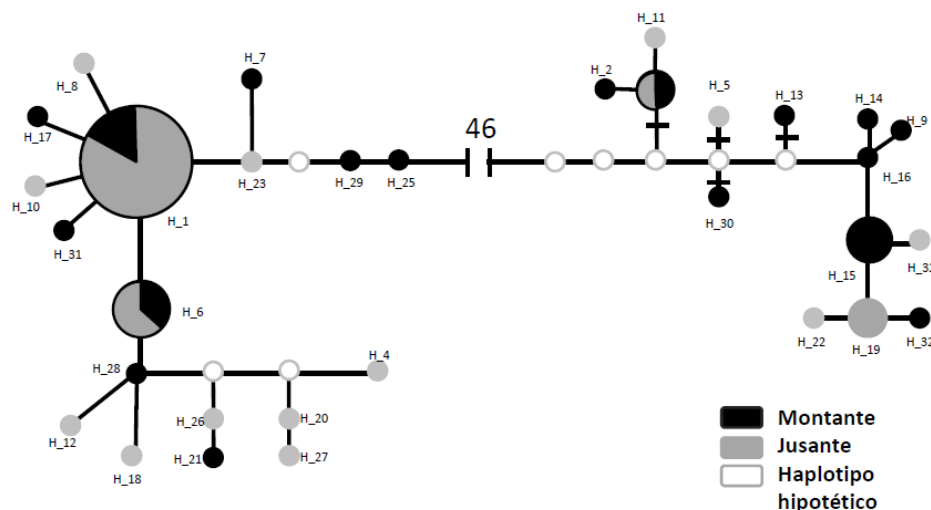


Figura 14. Rede de haplótipos com a separação dos haplótipos a montante e a jusante. O tamanho do círculo é proporcional à quantidade de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipo.

6.4.5.4 Conclusões

- A diversidade das populações avaliadas pode ser considerada elevada devido aos valores de $h = 91\%$ $\pi = 7,08$, causados pela grande variação genética.
- O índice de Φ_{ST} mostra que as populações a montante e a jusante da espécie em questão apresentam baixa a moderada estruturação genética, podendo ser atribuídos à grande capacidade de dispersão da espécie.
- Os valores de Tajima e F_u bem como a rede de haplótipos sugerem que a população esteja em processo de diminuição ou/e equilíbrio.

6.4.6 *Zungaro zungaro*

Cinquenta e oito amostras com 384 pares de bases foram avaliadas, e apenas 8 haplótipos dentre a população, número baixo quando comparada as demais espécies migradoras.

6.4.6.1 AMOVA

Das análises realizadas, os resultados mostram que há um índice moderado de diversidade genética, representado pela diversidade haplotípica $h = 41\%$ indicando pouca variabilidade de sequências da região do DNA mitocondrial. O índice de divergência nucleotídica $\pi = 0,13\%$ representa um percentual de divergência de mutações entre os haplótipos abaixo. (Tabela 16).

Tabela 16. Características moleculares das sequências e índices de diversidade nucleotídica e haplotípica.

<i>Zungaro zungaro</i>	
Número de sequências	58
Número total de sítios	384
Número de sítios polimórficos (S)	7
Número total de mutações (Eta)	7
Diversidade nucleotídica ($\pi \pm S.D$)	$\pi = 0,00136 (\pm 0,001)$
Número de haplótipos (h)	8
Diversidade haplotípica ($hd \pm S.D$)	0,417 ($\pm 0,079$)
Φ_{ST}	0,02713 (± 0.1081)

6.4.6.2 Teste de neutralidade

O teste de neutralidade de Tajima foi negativo (Tabela 17), o que indica que o marcador utilizado aqui é de caráter evolutivo neutro. A comparação entre as duas regiões amostradas apresentou um valor de a diferenciação populacional baixo, $\Phi_{ST} = 0,02713$ ($p=0,1081$), indicando baixa diferenciação genética dos organismos ao longo da região amostrada.

Tabela 17. Valores do teste de neutralidade de Tajima para a população a jusante e montante. Significância estatística é de $p < 0,05$.

Teste de Neutralidade		
	Jusante	Montante
D de Tajima	-1.28788	-1.27896
Valor de P	0.08100	0.09800

6.4.6.3 Rede de haplótipos

Os dados evidenciados acima são demonstrados na a rede de haplótipos (Figura 15) que relevam a distribuição dos mesmos haplótipos a montante e jusante

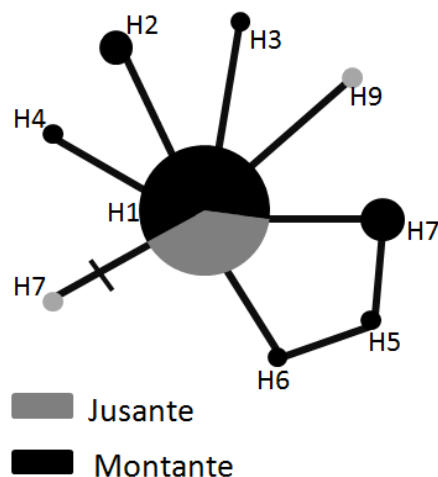


Figura 15. Rede de haplótipos com a separação dos haplótipos a montante e a jusante. O tamanho do círculo é proporcional à quantidade de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipo.

6.4.6.4 Conclusões

- As populações avaliadas indicam valores baixos de diversidade $h = 41\%$ e $\pi = 0,13$, não possuindo grande variação genética. Tais dados são corroborados com o número de haplótipos oito no total.
- O índice de Φ_{ST} mostra que as populações a montante e a jusante da espécie em questão apresentam baixa estruturação genética.

- Os valores de Tajima e Fu bem como, a rede de haplótipos sugerem que a população esteja em processo de expansão.

6.4.7 *Myleus torquatus*

Cinquenta e duas amostras com 410 pares de bases foram avaliadas, foram obtidos 25 haplótipos dentre a população.

6.4.7.1 AMOVA

As análises realizadas mostram que há um índice alto de diversidade genética, representado pela diversidade haplotípica $h = 93\%$ indicando grande variabilidade de sequências da região do DNA mitocondrial, o mesmo ocorre com o índice de divergência nucleotídica $\pi = 3,07\%$. (Tabela 18).

Tabela 18. Características moleculares das sequências e índices de diversidade nucleotídica e haplotípica.

<i>Myleus torquatus</i>	
Número de sequências	52
Número total de sítios	410
Número de sítios polimórficos (S)	58
Número total de mutações (Eta)	58
Diversidade nucleotídica ($\pi \pm S.D$)	$\pi = 0,0307 (\pm 0,002)$
Número de haplótipos (h)	27
Diversidade haplotípica ($hd \pm S.D$)	0,9397 ($\pm 0,021$)
Φ_{ST}	0,067874 ($p=0.000$)

6.4.7.2 Teste de neutralidade

O teste de neutralidade de Tajima foi negativo para a população a jusante e positivo para a população a montante (Tabela 19), o que indica que o marcador a jusante se encontra em expansão, enquanto a montante está em equilíbrio. A comparação entre as duas regiões amostradas apresentou um valor de a diferenciação populacional baixo, $\Phi_{ST} = 0,0678$ ($p=0,000$), indicando baixa diferenciação genética dos organismos ao longo da região amostrada.

Tabela 19. Valores do teste de neutralidade de Tajima para a população a jusante e montante. Significância estatística é de $p < 0,05$.

Teste de Neutralidade		
	Jusante	Montante
D de Tajima	-1.21703	0.14160
Valor de P	0.09200	0.61800

6.4.7.3 Rede de haplótipos

Tais afirmações sobre o comportamento da espécie acima são demonstrados na a rede de haplótipos (Figura 16).

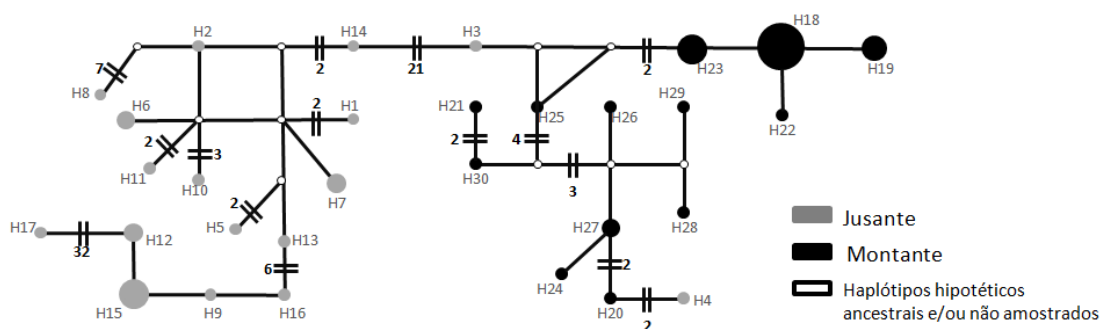


Figura 16. Rede de haplótipos com a separação dos haplótipos a montante e a jusante. O tamanho do círculo é proporcional à quantidade de indivíduos que compartilham o mesmo haplótipo.

6.4.7.4 Conclusões

- As populações avaliadas indicam valores elevados de diversidade $h = 93\%$ e $\pi = 3,07$.
- Φ_{ST} mostra que as populações a montante e a jusante da espécie em questão apresentam moderada estruturação genética.
- Apesar dos valores negativos a jusante e positivo a montante, os valores de Tajima e Fu bem como a rede de haplótipos sugerem que a população esteja em processo de expansão.

6.5 Espécies não amplificadas

Algumas das espécies estudadas não possuem iniciadores descritos com isso as espécies *Brycon pesu*, *Phractocephalus hemioliopus*, *Squaliforma emarginata* e *Hypostomus sp.* apresentaram problemas ao decorrer do projeto, dificultando a obtenção de *amplicons* e conseqüentemente seqüências de boa qualidade. Diante desta problemática o grupo tentou por diversas vezes modificar condições de PCR, assim como obter iniciadores descritos na literatura que pudessem solucionar o problema, porém os esforços aplicados continuaram por não gerar resultados.

A solução encontrada para esta problemática seria a criação de novos iniciadores específicos para cada espécie. Que incidiria na tentativa de amplificação de alguns exemplares, e posterior clonagem da região mitocondrial de interesse da espécie em questão com finalidade de obter seqüências específicas para desenhar iniciadores espécie-específico. Contudo, esta etapa requeria um tempo execução maior do que o que possuíamos.

Contudo, a falta destes resultados não interfere na qualidade deste relatório, uma vez que, o número de espécies aqui apresentados indica perfeitamente o que está ocorrendo a montante e a jusante da barragem Usina Hidrelétrica de Teles Pires, Paranaíta/MT no rio Teles Pires.

Desta forma, consideramos que as espécies do gênero *Brycon*, podem ser representadas pelos resultados da espécie *B. falcatus*, que forneceram o padrão de diferenciação genética similar ao da espécie *B. pesu*. No caso da espécie *Phractocephalus hemioliopus* apesar de ser uma espécie migradora, somente foi possível capturar dez espécimes a jusante, e, por isso, a comparação das populações a montante e a jusante fica comprometida. Enquanto para as espécies *Hypostomus sp* e *Squaliforma emarginata* apesar de não gerarem resultados, é possível inferir sobre seu comportamento através das demais espécies não migradoras, já que todas apresentaram um padrão de diferenciação genética e de seleção natural semelhantes.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estabelecimento de estratégias de manejo e conservação de populações de peixes em regiões alvos de barramento para construção seja de PCH ou UHE deve ser precedido do entendimento da variabilidade genética intra e interpopulacional de áreas a montante e a jusante da futura barragem.

De acordo com as condições geográficas e do regime hidrológico em que um determinado rio se encontra, as espécies que nele habitam podem formar populações genéticas em diferentes níveis. Assim, rios com barreiras naturais podem diminuir o fluxo gênico entre populações situadas em diferentes regiões. Deve-se levar em consideração também que as características biológicas das espécies podem contribuir com a distribuição da variabilidade genética das populações naturais. Assim, espécies migradoras podem apresentar diferentes intensidades de migração, podendo ser de grande, média ou curta migração. Isto significa que, apesar de ser migradora, uma espécie de curta migração consegue completar o ciclo reprodutivo com migrações mais curtas desde que existam tributários disponíveis a montante ou a jusante da barragem. Espécies não migradoras, por outro lado, não são afetadas diretamente em razão da interrupção do rio, e sim são afetadas pela inundação de áreas usadas para desova.

Os resultados do presente relatório mostram que as populações de todas as espécies migradoras a montante e a jusante apresentaram de baixo a moderado nível de diferenciação genética, conforme os índices de Wright (página 12). Estas mesmas populações encontram-se em expansão populacional com índices de variabilidade genética satisfatória (> 70% de diversidade haplotípica) (Tabela 21). As populações de todas as espécies não migradoras a montante e a jusante apresentaram alta diferenciação genética, conforme os índices de Wright (página 12). Aqui também, as populações de espécies não migradoras encontram-se em expansão populacional e com índices de variabilidade genética satisfatória (> 70% de diversidade haplotípica) (Tabela 21).

A integridade genética das espécies avaliadas e que representa possivelmente a situação de outras espécies na mesma região poderá a longo prazo ser de alguma forma afetada pela construção da barragem seja pela interrupção da migração das espécies migradoras ou pelo desaparecimento de locais de reprodução de espécies não migradoras. Este é um fato inerente à mudança ambiental devido à construção de barragens. Contudo, ações podem ser implementadas com o objetivo de se mitigar as mudanças ambientais e conservar as populações de peixes em condições de manter seu tamanho efetivo dentro das áreas de ocorrência das mesmas.

A construção de um sistema de transposição deve ser considerada devido ao fato de que na região existem espécies de grande migração como a espécie *Prochilodus nigricans*, *Brycon falcatus* e *Zungaro zungaro*. A construção de um sistema de transposição *per se* não é a solução total para manutenção do fluxo gênico entre as áreas separadas pela barragem, pois ao longo dos anos tal sistema tem sido alvo de grande controvérsia em relação a sua real efetividade (Pelicice e Agostinho, 2008).

A construção do sistema de transposição deve ser realizada com programas levantamento e conservação de tributários a jusante e a montante de forma que os peixes que ascendam à escada e adentrem o reservatório possam encontrar locais com integridade biótica (rios não afetados pelo reservatório) com vegetação ripariana que permitam aos reprodutores completarem o ciclo reprodutivo. A manutenção destas áreas possibilitará às populações encontrarem novas áreas de alimentação e reprodução. Esta ação deve ser contínua, o impacto causado pela construção de barragens sobre as populações de peixes é um processo a longo prazo, que afeta não somente as populações de peixes, mas também das comunidades locais que vivem destas populações pela pesca. Assim, programas permanentes de monitoramento e conservação ambiental são fundamentais para que as condições antes existentes na região possam se manter com o menor prejuízo aos recursos biológicos aquáticos e possam se manter.

É importante salientar que este é o estado atual da distribuição genética intra e interpopulacional das espécies aqui avaliadas na região em estudo.

Qualquer possível alteração neste quadro somente será evidenciada com o monitoramento genético temporal a montante e a jusante da barragem, pois os efeitos da possível interrupção de fluxo gênico sobre a variabilidade das espécies é um processo lento que ocorre ao longo do tempo.

Tabela 20. Resultados dos principais parâmetros analisados nas espécies deste estudo.

Espécies	Diversidade haplotípica (h_d)	Diversidade Nucleotídica (π) e ($\rho=x$)	Φ_{st} ($\rho=x$)	Nível de diferenciação genética
<i>Curimata inornata</i>	0,704 ($\pm 0,089$)	0,01512 ($\pm 0,002$)	0,6865 ($\pm 0,000$)	Alto nível de diferenciação
<i>Plagioscion squamosissimus</i>	0,893 ($\pm 0,023$)	0,024 (0,000)	0,44578 ($\pm 0,005$)	Alto nível de diferenciação
<i>Melanocharacidium cf. dispilomma</i>	0,612 ($\pm 0,054$)	0,01504 ($\pm 0,001$)	0,835 ($\pm 0,000$)	Alto nível de diferenciação
<i>Prochilodus nigricans</i>	0,960 ($\pm 0,016$)	0,01181 ($\pm 0,001$)	0,01773 ($\pm 0,159$)	Baixo nível de diferenciação
<i>Brycon falcatus</i>	0,915 ($\pm 0,034$)	0,07084 ($\pm 0,006$)	0,07282 ($\pm 0,049$)	Moderado nível de diferenciação
<i>Zungaro zungaro</i>	0,417 ($\pm 0,079$)	0,00136 ($\pm 0,006$)	0,02713 ($\pm 0,108$)	Baixo nível de diferenciação
<i>Myleus torquatus</i>	0,9397 ($\pm 0,021$)	0,0307 ($\pm 0,002$)	0,067874 ($\pm 0,000$)	Moderado nível de diferenciação

8. EQUIPE TÉCNICA

- Biólogo coordenador Geral
 - M.Sc. Márcia Oliveira Barbosa Silva – Bióloga CRBio 13.426/04D**
 - M.Sc. Renê Eiji Souza Hojo – Biólogo CRBio 37349/04-D**
- Biólogos Plenos (02 biólogos plenos, um em cada ponto)
- **M.Sc. Felipe Talin Normando - Biólogo CRBio 57255/04-D**
 - M.Sc. Diego Mendes Ferreira Nunes - Biólogo CRBio 80165/04-D**
- Biólogos Júniores (02 biólogos em campo, um em cada ponto)
 - Leandro Alves Moreira – Biólogo CRBio 49713/04-D**
 - Silvestre Silva Souza - Biólogo CRBio 49941/04-D**
- Seis pescadores (3 em cada ponto)
- Seis três pescadores em cada equipe.
- Quatro piloteiros (2 em cada ponto)
- Um piloteiro em cada barco, sendo dois por equipe.

Laboratório de Genética:

- Coordenador Geral
 - Prof. Dr. Alexandre Wagner Silva Hilsdorf**
 - Universidade de Mogi das Cruzes - Zootecnista CRMV-4 659/Z
- Técnica do LAGOAA/UMC
 - M.Sc. Juliana B. De Biasi - Universidade de Mogi das Cruzes**
 - Oceanógrafa e Mestre em Biotecnologia
- **M.Sc. Milke Jasmine - UNESP/Botucatu**
 - Bióloga e Mestre em Genética


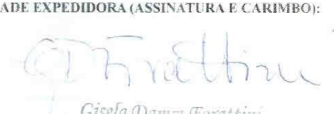
9. REFERÊNCIAS



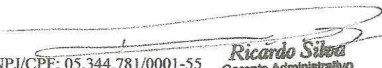

Cronin, M.A., Spearman, W.J., Wilmot, R.L., Patton, J.C., 1993. Mitochondrial DNA variation in chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and chum salmon (*O. keta*) detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction (PCR) products. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 708-715.

- Epperson, B.K. 2003. Spatial structure of two-locus genotypes under isolation by distance. *Genetics* 140: 365-375.
- Excoffier, L, Laval G., Schneider, S. 2005. Arlequin 3.01: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Kimura, M. 1969. The number of heterozygous nucleotides sites maintained in a finite population due to the steady flux of mutations. *Genetics* 61: 893-903.
- Lee W.J, Conroy J, Howell W.H., Kocher, T.D., 1995. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *J Mol Evol* 41:54-66.
- Meyer, A., Kocher, T.D., Basasiwaki, P., Wilson, A.C., 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature* 347: 550-553.
- Montoya-Burgos, J.I., 2003. Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. *Mol Ecol* 12: 1855–1867.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- Nei, M., Tajima, F., 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics* 97: 145-163.
- Pelicice, F.M., Agostinho, A.A., 2008. Fish-Passage Facilities as Ecological Traps in Large Neotropical Rivers. *Cons Biol* 22: 180–188.
- Rozas, J. Rozas, R. 1999. DnaSP Version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics* 15: 174-175.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. 1977. DNA Sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceedings of National Academy of Science* 74: 5463-5467.
- Santa-Brígida, E.L., Cunha, D.B., Rego, P.S., Sampaio, I., Schneider, H., Vallinoto, M., 2007. Population analysis of *Scomberomorus cavalla* (Cuvier, 1829) (Perciformes, Scombridae) from the Northern and Northeastern coast of Brazil. *Braz J Biol* 67: 919-924.
- Sivasundar, A., Bermingham, E., Ortí G., 2001. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (Prochilodus: Characiformes) in major South American rivers. *Mol Ecol* 10: 407–417.
- Weir, B.S. Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistic for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-70.

Wright, S., 1978. Evolution and genetics of populations. vol 2: The theory of gene frequencies. University of Chicago Press, London. 511 pp

10. ANEXOS

 MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS DIRETORIA DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL		
AUTORIZAÇÃO DE CAPTURA, COLETA E TRANSPORTE DE MATERIAL BIOLÓGICO		
PROCESSOS IBAMA Nº 02001.006711/2008-79	AUTORIZAÇÃO Nº 122/2012	VALIDADE 05 meses a partir da data da assinatura.
ATIVIDADE <input type="checkbox"/> LEVANTAMENTO <input checked="" type="checkbox"/> MONITORAMENTO <input type="checkbox"/> RESGATE/SALVAMENTO		
TIPO <input checked="" type="checkbox"/> ICTIOFAUNA		
EMPREENHIMENTO: UHE Teles Pires CNPJ: 12.810.896/0003-15		EMPREENDEDOR: Companhia Hidrelétrica Teles Pires S.A. CTF: 5471482
ENDEREÇO: Av. Miguel Sutil nº 8695, Bairro Duque de Caxias, Cuiabá-MT. CEP: 78043-305		
COORDENADOR(A) DA ATIVIDADE: Márcia Oliveira Barbosa Silva CPF: 478.540.816-20		CTF: 361640
RESPONSÁVEL PELA ATIVIDADE: Bios Consultoria e Serviços Ambientais Ltda. CNPJ: 05.344.741/0001-55 CTF: 361642		
DESCRIÇÃO DA ATIVIDADE: O Programa de Investigação Genética da Ictiofauna em UHE Teles Pires, na abrangência do empreendimento sob concessão da Companhia Hidrelétrica Teles Pires S.A, envolve atividades de captura e coleta de ictiofauna presente nas adjacências da cachoeira Sete Quedas do rio Teles Pires. Posteriormente será feita a identificação da estrutura genética populacional dessa ictiofauna por meio da extração/quantificação e ampliação do DNA mitocondrial.		
LOCALIZAÇÃO: No Rio Teles Pires, compreende uma área aproximada de 30 km, tanto a jusante quanto a montante da região de Salto de Sete Quedas para coleta de espécimes da ictiofauna para finalidade de investigação genética.		
PETRECHOS: Para essa Programa serão utilizados Espinhéis (50 anzóis 12/0, 50 anzóis 10/0, 50 anzóis 8/0, 50 anzóis 6/0) 500 metros de corda de seda n5, 2 rolos de 10 metros de cabo de aço, Anzóis de espera (Linha 1,6 mm – 500 metros, Linha 0,72 mm – caixa com 10 carretéis de 100metros, 10 quilos de chumbada, 2 caixas de girador com 100 cada) 1 alicate, Tarrafas (2 unidades de malha 20 mm entre nós adjacentes, linha 0,50 mm, diâmetro de 3 metros, 2 unidades de malha 40 mm entre nós adjacentes, linha 0,70 mm, diâmetro de 3 metros) Rede de Arrasto (2 arrastos de 20 metros nylon multifilamento sem nós – Fio Denier 210/18 malha 12 mm, 1 arrasto de 50 metros nylon multifilamento sem nós – Fio Denier 210/18 malha 12 mm., 4 arrastos de tela mosquiteira (2 redes de 5 metros e 2 redes de 10 metros) Redes de emalhar (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120 mm entre nós opostos) 10 jogos de redes das malhas citadas, 2 redes de malha 100 mm entre nós opostos de 50 metros, 2 rolos de fitilho, 4 Puçás nylon multifilamento sem nós PU – 0939 malha 12mm, fio 210/24, 4 bombonas 50 litros, 4 baldes de 20 litros, 4 embarcações com motor 25 Hp, 2 conjuntos de balanças com capacidade para 1, 10, 50 (kg) e 100(g); 2 ictiômetros, 2 bandejas, 700 espendorfs, 1 Veículo Camionete traçado, 4 rádios de comunicação, 2 tendas para processamento dos peixes, 4 garrafas térmicas 5 litros, 1 mesa com 4 cadeiras, 50 litros de álcool, 20 litros de formol, 1 sonda para medição dos parâmetros abióticos (OD; temperatura; pH; condutividade; sólidos totais) 1 disco de secchi, GPS, Máquinas fotográficas.		
DESTINAÇÃO DO MATERIAL: UFMT, Instituto de Biociências, Departamento de Biologia e Zoologia, Cuiabá-MT.		
ESTA AUTORIZAÇÃO NÃO PERMITE		
<ol style="list-style-type: none"> 1. CAPTURA/COLETA/TRANSPORTE/SOLTURA DE ESPÉCIES EM ÁREA PARTICULAR SEM O CONSENTIMENTO DO PROPRIETÁRIO; 2. CAPTURA/COLETA/TRANSPORTE/SOLTURA DE ESPÉCIES EM UNIDADES DE CONSERVAÇÃO FEDERAIS, ESTADUAIS, DISTRITAIS OU MUNICIPAIS, SALVO QUANDO ACOMPANHADAS DA ANUÊNCIA DO ÓRGÃO ADMINISTRADOR COMPETENTE; 3. COLETA/TRANSPORTE DE ESPÉCIES LISTADAS NA INSTRUÇÃO NORMATIVA MMA Nº 05/2004, INSTRUÇÃO NORMATIVA MMA Nº 052/2005 E ANEXOS CITEIS; 4. COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO POR TÉCNICOS NÃO LISTADOS NO VERSO DESTA; 5. EXPORTAÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO; 6. ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO, NOS TERMOS DA REGULAMENTAÇÃO CONSTANTE NA MEDIDA PROVISÓRIA Nº 2.186-16, DE 23 DE AGOSTO DE 2001. <p>Observação: As Autorizações obtidas por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) não podem ser utilizadas para a captura e/ou coleta de material biológico referente ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.</p>		
LOCAL E DATA DE EMISSÃO: Brasília, 06 Agosto de 2012.	AUTORIDADE EXPEDIDORA (ASSINATURA E CARIMBO):  Gisela Diana Forattini Diretora de Licenciamento Ambiental DIRETORIA DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL	


 <p>Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo</p>	
<p>ANOTAÇÃO DE RESPONSABILIDADE TÉCNICA N.º <u>09330/2012</u></p>	
PROFISSIONAL	CRMV-SP Nº
Alexandre Wagner Silva Hilsdorf	00659/Z
RAZÃO SOCIAL DO CONTRATANTE	
Bios Consultoria e Serviços Ambientais Ltda.	
CRBio Nº	
000082/04-D	
LOCAL DE TRABALHO (ENDEREÇO COMPLETO)	
Universidade de Mogi das Cruzes – Av. Dr. Cândido Xavier de Almeida Souza, 200 Mogi das Cruzes, SP.	
CARGA HORÁRIA SEMANAL 20 h/semanal	DURAÇÃO DO CONTRATO FIRMADO COM O RT 6 meses
DATA DO INÍCIO DO CONTRATO 01/08/2012	VALOR DA REMUNERAÇÃO R\$ 39.600,00
<p>DESCRIÇÃO SUCINTA DO SERVIÇO CONTRATADO</p> <p>Avaliação genética de populações de peixes por meio de marcadores moleculares para Companhia Hidrelétrica Tele Pires S.A. para fins de monitoramento em barragem em construção.</p>	
LOCAL/DATA	
Mogi das Cruzes, 15 de agosto de 2012	
ASSINATURA DO PROFISSIONAL	ASSINATURA DO CONTRATANTE
 CRMV-SP No 00659/Z CPF : 017.978.868-00	 Ricardo Silva Gerente Administrativo Bios Consultoria e Serviços Ambientais Ltda.
<p>Declaro que não exerço atividade profissional incompatível com a assunção da referida responsabilidade técnica, e por ser expressão da verdade, firmo a presente, com pleno conhecimento do Código de Ética, bem como dos Deveres da Legislação Pertinente às atividades que estarei exercendo.</p>	
 ASSINATURA DO PROFISSIONAL	
<p>PREENCHER EM 4 VIAS E ANEXAR CÓPIA DA CÉDULA DE IDENTIDADE PROFISSIONAL.</p>	

Documento averbado no CRMV-SP
em 24 de agosto de 2012

WAGNER PENHO ALENCAR
 RG: 46.462.244-4
 Assessor Administrativo em Público


ART - Anotação de Responsabilidade Técnica

<http://www.crbio01.gov.br:8080/scripts/art.dll/login>

Serviço Público Federal			
CONSELHO FEDERAL/CRBIO - CONSELHO REGIONAL DE BIOLOGIA			
ANOTAÇÃO DE RESPONSABILIDADE TÉCNICA - ART			1-ART Nº: 2012/04547
CONTRATADO			
2.Nome: MARCIA OLIVEIRA BARBOSA SILVA		3.Registro no CRBio: 013426/01	
4.CPF: 478.540.816-20	5.E-mail: marcia@biosambiental.com.br		6.Tel: (35)3013-2691
7.End.: DAS CAMÉLIAS 29		8.Compl.:	
9.Bairro: COND JD DAS PALMEIRA	10.Cidade: LAVRAS	11.UF: MG	12.CEP: 37200-000
CONTRATANTE			
13.Nome: BIOS CONSULTORIA E SERVIÇOS AMBIENTAIS LTDA.			
14.Registro Profissional: 000082/04-D		15.CPF / CGC / CNPJ: 05.344.781/0001-55	
16.End.: RUA JOSE CLAUDINO 318			
17.Compl.: A		18.Bairro: CENTRO	19.Cidade: LAVRAS
20.UF: MG	21.CEP: 37200-000	22.E-mail/Site: bios@biosambiental.com.br / www.biosambiental.com.br	
DADOS DA ATIVIDADE PROFISSIONAL			
23.Natureza : 1. Prestação de serviço Atividade(s) Realizada(s) : Coordenação/orientação de estudos/projetos de pesquisa e/ou outros;			
24.Identificação : PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE ICTIOFAUNA DA UHE TELES PIRES- PARANAITA/MT			
25.Município de Realização do Trabalho: RIO TELES PIRES - PARANAITA			26.UF: MT
27.Forma de participação: EQUIPE		28.Perfil da equipe: BIÓLOGOS	
29.Área do Conhecimento: Zoologia;		30.Campo de Atuação: Meio Ambiente	
31.Descrição sumária : REALIZAÇÃO DE UMA CAMPANHA PARA AMOSTRAGEM DE INDIVÍDUOS DE ESPÉCIES DE PEIXES TANTO DE INTERESSE COMERCIAL E/OU INTERESSE ECOLÓGICO, COMUMENTE ENCONTRADAS NA REGIÃO, SENDO CINCO MIGRADORAS E CINCO NÃO MIGRADORAS, DE DUAS POPULAÇÕES LOCAIS A MONTANTE E A JUSANTE DA CACHOEIRA SETE QUEDAS NO RIO TELES PIRES.SERÃO CAPTURADOS UM TOTAL DE TRINTA EXEMPLARES DE CADA ESPÉCIE,PERFAZENDO UM TOTAL DE SEISCENTAS AMOSTRAS. O PROGRAMA DE INV. GENÉTICA DE ICTIOFAUNA TEM COMO OBJETIVO GERAR INFORMAÇÕES SUFICIENTES PARA IDENTIFICAR OS NÍVEIS DE VARIABILIDADE GENÉTICA DAS POPULAÇÕES/ESPÉCIES DE PEIXES			
32.Valor: R\$ 7.000,00	33.Total de horas: 100	34.Início: AGO/2012	35.Término: DEZ/2012
36. ASSINATURAS			37. LOGO DO CRBIO
Declaro serem verdadeiras as informações acima			
Data: 14/08/12		Data: 14/08/12	
Assinatura do Profissional <i>Marcia Oliveira</i>		Assinatura e Carimbo do Contratante <i>Ricardo Silva</i> Gerente Administrativo Bios Consultoria e Serviços Ambientais Ltda	
			
38. SOLICITAÇÃO DE BAIXA POR CONCLUSÃO		39. SOLICITAÇÃO DE BAIXA POR DISTRATO	
Declaramos a conclusão do trabalho anotado na presente ART, razão pela qual solicitamos a devida BAIXA junto aos arquivos desse CRBio.			
Data: 01/04/13	Assinatura do Profissional <i>Marcia Oliveira</i>	Data: / /	Assinatura do Profissional
Data: 01/04/13	Assinatura e Carimbo do Contratante <i>Ricardo Silva</i> Gerente Administrativo	Data: / /	Assinatura e Carimbo do Contratante

Bios Consultoria e Serviços Ambientais Ltda
CERTIFICAÇÃO DIGITAL DE DOCUMENTOS
NÚMERO DE CONTROLE: 6043.7925.9180.1437

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

Serviço Público Federal CONSELHO FEDERAL/CRBIO - CONSELHO REGIONAL DE BIOLOGIA			
ANOTAÇÃO DE RESPONSABILIDADE TÉCNICA - ART			1-ART Nº: 2012/04767
CONTRATADO			
2.Nome: RENE ELJI SOUZA HOJO		3.Registro no CRBio: 037349/01	
4.CPF: 054.769.966-21	5.E-mail: renehojo@yahoo.com.br		6.Tel:
7.End.: ÁLVARO AUGUSTO LETTE 232		8.Compl.:	
9.Bairro: OLARIA	10.Cidade: LAVRAS	11.UF: MG	12.CEP: 37200-000
CONTRATANTE			
13.Nome: BIOS CONSULTORIA E SERVIÇOS AMBIENTAIS LTDA			
14.Registro Profissional: 000082/04-D		15.CPF / CGC / CNPJ: 05.344.781/0001-55	
16.End.: RUA JOSÉ CLAUDINO 318A			
17.Compl.:		18.Bairro: CENTRO	19.Cidade: LAVRAS
20.UF: MG	21.CEP: 37200-000	22.E-mail/Site: www.biosambiental.com.br	
DADOS DA ATIVIDADE PROFISSIONAL			
23.Natureza : 1. Prestação de serviço Atividade(s) Realizada(s) : Realização de consultorias/assessorias técnicas;			
24.Identificação : PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE ICTIOFAUNA DA UHE TELES PIRES, RIO TELES PIRES -- PARANAÍTA/MT			
25.Município de Realização do Trabalho: PARANAÍTA			26.UF: MT
27.Forma de participação: EQUIPE		28.Perfil da equipe: BIÓLOGOS	
29.Área do Conhecimento: Ecologia; Genética; Zoologia;		30.Campo de Atuação: Meio Ambiente	
31.Descrição sumária : REALIZAÇÃO DE CAMPANHA DE AMOSTRAGEM DE INDIVÍDUOS DE ESPÉCIES DE PEIXES DE INTERESSE COMERCIAL E/OU INTERESSE ECOLÓGICO, ENCONTRADAS NA REGIÃO, SENDO 5 MIGRADORAS E 5 NÃO MIGRADORAS, DE DUAS POPULAÇÕES LOCAIS: A MONTANTE E A JUSANTE DA CACHOEIRA SETE QUEDAS NO RIO TELES PIRES. SERÃO CAPTURADOS 30 EXEMPLARES DE CADA ESPÉCIE, TOTALIZANDO 600 AMOSTRAS. O PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE ICTIOFAUNA TEM COMO OBJETIVO GERAR INFORMAÇÕES SUCIENTES PARA IDENTIFICAR OS NÍVEIS DE VARIABILIDADE GENÉTICA DAS POPULAÇÕES/ESPÉCIES DE PEIXES COMUNMENTE ENCONTRADAS NA REGIÃO DA CACHOEIRA DE SETE QUEDAS.			
32.Valor: R\$ 16.150,00	33.Total de horas: 190	34.Início: AGO/2012	35.Término: DEZ/2012
36. ASSINATURAS			37. LOGO DO CRBIO
Declare serem verdadeiras as informações acima			
Data: 24/08/12 <i>Rene Elji Souza Hojo</i> Assinatura do Profissional		Data: 24/08/12 <i>Ricardo Silva</i> Assinatura e Carimbo do Contratante	
			
Bios Consultoria e Serviços Ambientais Ltda Gerente Administrativo			
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: 5288.7170.8425.9680

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

<http://www.crbio01.org.br:8080/scripts/art.dll/login>

22/08/2012