

MMA - IBAMA
Documento:
02001.040957/2012-56

Data: 21/08/12



Cuiabá, 17 de Agosto de 2012.

Carta CHTP – nº 218/2012

**Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA
Coordenadoria Geral de Infraestrutura de Energia Elétrica.
Sr. THOMAZ MIAZAKI DE TOLEDO
Brasília-DF.**

Ref: Processo IBAMA N° 02001.006711/2008-79 - Usina Hidrelétrica Teles

Assunto: Atendimento ao Parecer Técnico 90/2012 COHID/CGENE/IBAMA

Prezado Coordenador,

Vimos através deste apresentar o Plano de Trabalho revisado, Anexo I, da empresa Bios Soluções Ambientais para o desenvolvimento do P.26 – Programa de Investigação Genética da Ictiofauna, em atendimento ao Parecer Técnico 90/2012 COHID/CGENE/IBAMA e conforme reunião realizada na COHID em 01/08/2012.

Informamos que as condicionantes específicas da ACCTMB 122/2012 serão atendidas dentro do prazo estipulado na mesma.

Certo de sua compreensão, permanecemos à disposição para eventuais esclarecimentos.

Atenciosamente,

Cia. Hidrelétrica Teles Pires S/A
Marcos Azevedo Duarte
Diretor Ambiental

PLANO DE TRABALHO - PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE ICTIOFAUNA DA UHE TELES PIRES

1. 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.

O estudo de Genética de Populações de peixes dependerá de autorização do IBAMA para coleta dos exemplares e das amostras de material a ser analisado. Para as análises populacionais, os laboratórios estão dispensados de autorização específica, de acordo com as Portarias no. 21 e 28 do Ministério do Meio Ambiente, Conselho de Gestão do Patrimônio Genético.

2. Objetivos

O Programa de Investigação Genética de Ictiofauna tem como objetivo gerar informações suficientes para identificar os níveis de variabilidade genética das populações/espécies de peixes comumente encontradas na região da cachoeira de Sete Quedas, tanto de interesse comercial e/ou interesse ecológico, visando esclarecer a existência ou não de estruturação populacional.

Para isto foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- Realizar campanha para amostragem de indivíduos de espécies de peixes tanto 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.

3. Metas

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

4. Aspectos Metodológicos

4.1 Área de Abrangência

A área de amostragem abrangerá aproximadamente 30 km acima e 30 km abaixo da cachoeira de Sete Quedas, no rio Teles Pires, Paranaita/MT. Todos os peixes do programa de investigação genética serão capturados através de uma campanha de campo com duração aproximada de 15 (quinze) dias no mês de agosto/2012, período seco.

4.2 Campanha de campo

Os peixes serão capturados utilizando-se petrechos de coleta semelhantes aos citados nos levantamentos prévios (EIA-RIMA da UHE Teles Pires, EPE/LEMECONCREMAT, 2010), a saber: 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.

Em cada ponto de amostragem: jusante e montante da cachoeira sete quedas no rio Teles Pires serão realizadas coletas com malhadeiras, armadas no início da manhã, permanecendo cada uma delas armadas por 12 horas. Ao longo do dia até o entardecer serão realizadas vistorias para despesca dos peixes capturados com intervalos de 3 horas.

O esforço de captura será intensificado através da utilização de redes de arrasto, com dois lances consecutivos e uma hora de intervalo de descanso e uso de tarrafas (de fundo e de meia água), anzol e linha.

Está previsto a captura de cinco espécies de peixes migradores e cinco espécies de peixes não migradores, comumente encontradas acima e abaixo da Cachoeira de Sete Quedas.

A princípio foram selecionadas as espécies a seguir, podendo ser substituídas, de acordo com a dificuldade da captura.

Essas espécies foram selecionadas após a realização da campanha de monitoramento da ictiofauna no período de 19/06 à 02/07/2012 e utilizando critérios de abundância e representatividade para a comunidade de pescadores profissionais (interesse comercial) e da pesca esportiva praticada na região.

A partir da definição das espécies alvo pelo Programa de Monitoramento da Ictiofauna a sazonalidade somente poderá exercer influencia caso não se obtenha o quantitativo previsto no programa.

A campanha do monitoramento da Ictiofauna que será realizada no mês de setembro, assim como as demais campanhas previstas na execução do programa, será utilizada para complementar a coleta de material das espécies que não tiverem o número, caso necessário.

A campanha realizada durante o período seco favorece a análise dos resultados do fluxo gênico por se tratar das populações residentes a montante e jusante da Cachoeira Sete Quedas.

Espécies Migradoras

- *Brycon falcatus* (matrinxã) - Migrador de Longa distância- Espécie de grande interesse econômico e de subsistência em toda Amazônia.
- *Prochilodus britski* (Curimatã, Curimba, Curimbatá) - Migrador de Longa distância- Espécie que representa grande biomassa e muito importante para pesca de subsistência em toda região amazônica.
- *Zungaro zungaro* (Jaú) * – Migrador de longa distância, com interesse para pesca esportiva e profissional, biomassa abundante na região.
- *Myloplus torquatus* (Pacú) - Migrador de curta distância - Muito abundante e importante na pesca comercial e de subsistência.
- *Curimata inornata* (Branquinha) Migradora de curta distância- Espécie com grande biomassa e importante como fonte de alimentação de espécies piscívoras, portanto muito relevante para a cadeia alimentar no sistema.
- Espécies como a Piraíba (*Brachyplatystoma filamentosum*) e Pirara (*Phractocephalus hemiliopterus*) – também serão consideradas embora não fique estabelecido o número de captura determinado para as demais espécies.

* A espécie *Pseudoplatystoma tigrinum* (surubim) foi substituída pela *Zungaro zungaro* (Jaú) por ser mais representativa da região apresentado maior abundância e interesse por pescadores esportivos e profissionais.

Espécies não migradoras

- *Characidium sp.* "longo" (Canivete) Não migrador e reofílico - abundante, associado a micro-habitats de corredeira (reofílico).
- *Melanocharacidium cf. dispilomma* (canivete) Não migrador e reofílico.
- *Hypostomus aff. pyrineusi* (Cascudo escuro de nadadeiras amarelas) - abundante, associado a micro-habitats de corredeira (reofílico).
- *Hypostomus gr "squaliforma"* (Cascudo pintado e alongado) Abundante - Não migrador e reofílico.
- *Plagioscion squamosissimus* (Pescada ou Curvina) não migrador e não reofílico - Relativamente importante na pesca de subsistência.

Cinco exemplares de cada espécie e localidade serão 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 serão, se possível, devolvidos vivos ao ambiente.

Ressalta-se que após a captura, os peixes serão 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 serão colocados em caixa d'água de 150 litros, contendo água do rio, trocada após cada captura. A quantidade de peixes colocada na caixa será de acordo com o tamanho dos exemplares, visando causar o mínimo de estresse possível. Para cada exemplar será realizada uma biópsia da nadadeira caudal sem sacrifício dos exemplares capturados.

Em seguida, o local, em que foi retirado a amostra será banhado com solução curativa "polvidine" e após esse procedimento os peixes serão soltos no mesmo local de captura.

Os tecidos serão 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 serão 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 será coletada uma amostra de cerca de 30 (trinta) indivíduos acima e 30 (trinta) indivíduos abaixo da cachoeira Sete Quedas, totalizando cerca de 600 amostras.

4.3 Análises Genéticas

O DNA total será obtido a partir de amostras de nadadeiras ou músculo, utilizando *kits* comerciais para extração de DNA total. Um segmento do gene D-loop do DNA mitocondrial (cerca de 1.000 pares de bases) será amplificado por PCR com a utilização do seguinte conjunto de *primers* (L16453-THR 5'- AAA GCG CCG GTC TTG TAA TCC GGA GA -3' e H1068-12S 5'- TCA CAG GGG TGC GGA GAC TTG CAT GT -3'). O DNA amplificado será purificado e posteriormente sequenciado com o *kit Big Dye Terminator Cycle Sequencing Standart Version 3.1* (Applied Biosystems) ou outro similar. O DNA será sequenciado num sequenciador automático de DNA modelo ABI 3130 ou similar.

As sequências de DNA obtidas serão alinhadas usando-se o editor ClustalW (THOMPSON *et al.*, 1994). Para inferir as relações entre os haplótipos serão utilizadas análises de máxima parcimônia (MP) com o programa PAUP* 4.0b10 (SWOFFORD, 2002). Para construir as árvores de haplótipos (*network design*) com base na conexão de máxima parcimônia entre dois haplótipos. O grau de divergência genética entre as populações será estimado pelo índice Φ ST (índice utilizado para dados de mtDNA, análogo ao FST (EXCOFFIER *et al.*, 1992), com o auxílio do programa Arlequin v. 2.0 (SCHNEIDER *et al.*, 2000). A significância estatística dos valores de Φ ST será testada através de 1.000 permutações. Os valores estimados de Φ ST entre pares de populações serão utilizados na análise de isolamento por distância e no teste de Mantel, realizado pelo programa Arlequin empregando-se 1.000 permutações.

O programa Arlequin será empregado também para investigar a história demográfica das populações através da análise de distribuição de diferenças par a par (análise de mismatch) das sequências mitocondriais. Os intervalos de confiança serão obtidos através de um *bootstrap* paramétrico e da comparação da soma dos quadrados dos desvios entre as distribuições observadas e esperadas.

Os níveis de variabilidade genética intrapopulacional será medida pelo índice de diversidade haplotípica e os gráficos referentes às distribuições de *mismatch* serão gerados pelo programa DNAsp v. 4.0 (ROZAS *et al.*, 2003).

A metodologia proposta de avaliação populacional de sequenciamento da região D-loop do DNA mitocondrial atualmente é amplamente utilizada em estudos que objetivem se verificar os níveis de conectividade genética entre populações que estejam ou não isoladas por barreiras geográficas. A taxa evolutiva desta região do

DNA mitocondrial, ou seja, de substituições de base é muito alta, quando comparada a do genoma nuclear (Lee et.al, 1995). Trabalhos de genética populacional utilizando esta metodologia têm sido publicados com peixes neotropicais nos últimos anos (Hilsdorf et al., 2002, Martins et al., 2003, Hrbek et al., 2005, SANTOS et al., 2007, Iervolino et al. 2010). A recomendação feita no Parecer Técnico nº60/2011 COHID/CGENE/IBAMA para utilização de marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Random e SPAR (Single Primer Amplification Reactions) não se justifica, pois tais metodologias têm sido muito questionadas pelas revistas científicas em razão de limitações da técnica.

No caso do RAPD problemas de reprodutibilidade da técnica em razão desta ser dependente da amplificação de trechos aleatórios do genoma alvo com iniciadores arbitrários com baixa especificidade. Muitas vezes os resultados podem ser difíceis de interpretar levando a erros na geração dos índices de diferenciação genética.

Já a metodologia SPAR proposta em 1994 (Gupta et al., 1994) não tem sido utilizada em estudos genéticos populacionais de peixes, sua aplicabilidade tem sido mais usada em estudos para diferenciação genética em acessos de plantas em bancos de germoplasma *ex-situ* (Bhattacharya et al. 2005, Ranade et al., 2008). Desta forma, devido a pouca aceitabilidade destas metodologias para análises genético populacionais, seu uso para inferências de possíveis diferenciações intra e inter populacional não é aconselhável para estudos que objetivem planejar medidas de conservação.

5. Indicadores de Desempenho

O desenvolvimento do presente Programa será mensurado por meio dos seguintes indicadores:

- Número de amostras coletadas (prevê-se a coleta de 600 amostras);
- Número de experimentos de extração de DNA (total de 600 experimentos);
- Número de amplificação do gene *D-loop* (total de 600 experimentos);
- Número de sequenciamentos do gene *D-loop* (total de 600 experimentos).

O Parecer Técnico 90/2012 e o Parecer Técnico nº 65/2012 – COHID/CGENE/DILIC/IBAMA recomendam a proposição de indicadores relacionados à comunidade inserida na região de influência (AID e AII) da UHE Teles Pires sendo considerada pertinente e válida pelo empreendedor.

A justificativa para a não apresentação desses dados no corrente Plano de Trabalho está relacionada à interação e sinergia necessária com o Programa de Monitoramento da Atividade Pesqueira – P.43 e o Programa de Interação e

Comunicação Social – P.41 para a formulação de indicadores de desempenho que atendam aos objetivos propostos nos referidos Pareceres Técnicos.

6. Etapas

O cronograma para execução do Programa de Investigação Genética de Ictiofauna está previsto para ser realizado através de uma campanha no mês de agosto/2012, fase de implantação da UHE Teles Pires, e após a ordem de serviço.

Serão elaborados dois relatórios parciais de atividades (meses agosto e outubro/12) e um Relatório de Consolidação dos dados ao final, no mês de novembro/12.

No mês de dezembro/12, está prevista a elaboração de um *Workshop* que reunirá todas as equipes envolvidas nos programas relacionados a ictiofauna, para decisão da necessidade ou não de instalação de um Sistema de Transposição para Peixes (STP) no rio Teles Pires. Caso a decisão seja pela instalação de um STP, a equipe deverá propor, de maneira conjunta, os ajustes necessários para o sistema escolhido, considerando os resultados dos Programas de Resgate da Ictiofauna nas Áreas Afetadas pelas Ensecadeiras (P.04), de Monitoramento da Ictiofauna (P. 25) e de Investigação Genética de Ictiofauna (P.26).

É importante mencionar que a escolha desta data proposta para o *Workshop* considera a conclusão dos trabalhos do Programa de Ictiofauna contratados pela Companhia Hidrelétrica Teles Pires S.A.

7. Equipe técnica

Campanha de campo (Pesca, identificação dos peixes, coleta, fixação e acondicionamento do material).

- Biólogo coordenador Geral (01 coordenador de campo)
M.Sc. Márcia Oliveira Barbosa Silva – Bióloga Sênior - CRBio 13426/04-D
M.Sc Renê Eiji Souza Hojo – Biólogo CRBio 37349/04-D
- Biólogos Plenos (02 biólogos plenos, um em cada ponto)
M.Sc. Débora Matioli Souza Hojo – Bióloga CRBio 44320/04-D
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)**
 - André Alberto Weber - Biólogo CRBio 080153/04-D
 - Leandro Alves Moreira – Biólogo CRBio 49713/04-D
 - Maurício José Correa - Biólogo CRBio 76922/04-P
 - Silvestre Silva Souza - Biólogo CRBio 49941/04-D
- **06 pescadores (três em cada ponto)**
 - São três pescadores em cada equipe.
- **04 piloteiros (02 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.S. Juliana Biasser - Universidade de Mogi das Cruzes
Oceanógrafa e Mestre em Biotecnologia

8. Materiais de consumo e equipamentos

Espinhel

- Caixa com 50 anzóis 12/0
- Caixa com 50 anzóis 10/0
- Caixa com 50 anzóis 8/0

- Caixa com 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
- Um alicate para preparo dos anzóis

Tarrafas

- 2 tarrafas de malha 20 mm entre nós adjacentes, linha 0,50 mm, diâmetro de 3 metros
- 2 tarrafas de malha 40 mm entre nós adjacentes, linha 0,70 mm, diâmetro de 3 metros

Arrastos

- 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

Iscas vivas

- 4 quilos de minhocoçu;
- 04 Puçás nylon multifilamento sem nós, PU – 0939 malha: 12mm, fio 210/24
- 04 bombonas 50 litros e 04 baldes de 20 litros;
- 04 embarcações com motor 25 Hp;
- 02 conjuntos de balanças pesolas com capacidade para 1, 10 e 50 kg e 100g;
- 02 ictiômetros;

- 02 bandejas;
- 700 ependorfs;
- Veículo Camionete traçado;
- 04 rádios portáteis de comunicação, com respectivas baterias, carregadores e baterias de reserva;
- 02 tendas para as bases de processamento dos peixes.

- 04 garrafas térmicas 05 litros.

- 01 conjunto de uma mesa com quatro cadeiras.

- 15 Coletes salva-vidas

- 02 Estojos de primeiros socorros

- Filtro solar e repelente
- 50 litros de álcool
- 20 litros de formol
- 01 sonda para medição dos parâmetros abióticos (OD; temperatura; pH; condutividade; sólidos totais)
- 01 disco de secchi
- 01 GPS
- Máquinas fotográficas

8. Cronograma de execução

PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO GENÉTICA DE ICTIOFAUNA						
Etapas	2012					
	jul	ago	set	out	nov	dez
Licença do IBAMA e ordem de serviço						
Coleta de amostras						
Extração de DNA e experimentos de amplificação do gene D-loop						
Sequenciamento do gene D-loop						
Análise e interpretação dos dados						
Entrega de relatórios de atividades						
Entrega de relatório final						
Realização do <i>Workshop</i>						

9. Bibliografia consultada

AVISE, J.C. **Phylogeography: The History and Formation of Species**. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 2000.

BHATTACHARYA E, DANDIN S B AND RANADE S A 2005 Single primer amplification reaction methods reveal exotic and indigenous mulberry varieties are similarly diverse; *J. Biosci.* **30** 669–677

CLEMENT, M; POSADA, D.; CRANDALL, K.A. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. **Molecular Ecology**, 9:1657-1659, 2000.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v.131, p. 479-491, 1992.

FOSTER, S.; VINCENT, A. Enhancing sustainability of the international trade in seahorses with a single minimum size limit. **Conservation Biology**, v.19, n.

(4):1044-1050, 2005. Companhia Hidrelétrica Teles Pires S.A. JGP Consultoria e Participações Ltda. Projeto Básico Ambiental (PBA) P.26 - Programa de Investigação Genética de Ictiofauna 8

GUPTA, M.; CHYI, Y-S.; ROMERO-SEVERSON, J., OWEN, J.L. Amplification of DNA markers from evolutionary diverse genomes using single primers of simple sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 998-1006, 1994.

HADRYN, H.; BALIK, M.; SCHIERWATER, B. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology* 1:55-63, 1992. HAIG, S.M. Molecular contribution to conservation. **Ecology**, 79:413-425, 1998.

HILSDORF, A.W.S., AZEREDO-ESPIN, A.M.L., KRIEGER, M.H., KRIEGER, J.E. Mitochondrial DNA diversity in wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiformes, Characidae, Bryconinae) from the Paraíba do Sul Basin, Brazil 2002., *Aquaculture* 214: 81–91.

HRBEK, T., FARIAS, I.P., CROSSA, M., SAMPAIO, I., PORTO, J.I.R. MEYER, A. Population genetic analysis of *Arapaima gigas*, one of the largest freshwater fishes of the Amazon basin: implications for its conservation. *Animal Conservation* 8: 297–308. 2005.

IERVOLINO, F., RESENDE, E.K., HILSDORF, A.W.S. The lack of genetic differentiation of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) populations in the Upper-Paraguay Basin revealed by the mitochondrial DNA D-loop region: Implications for fishery management. *Fisheries Research* 101: 27–31. 2010.

LIU ZJ, LI P, ARGUE BJ, DUNHAM RA (1999) Random amplified polymorphic DNA markers: usefulness for gene mapping and analysis of genetic variation in catfish. *Aquaculture* 174: 59-68.

MACHIDA, R.J.; TSUDA, A. Dissimilarity of Species and Forms of Planktonic Neocalanus Copepods Using Mitochondrial COI, 12S, Nuclear ITS, and 28S Gene Sequences. **PLOS ONE** 54. Doi: 10.1371, 2010.

MARTINS, C., WASKO, A.P. OLIVEIRA, C., FORESTI, F., 2003. Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongatus* from the Paraná River basin. *Genetics and Molecular Biology*, 26: 33-38.

PERDICES, A.; CUNHA, C.; COELHO, M.M. Phylogenetic structure of *Zacco platypus* Teleostei, Cyprinidae. populations on the upper and middle Chang Jiang - Yangtze drainage inferred from cytochrome b sequence. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 31:192-203, 2004.

PEREIRA, L.H.G.; FORESTI, F.; OLIVEIRA C. Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggests homing behavior. **Ecology of Freshwater Fish**, 18: 215–225, 2009.

ROZAS, J.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J.C.; MESSEGUER, X.; ROZAS, R. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalecent and other methods. **Bioinformatics**, 19:2496-2497, 2003.

SANTOS, M. C. F., RUFFINO M. L., FARIAS, I. P. High levels of genetic variability and panmixia of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in the main channel of the Amazon River. *Journal of Fish Biology* 71 (Supplement A): 33–44. 2007.

SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. **Arlequin: a software for population genetics data analysis. Version 2.0.** Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland, 2000.

SCHREY, A.W.; HEIST, E.J. Microsatellite analysis of population structure in shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 60:670–675, 2003.

SWOFFORD, D.L. **PAUP* - Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods).** Version 4b10. Sinauer, Sunderland, 2002.

THANGARAJ, M. & LIPTON, A.P. Genetic Identity of Three Indian Populations of Three Spotted Seahorse, *Hippocampus trimaculatus*. **Advances in Biological Research**, v. 41, p.37-41, 2010.

THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D.G. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, v.24, p.:4876-4882, 1997. Companhia Hidrelétrica Teles Pires S.A. JGP Consultoria e Participações Ltda. Projeto Básico Ambiental (PBA) P.26 - Programa de Investigação Genética de Ictiofauna 9

TOLEDO FILHO, S.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; GALHARDO, E.; DONOLA, E. Conservação genética de peixes em projetos de repovoamento de reservatórios. São Paulo, USP. 39 p. USP. Cadernos de Ictiogenética, 1992.

WANG, J.; LIN, H.; HUANG, S.; PAN, C.; CHEN, X.; CHIANG, T. Phylogeography of *Varicorhinus barbatulus* (Cyprinidae) in Taiwan based on nucleotide variation of mtDNA and allozymes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 31:1143-1156, 2004.

WELSH, J.; MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18:7213-218, 1990.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, J.; RAFALSSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535, 1990.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D.; Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183, 1994.

Ranade, D.S., Srivastava, A.P., Rana, T.S., Srivastava, J., Tuli R. 2008. Easy assessment of diversity in *Jatropha curcas* L. plants using two single-primer amplification reaction (SPAR) methods. *Biomass and Bioenergy*, 32: 533–540