

Identificação genética de aves vítimas do tráfico de animais silvestres



Carlos Benigno Vieira de Carvalho*

O tráfico de animais silvestres representa uma ameaça à sobrevivência das espécies nativas brasileiras. Na medida em que muitas vezes retira indivíduos diretamente da natureza, o comércio ilegal de espécies silvestres reduz a biodiversidade e altera os ecossistemas, colocando em risco as populações naturais (Alacs & Georges 2008). A crença na impunidade, bem como as altas taxas de lucro obtidas com o comércio ilegal de espécies de animais, são alguns dos fatores que contribuem para que esta atividade ilícita seja bastante difundida no Brasil. Estimativas sugerem que o tráfico de animais silvestres no Brasil movimentou cerca de um bilhão de dólares por ano, sendo que as aves são os animais mais encontrados no comércio ilegal (Renctas 2001).

Embora as aves nativas brasileiras encontrem-se protegidas pela atual legislação, muitas vezes os espécimes apreendidos não são facilmente identificáveis, o que prejudica a caracterização do crime e a definição da pena, dificultando a punição dos responsáveis. Ao contrário do que ocorre com a maior parte das aves adultas íntegras, nem sempre é possível por meio da morfologia identificar corretamente a espécie a que pertencem ovos e imaturos. Quando a identificação morfológica não é possível, podem ser utilizadas para este fim técnicas baseadas na análise do DNA nuclear ou mitocondrial (Alacs *et al.* 2009).

O uso do DNA mitocondrial na identificação de espécies apresenta algumas vantagens quando comparado ao DNA nuclear. Entre elas pode-se citar o fato de estar presente em um grande número de cópias em cada célula, não sofrer recombinação genética e apresentar grandes taxas de mutação, o que faz com que mesmo espécies próximas apresentem diferenças que possibilitam a sua distinção (Linacre & Tobe 2011). Além disso, as técnicas de identificação baseadas no DNA mitocondrial podem se valer de *primers* universais para a amplificação da mesma região informativa em diversos grupos animais, permitindo a realização de exames sem conhecimento prévio do material analisado.

Diversas regiões do DNA mitocondrial podem ser utilizadas na identificação de espécies animais, entre elas, o gene citocromo b (cytb), que tem sido uma escolha tradicional para este fim há bastante tempo (Parson *et al.* 2000; Hasieh *et al.* 2001). Na literatura, podem ser encontrados inúmeros exemplos do uso desta região na identificação de vertebrados para fins forenses, incluindo



Figura 1. Imagem ilustrativa de um dos ovos encaminhados para identificação.

do mamíferos (Tsai *et al.* 2007), répteis (Wong *et al.* 2004), peixes (Kyle & Wilson 2007) e aves (Gupta *et al.* 2005; Parik *et al.* 2008), inclusive seus ovos (Jacques & Grattapaglia 2004; Coghlan *et al.* 2011).

No Brasil, a identificação genética de espécies de aves com finalidade forense ainda é feita em casos restritos e por poucas instituições. Este artigo apresenta um desses casos, mostrando como a análise de sequências do citocromo b, realizada no Laboratório de DNA do Instituto Nacional de Criminalística do Departamento de Polícia Federal, foi eficaz para identificar as espécies de origem de ovos e indivíduos imaturos de aves silvestres vítimas do tráfico de animais.

Material e Métodos

Nos anos de 2009 e 2010, foram realizadas pela Polícia Federal apreensões de ovos suspeitos com passageiros que embarcariam no Aeroporto Internacional de Brasília. Após as apreensões, os ovos foram encaminhados para incubação no Jardim Zoológico



Figura 2. Imagem ilustrativa de um dos imaturos mortos encaminhados para identificação.

Tabela 1. Resultado da comparação entre as seqüências dos espécimes examinados e aquelas com maior similaridade depositadas no *GenBank*.

| Item | Espécime/ Registro | Espécie com maior similaridade (número de acesso ao <i>GenBank</i>) | Cobertura* | Similaridade** |
|------|-----------------------|---|------------|----------------|
| 1 | ovo (329) | <i>Amazona aestiva</i> (AY283469.1)*** | 100% | 99% |
| 2 | ovo (329) | <i>Amazona aestiva</i> (AY283469.1)*** | 100% | 99% |
| 3 | ovo (329) | <i>Amazona aestiva</i> (AY283469.1)*** | 100% | 99% |
| 4 | ovo (329) | <i>Amazona aestiva</i> (AY283469.1)*** | 100% | 99% |
| 5 | ovo (329) | <i>Amazona aestiva</i> (AY283469.1)*** | 100% | 99% |
| 6 | ovo (329) | <i>Alipiopsitta xanthops</i> (AY669441.1) | 100% | 99% |
| 7 | ovo (329) | <i>Alipiopsitta xanthops</i> (AY669441.1) | 100% | 99% |
| 8 | ovo (329) | <i>Alipiopsitta xanthops</i> (AY669441.1) | 100% | 99% |
| 9 | ovo (329) | <i>Alipiopsitta xanthops</i> (AY669861.1) | 100% | 100% |
| 10 | ovo (229) | <i>Ara chloropterus</i> (AY669858.1) | 100% | 98% |
| 11 | cadáver (329) | <i>Amazona aestiva</i> (AY283469.1)*** | 100% | 99% |
| 12 | cadáver (232) | <i>Ara chloropterus</i> (AY669858.1) | 100% | 100% |
| 13 | cadáver (233) | <i>Ara chloropterus</i> (AY669858.1) | 100% | 100% |
| 14 | cadáver (247) | <i>Ara chloropterus</i> (AY669858.1) | 100% | 100% |
| 15 | cadáver (233) | <i>Ara chloropterus</i> (AY669858.1) | 100% | 98% |
| 16 | cadáver (329) | <i>Aratinga aurea</i> (AY286208.1) | 86% | 99% |
| 17 | cadáver (329) | <i>Megascops choliba</i> (AJ004021.1) | 97% | 99% |

*Mostra o quanto a seqüência questionada alinha com a seqüência de maior similaridade.

**No trecho alinhado entre a seqüência questionada e a de maior similaridade.

***Embora seja de *A. aestiva* a seqüência com maior homologia à seqüência do espécime examinado, o alto grau de similaridade encontrado também com seqüências de *A. ochrocephala* não permite apontar com segurança a qual das duas espécies pertence o espécime questionado.

de Brasília em uma tentativa de preservar a sua viabilidade e proceder a sua identificação morfológica posterior. Na medida em que os ovos foram se tornando inviáveis ou que indivíduos imaturos pereciam, o material era congelado e encaminhado para exame. Dessa forma, o Laboratório de DNA do Instituto Nacional de Criminalística recebeu um total de 10 ovos e oito exemplares mortos de aves (como se trata de material de apreensões, o mesmo foi registrado no Laboratório de DNA sob os números 229, 232, 233, 247 e 329). Os ovos eram predominantemente brancos e possuíam tamanho variável entre 4,0 e 5,5 cm (maior diâmetro). Os exemplares mortos apresentavam diferentes tamanhos e estavam em fases iniciais de seu desenvolvimento, não sendo possível a sua identificação com base em características morfológicas (Figuras 1 e 2).

Inicialmente, foram coletadas amostras do material encaminhado. Cada um dos exemplares mortos teve amostrada uma porção de tecido muscular de aproximadamente 0,3 cm³. Com relação aos ovos, os mesmos foram abertos e foi coletada uma pequena porção do tecido embrionário existente em seu interior (aproximadamente 0,3 cm³). Após incubação em tampão de extração com DTT e proteinase K, as amostras foram submetidas à extração orgânica seguida por diálise e concentração em membrana *Centricon*[™] (*Millipore*[™]), seguindo o protocolo adaptado de Comey et al (1994).

As amostras de DNA extraído tiveram um fragmento de 358 pares de bases do gene mitocondrial do citocromo b (*cytb*) amplificado utilizando-se os *primers* e as condições de PCR descritas por Branicki et al. (2003). Após a verificação em gel de agarose, o produto de amplificação foi submetido a tratamento enzimático com *ExoI* e *SAP* e sequenciado através do método de terminação de cadeia nos sentidos direto e reverso com auxílio do *kit Big Dye Terminator v1.1* (*Applied Biosystems*) em um analisador genético ABI 3100-Avant (*Applied Biosystems*). As seqüências obtidas foram montadas e tiveram sua qualidade avaliada com auxílio do programa *SeqScape v2.6* (*Applied Biosystems*).

As seqüências com qualidade suficiente para as análises foram editadas para a retirada dos segmentos iniciais e finais (correspondentes às seqüências dos *primers*) e foram comparadas com aquelas existentes no *GenBank*, banco de dados de seqüências genéticas do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*, utilizando-se a ferramenta *BLASTn*. Para a identificação das espécies foram considerados os diferentes parâmetros apresentados para as

sequências resultantes, incluindo o percentual de alinhamento, a identidade máxima e a significância do resultado obtido. As sequências utilizadas se encontram listadas no Anexo 1.

Os resultados obtidos por meio da ferramenta BLASTn foram posteriormente comparados com os resultados de árvores filogenéticas construídas com as sequências aqui obtidas e outras sequências homólogas de espécies próximas. O programa MEGA 5 (Tamura et al. 2011) foi utilizado no alinhamento das sequências e para as análises posteriores. As árvores foram construídas utilizando o modelo de substituição nucleotídica *Maximum Composite Likelihood* e o método de construção de árvores baseado na distância genética *Neighbor-Joining* (Saitou & Nei 1987), com teste de *bootstrap* (1000 réplicas) para avaliação da topologia resultante.

Resultados

Com exceção de um dos espécimes foi possível extrair DNA de todos os outros itens amostrados. A amplificação e o sequenciamento do fragmento do gene citocromo b foi bem sucedida para todos os 17 espécimes que tiveram o DNA extraído.

O confronto das sequências obtidas com aquelas existentes no *GenBank* possibilitou a identificação dos 17 espécimes sequenciados, sendo 11 (65%) até o nível de espécie e seis (35%) pelo menos até o nível de gênero, pertencentes a duas famílias diferentes. Da família Psittacidae, foram identificados indivíduos pertencentes às espécies *Aliplopsitta xanthops* (anteriormente *Amazona xanthops*) (papagaio-galego), *Ara chloropterus* (arara-vermelha-grande), *Aratinga aurea* (periquito-rei) e ao gênero *Amazona*, enquanto da família Strigidae, foi identificado um indivíduo da espécie *Megascops choliba* (corujinha-do-mato). O alto grau de similaridade encontrado entre as sequências de alguns indivíduos e sequências de *A. aestiva* e *A. ochrocephala* não permite identificá-los até o nível de espécie com base apenas no fragmento do citocromo b analisado (Tabela 1).

As árvores filogenéticas construídas para cada uma das cinco espécies identificadas se mostraram concordantes com os resultados obtidos com o uso da ferramenta BLASTn, confirmando a identificação dos espécimes pertencentes às espécies *A. xanthops*, *A. chloropterus*, *A. aurea* e *M. choliba*. A filogenia para os outros seis espécimes pertencentes ao gênero *Amazona* resultou no agrupamento destes com indivíduos das espécies *A. aestiva* e *A. ochrocephala*. Conforme mencionado anteriormente, estes resultados não permitem afirmar com total segurança a qual das duas espécies pertencem os seis espécimes analisados (Figura 3).

Discussão

Pelo fato de já ser utilizado há bastante tempo em uma série de estudos filogenéticos com aves, o gene mitocondrial citocromo b

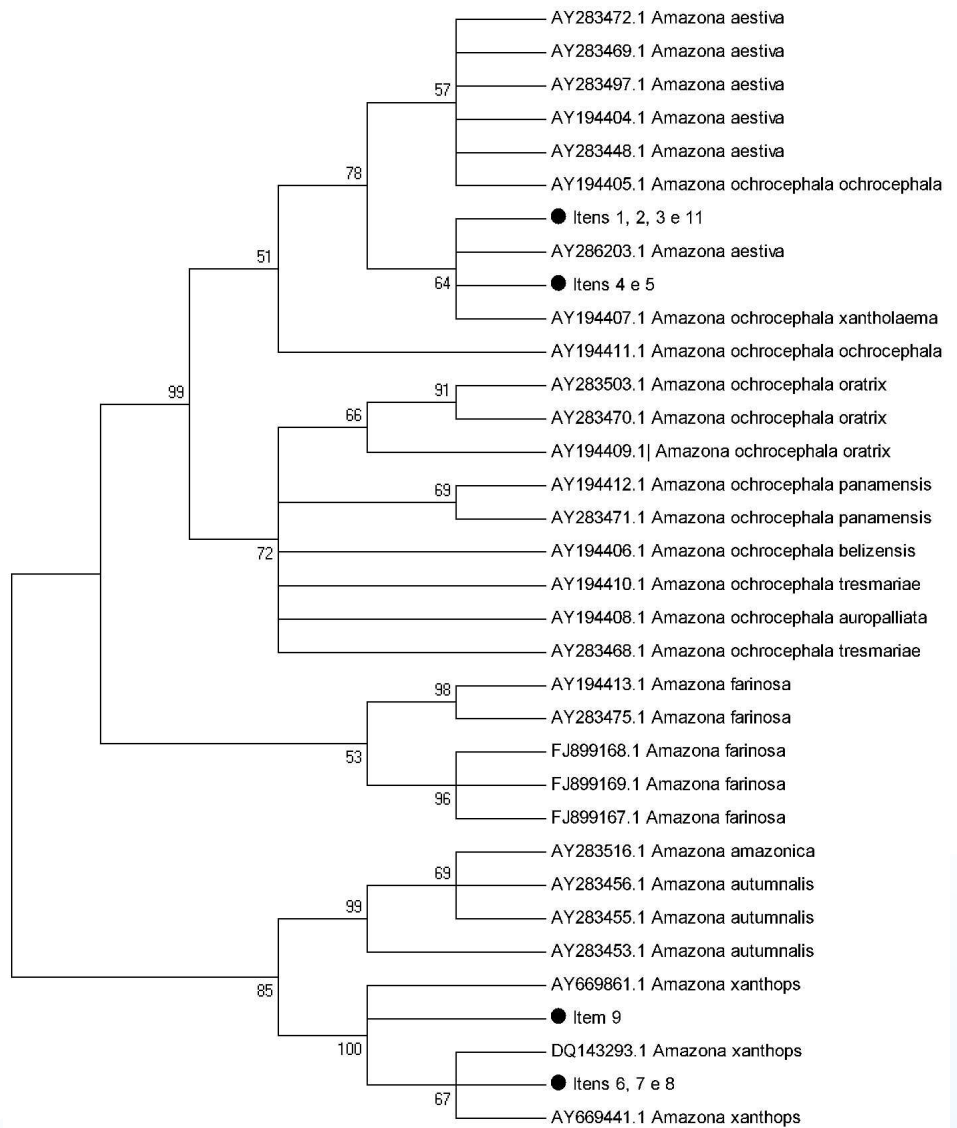


Figura 3. Cladograma derivado de uma árvore Neighbor-Joining consensual (árvore condensada, ramos com valores de *bootstrap* <50% foram colapsados), construída com sequências nucleotídicas de citocromo b dos espécimes identificados como pertencentes ao gênero *Amazona* e *Aliplopsitta* neste trabalho e sequências dos mesmos gêneros, de ocorrência no Brasil, disponíveis no GenBank (sequências obtidas no GenBank são precedidas por seus números de acesso, = sequências obtidas neste trabalho).

está relativamente bem representado em número de sequências depositadas no *GenBank*. Neste trabalho, a análise de sequências do citocromo b possibilitou a identificação até o nível de espécie de 65% dos indivíduos sequenciados, o que confirma o seu valor como ferramenta para identificação de espécies. Para os espécimes identificados neste estudo como pertencentes ao gênero *Amazona*, os dados obtidos não permitiram identificá-los com segurança como pertencentes à espécie *A. aestiva* ou à *A. ochrocephala*, sendo necessários estudos adicionais. De fato, estudos filogenéticos anteriores baseados em diferentes genes mitocondriais apontam para a grande similaridade genética entre *A. aestiva* e grupos do complexo *A. ochrocephala*, mostrando que a classificação taxonômica do grupo é bastante complexa e precisa ser melhor estudada (Eberhard & Bermingham 2004, Ribas et al. 2007, Caparroz et al. 2009).

Devido ao colorido de suas penas, comportamento e capacidade de vocalização, membros da família Psittacidae são bastante populares entre colecionadores, com o seu preço podendo atingir milhares de dólares no mercado internacional (Alacs &

Georges 2008; Coughlan *et al.* 2011). Este é um dos motivos pelo qual o comércio da maior parte das espécies do grupo se encontra regulado pela Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção – CITES. Tal convenção, da qual o Brasil é signatário, tem por objetivo evitar que o comércio de espécies da fauna e da flora ameace a sua sobrevivência na natureza (www.cites.org). Embora no Brasil não existam muitas informações publicadas sobre o assunto, os dados relativos a um centro de triagem do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) na cidade de Juiz de Fora, em Minas Gerais, apontaram a família Psittacidae como a segunda em número de espécies e a quarta em número de indivíduos apreendidos ou entregues voluntariamente naquele centro (Gogliath *et al.* 2010). Os resultados aqui obtidos, onde a maior parte das espécies identificadas também pertence à família Psittacidae, bem como de outras apreensões efetuadas pela Polícia Federal em anos anteriores, corroboram a ideia de que os membros desse grupo são alvos preferenciais para o comércio ilegal de aves silvestres.

Tendo em vista não se tratar de uma espécie comercialmente valorizada, a presença de uma coruja da espécie *Megascops choliba* entre os Psittacidae identificados neste trabalho pode ter outras explicações. Uma delas seria a inclusão de ovos de uma espécie menos visada entre ovos de Psittacidae em uma tentativa de ludibriar eventuais compradores. Outra explicação seria a ocorrência natural de ovos de *M. choliba* entre ovos de Psittacidae, uma vez que algumas espécies desse grupo podem expulsar adultos de *M. choliba* das cavidades ou ovos onde estes nidificam e depositar seus ovos nos mesmos locais (Lima & Neto 2009). De fato, a incubação de ovos provenientes de uma apreensão no aeroporto de Salvador, bem como a identificação genética de ovos apreendidos no aeroporto de Recife, também resultaram na identificação de ovos de *M. choliba* entre diversos ovos de Psittacidae (Jacques & Grattapaglia 2004; D'Amato *et al.* 2009).

O combate ao comércio ilegal de espécies silvestres, seja para o mercado doméstico ou internacional, é essencial para a proteção da avifauna brasileira. Dentre os grupos mais ameaçados, encontram-se diversos membros da família Psittacidae, aves carismáticas com grande procura no mercado negro. Além dos desequilíbrios causados aos ecossistemas naturais, a superexploração de algumas espécies pode levar à extinção de populações locais e, em longo prazo, prejudicar a sua sobrevivência na natureza (Alacs & Georges 2008). Dessa forma, técnicas e ferramentas que permitam aumentar a eficiência do combate a este tipo de atividade criminosa, tais como a identificação genética, devem ser difundidas e aprimoradas por meio de novos estudos de filogenia, tornando seu uso mais frequente no Brasil.

Agradecimentos

Aos colegas Peritos Criminais Federais Gabriel Egito, Guilherme Jacques, Gustavo Chemale, Jeferson Badaraco e Jorge Freitas pela cuidadosa revisão do manuscrito original e valiosas sugestões ao texto. Aos revisores de Atualidades Ornitológicas, e a Anderson Vieira Chaves, pelas correções, sugestões e comentários, que contribuíram bastante para a melhoria do texto final.

Referências Bibliográficas

Alacs, E. & A. Georges (2008) Wildlife across our borders: a review of the illegal trade in Australia. *Australian Journal of Forensic Sciences* 40(2): 147-160.

Alacs, E. A., A. Georges, N. N. FitzSimmons & J. Robertson (2009) DNA detective: a review of molecular approaches to wildlife forensics. *Forensics Science, Medicine, and Pathology* 6: 180-194.

Branicki, W., T. Kupiec & R. Pawlowski. (2003) Validation of Cytochrome b Sequence Analysis as a Method of Species Identification. *Journal of Forensic Sciences* 48(1): 83-87.

Coughlan, M. L., N. E. White, L. Parkinson, J. Haile & P. B. S. Spencer (2011) Egg forensics: An appraisal of DNA sequencing to assist in species identification of illegally smuggled eggs. *Forensic Science International: Genetics*: In press.

Comey, C. T., B. W. Koons, K. W. Preley, J. B. Smerick, C. A. Sobieralski, D. M. Stanley & F. S. Baechtel (1994) DNA Extraction Strategies for Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis. *Journal of Forensic Sciences* 39: 1254-1269.

Caparroz, R., G. H. F. Seixas, I. Berkunsky & R. G. Colevatti (2009). The role of demography and climatic events in shaping the phylogeography of *Amazona aestiva* (Psittaciformes, Aves) and a definition of management units for conservation. *Diversity and Distributions* 15: 459-468.

D'Amato, A. F., M. A. Moraes & J. L. Maria (2009) Apreensão de ovos Psittacidae com sucesso de eclosão – Relato de casos. *Atualidades Ornitológicas On-line* 150: 37-40.

Eberhard, J. R. & E. Bermingham (2004). Phylogeny and biogeography of the *Amazona ochrocephala* (Aves: Psittacidae) complex. *The Auk* 121(2): 318-332.

Gogliath, M., E. L. Bisaggio, L. B. Ribeiro, A. E. Resgalla & R. C. Borges (2010) Avifauna apreendida e entregue voluntariamente ao Centro de Triagem de Animais Silvestres (Cetas) do Ibama de Juiz de Fora, Minas Gerais. *Atualidades Ornitológicas On-line* 154: 55-59.

Gupta, S. K., S. K. Verma & L. Singui (2005) Molecular insight into a wildlife crime: the case of a peafowl slaughter. *Forensic Science International* 154: 214-217.

Hsieh, H., H. Chiang, L. Tsai, S. Lai, N. Huang, A. Linacre & J. C. Lee (2001) Cytochrome b gene for species identification of the conservation animals. *Forensic Science International* 122: 7-18.

Jacques, G. S. & D. Grattapaglia (2005) Identificação de espécies animais utilizando genes mitocondriais no combate aos crimes contra a fauna. **Resumos do 50º Congresso Brasileiro de Genética**. Disponível em: <http://web2.sbg.org.br/congressos/Anteriores/Pdf_resumos/50/GA329.pdf> Acesso em: 08/03/2012.

Kyle, C. J. & C. C. Wilson (2007) Mitochondrial DNA identification of game and harvested freshwater fish species. *Forensic Science International* 166: 68-76.

Lima, P. C. & T. N. C. L. Neto (2009) O comportamento reprodutivo da corujinha-do-mato *Otus choliba choliba* (Strigiformes: Strigidae) no litoral norte da Bahia: um ensaio fotográfico. *Atualidades Ornitológicas On-line* 152: 41-65.

Linacre, A. & S. Tobe (2011) An overview to the investigative approach to species testing in wildlife forensic science. *Investigative Genetics* 2: 1-9.

Parik, J., A. I. Freitas, J. Jesus, R. Villems, A. Brehm & R. Gonçalves (2008). Identification of endangered petrel species from poor quality feather debris using cytochrome b sequences. *Forensic Science International* 174: 86-87.

Parson, W., K. Pegoraro, H. Niederstätter, M. Föger & M. Steinlecker (2000) Species identification by means of the cytochrome b gene. *International Journal of Legal Medicine* 114: 23-28.

Renctas (2001) **1º Relatório Nacional sobre o Tráfico de Fauna Silvestre**. Brasília. 107p.

Ribas, C. C., E. S. Tavares, C. Yoshihara & C. Y. Miyaki, (2007). Phylogeny and biogeography of Yellow-headed and Blue-fronted Parrots (*Amazona ochrocephala* and *Amazona aestiva*) with special reference to the South American taxa. *Ibis* 149(3): 564-574.

Saitou, N. & M. Nei (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-25.

Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar (2011) Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*: In Press.

Tsai, L., M. Huang, C. Hsiao, A. C. Lin, S. Chen, J. C. Lee & H. Hsieh (2007) Species identification of animal specimens by cytochrome b gene. *Forensic Science Journal* 6(1): 63-65.

Wong, K., J. Wang, P. P. But & P. Shaw (2004) Application of cytochrome b DNA sequences for the authentication of endangered snake species. *Forensic Science International* 139: 49-55.

*Área de Perícias em Genética Forense, Instituto Nacional de Criminalística, Departamento de Polícia Federal
benigno.cbvc@dpf.gov.br

Anexo 1. Sequências utilizadas.

>Itens 1, 2, 3 e 11

CTTTGGGTCTCTCCTAGGAATTTGCCTAGCAA
CACAAATCCTAACAGGTTTACTCCTAGCCGCAC
ACTACACCGCAGACACCTCCCTAGCCTTCTCAT
CTGTGGCTAACACATGCCGGAACGTACAGTACG
GCTGACTAATCCGCAACCTTCACGCAAACGGA
GCCTCACTCTTCTTCATCTGCATCTACCTGCATA
TCGCCGAGGCTTCTACTATGGCTCATACTGT
TAAAGAAACCTGAAACACAGGAATCATCCTTCT
CCTAACCTCATGCAACAGCCTTCGTAGGATAC
GTCCTGCCA

>Itens 4 e 5

CTTTGGGTCTCTCCTAGGAATTTGCCTAGCAA
CACAAATCCTAACAGGTTTACTCCTAGCCGCAC
ACTACACCGCAGACACCTCCCTAGCCTTCTCAT
CTGTGGCTAACACATGCCGGAACGTACAGTACG
GCTGACTAATCCGCAACCTTCACGCAAACGGA
GCCTCACTCTTCTTCATCTGCATCTACCTGCATA
TTGCCGAGGCTTCTACTATGGCTCATACTGT
TAAAGAAACCTGAAACACAGGAATCATCCTTCT
CCTAACCTCATGGCAACAGCCTTCGTAGGATA
CGTCCTGCCA

>Itens 6, 7 e 8

CTTTGGGTCCCTCCTAGGAATCTGCCTAACAA
CACAAATCCTAACAGGCCTACTCCTAGCCACCC
ATTACACTGCAGACACCTCCCTAGCCTTCTCAT
CCGTAGCCAACATATGCCGAAACGTACAATACG
GCTGACTAATCCGCAACCTCCATGCAAATGGAG
CCTCACTCTTCTTTATCTGCATTTACCTACATATC
GCCCCGGGCTTCTACTACGGCTCGTACCTATATA
AAGAAACCTGAAACACAGGAATTATCCTCCTCC
TCACCCTTATAGCAACAGCCTTTGTAGGCTACG
TCCTACCA

>Item 9

CTTTGGGTCCCTCCTAGGAATCTGCCTAACAA
CACAAATCCTAACAGGCCTACTCCTAGCCGCC
ATTACACTGCAGACACCTCCCTAGCCTTCTCAT
CCGTAGCCAACATATGCCGAAACGTACAATACG
GCTGACTAATCCGCAACCTCCATGCAAATGGAG
CCTCACTCTTCTTTATCTGCATTTACCTACATATC
GCCCCGGGCTTCTACTACGGCTCATACTATATA
AAGAAACCTGAAACACAGGAATTATCCTCCTCC
TCACCCTTATAGCAACAGCCTTTGTAGGCTACG
TCCTACCA

>Item 10

CTTCGGGTCCCTSTTAGGAATCTGCTTAAAAA
CACAAATCCTAACAGGCCTACTCCTAGCTGYCC
AAYACTGCAGACACCTCTCTGGCCTTCTCTTCT

GTGGCTAATATGTGTGCGAAACGTACAATATGGTT
GACTAATTCGAAACCTCCATGCAAACGGAGCCT
CATTCTTCTTCATCTGTATCTACCTTCATATCGCC
CGAGGCTTTTATTACGGCTCATACTATACAAAG
AAACCTGAAACACAGGTATCATCCTTCTACTTA
CCCTCATAGCCACAGCCTTTGTTGGCTATGTCTT
ACCA

>Itens 12, 13 e 14

CTTCGGGTCCCTCTTAGGAATCTGCTTAAACAA
CACAAATCCTAACAGGCCTACTCCTAGCTGCC
ATTACACTGCAGACACCTCTCTGGCCTTCTCTT
CTGTGGCTAATATGTGTGCGAAACGTACAATATG
GTTGACTAATTCGAAACCTCCATGCAAACGGAG
CCTCATTCTTCTTCATCTGTATCTACCTTCATATC
GCCCCGAGGCTTTTATTACGGCTCATACTATA
AAGAAACCTGAAACACAGGTATCATCCTTCTAC
TTACCCTCATAGCCACAGCCTTTGTTGGCTATGT
CTTACCA

>Item 15

CTTCGGGTCCCTCTTAGGAATSTGCKTRACAA
CACAAATCCTAACAGGCCTACTCCTAGCTGCC
ATCACACTGCAGACACCTCTCTGGCCTTCTCTT
CTGTGGYTAATATGTGTGCGAAACGTACAATATG
GTTGACTAATTCGAAACCTCCATGCAAACGGAG
CCTCATTCTTCTTCATCTGTATCTACCTTCATATC
GCCCCGAGGCTTTTATTACGGCTCATACTATA
AAGAAACCTGAAACACAGGTATCATCCTTCTAC
TTACCCTCATAGCCACAGCCTTTGTTGGCTATGT
CTTACCA

>Item 16

CTTCGGGTCCCTCCTAGGAATCTGCCTAATAA
CACAAATCCTAACCGGCCTACTCCTAGCCGCTC
ACTACACTGCAGACACTTCTCTAGCTTTCTCTC
CGTAGCTATACATGCCGAAATGTACAATACGGTT
GACTAATCCGAAATCTCCACGCAAACGGAGCCT
CATTCTTCTTCATCTGCATTTACCTCCACATTGC
TCGAGGTTTCTACTATGGTTCATACCTGTATAAA
GAAACCTGAAACACAGGTATCATCCTCCTACTC
ACCCTTATAGCCACAGCCTTTGTTGGCTATGTAC
TACCA

>Item 17

CTTCGGATCCCTACTAGCAATCTGCCTAGCAA
CTCAAATCATCACAGGCCTCCTCCTCGCCACAC
ACTATACAGCCGACTCAACCCTAGCATTACAT
CCGTGTACACACCTGCCGGAATGTTCAATACG
GCTGACTACTGCGTAACTCCATGCAAATGGAG
CCTCATTCTTCTTCATCTGCATCTATCTACACATC
GGACGGGGCCTGTACTACGGCTCATATCTCTATA
AAGAAACCTGAAATACAGGCATTATTCTTTTAC
TCACCCTCATAGCAACTGCCTTCGTAGGTTACG
TCCTACCA