

GRUPO DE ESTUDO DE DESEMPENHO AMBIENTAL DE SISTEMAS ELÉTRICOS - GMA

DESAFIOS E PERSPECTIVAS PARA O USO DO DNA AMBIENTAL COMO FERRAMENTA PARA MONITORAMENTO DE FAUNA E GESTÃO DE ESPÉCIES INVASORAS

MARCIO ROBERTO PIE(1);ALINE HORODESKY(2);GIORGI DAL PONT(1);ANDRÉ OLIVOTTO AGOSTINIS(1);THIAGO LUIS ZANIN(3);OTTO SAMUEL MÄDER NETTO(2);ANTONIO OSTRENSKY(1);RAÍSSA VITÓRIA VIEIRA LEITE ;ANA PAULA DA SILVA BERTÃO UFPR(1);ATGC GENÉTICA AMBIENTAL (2);COPEL GERAÇÃO E TRANSMISSÃO S.A.(3)

RESUMO

O monitoramento ambiental tem sido revolucionado por avanços nas tecnologias de sequenciamento de DNA. Em particular, o DNA ambiental (o estudo de fragmentos de DNA presentes na água como sub-produtos das atividades diárias de organismos aquáticos, como células mortas, muco, saliva e fezes) é uma abordagem cada vez mais utilizada em outros países, porém é ainda incipiente no Brasil. Nesta apresentação apresentaremos um resumo dos avanços recentes no estudo de DNA ambiental e de seu potencial para o setor elétrico.

PALAVRAS-CHAVE

1.0 INTRODUÇÃO

A gestão sustentável da geração de energia hidrelétrica no Brasil tem dois desafios importantes com relação a organismos aquáticos, os quais são tornados ainda mais urgentes face ao fato de termos uma das maiores biodiversidades de ambientes de água doce do mundo. Por um lado, é fundamental que sejam realizados planejamentos e iniciativas que assegurem a preservação da biodiversidade aquática ao longo prazo e minimizem os potenciais efeitos relativos da modificação ambiental resultante de barragens ou outras atividades antropogênicas, como no caso de peixes migradores. Por outro lado, a disseminação e crescimento de populações de espécies invasoras como o mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) pode ser altamente prejudicial. Apesar de envolverem diametralmente opostos (a manutenção de populações nativas e a redução de populações invasoras), ambos objetivos dependem fundamentalmente da capacidade de detectar a presença destas espécies no ambiente, trazendo subsídios indispensáveis para o delineamento de estratégias de manejo destas populações. Contudo, os métodos tradicionais para a obtenção destes dados é lenta, cara e potencialmente danosa, como no caso de pesca de espécies ameaçadas, onde o próprio processo de monitoramento pode afetar as espécies envolvidas. Uma alternativa metodológica importante que tem sido aprimorada na última década é o estudo do DNA ambiental, isto é, o estudo de fragmentos de DNA presentes na água como sub-produtos das atividades diárias de organismos aquáticos, como células mortas, muco, saliva e fezes. Embora seja uma abordagem cada vez mais utilizada em outros países, o uso de métodos baseados na tecnologia do DNA ambiental ainda é incipiente no Brasil. Nesta apresentação apresentaremos um resumo dos avanços recentes no estudo de DNA ambiental e de seu potencial para o setor elétrico.

2. Estudos de caso

2.1. Espécies invasoras

O mexilhão dourado é uma das espécies invasoras de maior impacto sobre o setor elétrico no Brasil. Sua presença pode levar a problemas operacionais severos, como os danos extensivos a sistemas de refrigeração e filtração resultantes de sua bioincrustação. A maneira tradicional em que larvas do mexilhão tem sido monitoradas é através da filtração de água, seguida de visualização e identificação em microscópio. Contudo, esta abordagem é demorada, cara e passível de erros de identificação, assim dificultando a tomada de decisão rápida para o seu controle.

Em 2006, em um estudo pioneiro no país, desenvolvemos um método para a detecção do mexilhão dourado utilizando o seu eDNA (Pie et al. 2006). Essencialmente o método envolve a coleta de água, sua filtragem, a extração do DNA presente, sua amplificação por PCR utilizando primers específicos, e a visualização dos resultados por eletroforese de agarose. Desde então, este método tornou-se amplamente utilizado para o monitoramento do mexilhão dourado no Brasil, incluindo diversos outros grupos de pesquisa.

Dois outros importantes avanços têm sido buscados nesta área. Primeiro, desenvolvemos um marcador mais eficiente, utilizando um ensaio de PCR do tipo taqman, que permite não só maior sensibilidade (detectando quantidades tão baixas como 0.225 picogramas de DNA), como também uma estimativa quantitativa da abundância do mexilhão dourado, ao contrário do método anterior que somente indicaria presença ou ausência. Segundo, estamos atualmente otimizando ensaios para outras espécies invasoras de interesse para o setor elétrico, como *Corbicula fluminea* e o hidrozóario *Cordylophora caspia*. Nos próximos meses estes novos marcadores serão publicados e estarão disponíveis para uso em programas de monitoramento no Brasil.

2.1. Monitoramento de fauna aquática

O monitoramento de fauna silvestre aquática é uma ferramenta fundamental para assegurar a preservação dos sistemas ecológicos associados a reservatórios, além de servir como baseline para avaliar eventuais perturbações. Assim como no caso das espécies invasoras, este monitoramento envolve um custo elevado, é demorado e frequentemente impreciso.

Um método já utilizado no exterior, mas ainda incipiente no Brasil, é chamado de “metabarcoding”. Nesta abordagem, amostras de aproximadamente 1 L de água são obtidas em campo e processadas de maneira semelhante àquela descrita acima, com uma importante diferença. No lugar de primers específicos para uma determinada espécie, são utilizados primers menos específicos, os quais seriam capazes de amplificar qualquer espécie de peixe, por exemplo. Recentemente implementamos esta abordagem para monitorar a comunidade de peixes do reservatório de Itaipu. Esta localidade foi particularmente informativa, já que é um local onde amostragens de peixes têm sido realizadas consistentemente por vários anos, permitindo uma comparação direta dos seus desempenhos. Os resultados confirmaram a eficiência do método de metabarcoding, apesar de envolver uma fração pequena dos custos e do tempo envolvido nos métodos tradicionais.

Outra aplicação interessante do método de metabarcoding é a possibilidade evidenciar componentes da biodiversidade que não eram alvo dos estudos originais. Tendo em vista a quantidade enorme de sequências geradas nas novas plataformas de sequenciamento, ainda são reveladas quantidades vestigiais de outras espécies. No primeiro estudo deste tipo no Brasil e segundo no mundo, um artigo de nosso grupo foi capaz de detectar várias espécies de mamíferos presentes na região terrestre próxima do reservatório. Esta detecção se deu pelo carregamento de moléculas de DNA do ambiente terrestre para os rios e reservatórios em quantidades detectáveis. Isto ressalta a sensibilidade e eficiência do metabarcoding, abrindo novas possibilidades para o estudo da biodiversidade associada a reservatórios.

3. Direções futuras

Para que se possa tirar proveito da eficiência destes métodos, é necessário que as metodologias utilizadas sejam eficientes e comparáveis. Para isso, apresentaremos diretrizes para que esforços de monitoramento por DNA ambiental possam ser implementados em diferentes bacias hidrográficas brasileiras, com protocolos padronizados e métodos comparáveis, permitindo não só o estabelecimento de baselines, como no monitoramento demográfico de populações ao longo de diferentes estações e anos, trazendo subsídios para avaliar eventuais impactos ambientais e para o manejo e conservação de populações silvestres, tanto por empresas do setor elétrico, como também para órgãos ambientais responsáveis.

4. Referências citadas

Dal Pont, G., Duarte Ritter, C., Agostinis, A. O., Stica, P. V., Horodesky, A., Cozer, N., Balsanelli, R., Netto, O.S.M., Henn, C., Ostrensky, A. & Pie, M. R. (2021). Monitoring fish communities through environmental DNA metabarcoding in the fish pass system of the second largest hydropower plant in the world. *Scientific reports*, 11(1), 1-13.

Pie, M. R., Boeger, W. A., Patella, L., & Falleiros, R. M. (2006). A fast and accurate molecular method for the detection of larvae of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Mollusca: Mytilidae) in plankton samples. *Journal of Molluscan Studies*, 72(2), 218-219.

Pie, M. R., Ströher, P. R., Agostinis, A. O., Belmonte-Lopes, R., Tadra-Sfeir, M. Z., & Ostrensky, A. (2017). Development of a real-time PCR assay for the detection of the golden mussel (*Limnoperna fortunei*, Mytilidae) in environmental samples. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89, 1041-1045.

Ritter, C. D., Dal Pont, G., Stika, P. V., Horodesky, A., Cozer, N., Netto, O. S. M., Henn, C., Ostrensky, A. & Pie, M. R. (2021). Wanted not, wasted not: Searching for non-target taxa in environmental DNA metabarcoding by-catch. *bioRxiv*.

DADOS BIOGRÁFICOS



Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Paraná, mestrado em Ecologia pela Universidade Estadual de Campinas e doutorado em Ecologia, Comportamento e Evolução pela Boston University, EUA. É professor associado do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. Faz parte do núcleo permanente das Pós-Graduações em Ecologia e Conservação, Zoologia e Entomologia da UFPR. É membro do corpo editorial dos periódicos PeerJ e PLoS One e já possui 160 artigos científicos publicados em revistas nacionais e internacionais. Sua pesquisa envolve o uso de ferramentas moleculares para o estudo de populações silvestres e a resolução problemas ambientais.

(2) RAÍSSA VITÓRIA VIEIRA LEITE
Possui graduação em Ciências Biológicas (2016) pela Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. É mestre em Zootecnia pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) (2020) e possui doutorado em andamento em Zootecnia pela mesma instituição.

(3) ANA PAULA DA SILVA BERTÃO
Ana Paula da Silva Bertão - Universidade Federal do Paraná - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. anabertaopaula@gmail.com. Possui graduação em Engenharia de Pesca (2014) na Universidade Federal de Rondônia em Presidente Médici-RO, fez Pós-graduação lato sensu em Gestão Ambiental e Desenvolvimento Sustentável pela Uninter (2016), Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em Toledo - PR (2018), e doutorado em andamento em Zootecnia pela Universidade Federal do Paraná.

(4) ALINE HORODESKY
Graduou-se em Ciências Biológicas (FAFI de União da Vitória-PR), fez mestrado e doutorado e pós-doutorado em Zoologia na Universidade Federal do Paraná. Traz a experiência de participação ativa como pesquisadora em projetos de PD&I, atuando diretamente no desenvolvimento de novas ferramentas para detecção, identificação e quantificação de organismos aquáticos, através de métodos moleculares. É uma das fundadoras da empresa ATGC Genética Ambiental, incubada na Universidade Federal do Paraná e que vem crescendo com o propósito de desenvolver soluções e métodos com grande potencial para inserção no mercado na forma de serviços técnicos especializados para a resolução de problemas ambientais.

(5) GIORGI DAL PONT
Possui graduação em Zootecnia (UFPR, 2010) e Mestrado em Ciências Veterinárias (UFPR, 2012) e Doutorado em Zootecnia (UFPR, 2018). Atua nas áreas de meio ambiente com ênfase em avaliação de impactos e biomonitoramento ambiental, ecotoxicologia aquática e ecologia molecular. Também atua na área de zootecnia com ênfase em produção, fisiologia do estresse, comportamento e bem-estar de organismos aquáticos de interesse comercial. Atualmente é pós-doutorando no programa de Pós-Graduação em Zootecnia (UFPR), contribui na condução de projetos de pesquisa no Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais - GIA-UFPR e coordena o laboratório de genética na empresa ATGC Genética Ambiental Ltda.

(6) ANDRÉ OLIVOTTO AGOSTINIS
André Olivotto Agostinis
Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) (2016) e mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia (2019) na mesma instituição. Atualmente é aluno de doutorado do PPG-Zoologia, com previsão de término em 2023.

(7) THIAGO LUIS ZANIN
Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade Federal do Paraná, mestrado em Engenharia Química e especialização em Engenharia de Segurança do Trabalho, em Gestão Ambiental e Sustentabilidade e em Gestão de Projetos. É engenheiro químico da Companhia Paranaense de Energia – Copel, atuando na área de engenharia de manutenção, com ênfase na modernização de usinas térmicas, gestão de bifenilas policloradas, tratamentos e monitoramento de água e efluentes, monitoramento e controle de espécies invasoras de corpos hídricos (Mexilhão Dourado) e implantação e manutenção de sistemas de gestão. Tem experiência na área de Meio Ambiente (Resíduos sólidos, efluentes líquido, emissões atmosféricas, licenciamento ambiental).

(8) OTTO SAMUEL MÄDER NETTO
 Possui graduação em Eng Química pela PUCPR (2003) e mestrado em Eng e Ciência dos Materiais (PIPE - 2011) pela UFPR. Possui experiência na coordenação e negociação de projetos de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (P&DI) na área de meio ambiente, atuando nos seguintes temas: eDNA, desenvolvimento de marcadores moleculares, identificação, monitoramento e controle de espécies invasoras, bioincrustação e controles químicos em sistemas industriais, manejo de fauna e flora, reflorestamento de espécies nativas e corredores ecológicos. Gerente da unidade de controle de espécies invasivas - Atlantium Technologies no Brasil; Diretor financeiro / comercial da ATGC Genética Ambiental; CEO da Aliança Prestadora de Serviços.

(9) ANTONIO OSTRENSKY
 Graduiu-se em Oceanologia pela Fundação Universidade Federal do Rio Grande (1988), tem mestrado (1991) e doutorado (1997) em Zoologia pela UFPR. Atuou como consultor do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento junto ao Programa Nacional para o Desenvolvimento da Aqüicultura. Trabalhou como consultor para o Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD) e atualmente desenvolve trabalhos de assessoria técnica para a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO). Desde 1997 é professor do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná. Coordenou projetos de P&D junto ao setor elétrico e ao de Petróleo e Gás.