



**GRUPO DE ESTUDO DE DESEMPENHO AMBIENTAL DE SISTEMAS ELÉTRICOS - GMA**

**EFEITOS DE VARIÁVEIS ABIÓTICAS SOBRE O PROCESSO DE DEGRADAÇÃO DE MOLÉCULAS DE DNA  
EM AMBIENTE LÍMNICO**

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

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar, os efeitos do tempo e da profundidade sobre o processo de degradação de moléculas de DNA de *Limnoperna fortunei*. Frascos de vidro contendo extrato de DNA foram fixados em cordas-guias, e posicionados em oito profundidades (0; 0,30; 0,60; 1,0; 1,5; 3,0; 4,3; 7,0 e 10,0 m) em um reservatório. Os frascos foram retirados 24, 72, 168 e 264 h após o início do experimento e as amostras foram analisadas. As concentrações diminuíram exponencialmente nas primeiras 24 h. Após esse período a concentração de DNA se estabilizou, mantendo-se aproximadamente constante até o final do experimento.

**PALAVRAS-CHAVE**

Coleta de amostras, Espécies invasoras, Profundidade, Luminosidade

**1. INTRODUÇÃO**

Nos últimos anos, a rápida expansão das técnicas genéticas moleculares, baseadas no uso de marcadores moleculares e de tecnologias associadas à reação em cadeia da polimerase (PCR), tem revolucionado diversas áreas da ciência e contribuído no conhecimento sobre identificação, detecção e monitoramento da biodiversidade em ambientes límnicos [1-4].

Um dos caminhos que tem sido utilizado, cada vez mais, envolve a identificação ou detecção de espécies a partir de técnicas associadas ao DNA ambiental (eDNA) [5, 6]. O eDNA é liberado pelos organismos no ambiente através de diversas formas, como células, fezes, escamas, muco, pele, gametas sexuais, entre outros [7]. Depois que esse material genômico é liberado no ambiente, seus fragmentos podem persistir na água por dias ou até semanas [8], dependendo das condições ambientais a que as moléculas são expostas [9, 10]. Assim, vestígios desse eDNA em ambientes aquáticos podem ser coletados através de amostras de água e identificados e quantificados, após um processo que envolve a filtração [11-13], preservação [14], extração e análise do DNA contido nas amostras por PCR [11, 15].

Tais técnicas moleculares têm sido cada vez mais amplamente aplicadas na avaliação e no monitoramento de espécies invasoras incrustantes, que causam impactos operacionais e econômicos em sistemas de geração de energia [17-23]. Atualmente, é possível não apenas detectar a presença dessa espécie em determinadas regiões ou reservatórios, como também avaliar sua biomassa relativa [24, 25]. Tal detecção abre, por sua vez, novas e mais eficientes possibilidades de combate e identificação precoce dos organismos invasores incrustantes em reservatórios e, de forma mais específica, em sistemas hidráulicos de usinas hidrelétricas (UHE) [26].

No entanto, para que a análise e interpretação dos resultados possam ser fidedignas dos processos ambientais associados, é preciso que se conheçam adequadamente os fatores que determinam a degradação do DNA no ambiente [13, 14]. A molécula de DNA é muito instável e se degrada facilmente quando exposta a fatores abióticos como temperaturas altas [16, 27, 28], radiação ultravioleta [29, 30] e pH ácidos [28, 31]. Amostras submetidas a fatores que acelerem as taxas de degradação podem comprometer os resultados e inviabilizar o

próprio monitoramento ambiental, especialmente quando a espécie-alvo apresenta baixa densidade [32], como, por exemplo, aquelas consideradas raras, ameaçadas ou em processo inicial de bioinvasão em um determinado ambiente.

Como qualquer método científico utilizado no monitoramento ambiental, a confiabilidade das técnicas de eDNA requerem uma compreensão estrita dos fatores que facilitam ou que prejudicam a detecção das espécies [8]. Diante disso, os pesquisadores têm se dedicado ao aperfeiçoamento contínuo das técnicas genéticas moleculares para o estudo de espécies tanto em ambientes límnicos [6, 10, 33], quanto marinhos [28, 34]. Mas, uma das áreas sabidamente carentes de informações é a que envolve a persistência e a integridade da molécula de DNA expostas a fatores abióticos *in situ* ou em ambientes não totalmente controlados, como sugerido por Pilliod, Goldberg [5], Tsuji, Iguchi [27], Wilcox, McKelvey [35], Jo, Fukuoka [36]. Como destacado por Sansom and Sassoubre [37], o uso desses sistemas, como em reservatórios fornece uma ferramenta de biomonitoramento mais realista quando comparado com ensaios em ambientes e condições totalmente controlados. Este estudo é parte integrante do projeto PD-06491-0383/2015, executado pela Universidade Federal do Paraná e Aliança Prestadora de Serviços Ltda e financiado pela COPEL Geração e Transmissão SA e tem como objetivo avaliar os efeitos do tempo e da profundidade sobre o processo de degradação e persistência de DNA em amostras contendo extratos de DNA de *Limnoperna fortunei* em ambiente límnic.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 1.1 Extração de DNA a partir de tecidos de *Limnoperna fortunei*

Amostras de tecidos de *L. fortunei*, obtidas de indivíduos coletados no reservatório da Usina Governador José Richa e mantidos em condições laboratoriais [temperatura ( $25,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e oxigenação ( $6,5 \pm 1,5\text{ mg/O}_2\text{/L}$ ) controlados], foram utilizadas para a obtenção de extratos de DNA. Para isso, as amostras foram digeridas em solução tampão contendo enzima proteinase K; e purificadas, utilizando-se beads magnéticas (microesferas envolvidas por magnetita e carboxila), que se ligam ao DNA (ligação carboxila – DNA) pelo processo de Imobilização Reversível de Fase Sólida (SPRI). Após este procedimento, os extratos foram quantificados utilizando-se o kit fluorométrico Broad Range (BR) e leitura em fluorômetro Qubit® 4.0 (Thermo Fisher Scientific®, Brasil). A qualidade dos fragmentos de DNA presentes nas amostras foi analisada por eletroforese em gel de agarose a 0,6%. O resultado foi visualizado sob radiação ultravioleta no E-gel imager (UV Light base, Thermo Fisher Scientific). Os extratos que apresentaram boa qualidade, com ausência de arrasto vertical no gel, foram quantificados em Rotor - Gene Q (Qiagen). Em seguida, os extratos foram adicionados em um único frasco e submetidos à diluição com água ultrapura, constituindo assim a solução-trabalho. A concentração de DNA (ng/L) presente na solução obtida foi então quantificada através da PCR quantitativa (qPCR), a partir do uso de sondas de hidrólise (TaqMan), com o auxílio de um Rotor - Gene Q (Qiagen, Alemanha).

### 1.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado no reservatório da Usina Hidrelétrica Governador Pedro Viriato Parigot de Souza, localizado no município de Campina Grande do Sul, estado do Paraná, Brasil. O aparato experimental consistiu em uma corda-guia (de nylon, com espessura de 8 mm e comprimento de 12 m), cujas extremidades foram presas a uma boia e a um lastro. O objetivo foi manter a corda-guia na posição vertical na coluna d'água. Ao longo da corda foram fixados, utilizando-se abraçadeiras plásticas, conjuntos de tubos estéreis de vidro de 2,0 mL, com tampas crimpadas. Cada conjunto, montado em triplicata, consistiu em um tubo envolto em fita isolante (tratamento opaco) e outro sem a fita (tratamento transparente), distribuídos a 0 (na interface ar/água); 0,3; 0,6; 1,5; 3,0; 4,3; 7,0 e 10,0 m de profundidade. Em um momento imediatamente anterior ao início do experimento, foram injetados nos frascos 2 mL da solução-trabalho contendo DNA de *L. fortunei*. (0,9 mL de extrato e 698,2 de H<sub>2</sub>O ultrapura). Para avaliar o efeito da incidência luminosa, em cada profundidade foram fixados tubos transparentes (que permitiam a passagem da luz) e tubos previamente envoltos em fita opaca (que impediam totalmente a passagem da luz). Doze aparatos experimentais foram posicionados no reservatório e mantidos submersos por 24, 72, 168 e 264 h. Ao final de cada período, os aparatos eram removidos do reservatório. As amostras coletadas foram transportadas em caixa de poliestireno contendo gelo. Adicionalmente, frascos-controle foram utilizados e monitorados durante o transporte das amostras, para entender se esse processo causaria degradação, além de amostras para o controle inicial, que foram acondicionadas e congeladas antes de irem para campo, para que a concentração inicial (T0) do DNA nas amostras fosse conhecida, estas ficaram acondicionadas em freezer a -20 °C, até o momento das análises.

*Dataloggers* (HOBO®, USA) foram utilizados para o registro contínuo da temperatura da água e da intensidade luminosa que incidia em cada profundidade e também na superfície do reservatório (a partir de *dataloggers* fixados diretamente no flutuador), assim como no interior das caixas térmicas utilizadas durante o transporte das amostras. A transparência da água foi mensurada uma vez, a cada coleta nos períodos de 24, 72, 168 e 264 h utilizando disco de Secchi. Para análise da turbidez, amostras de água foram coletadas nas mesmas profundidades experimentais, utilizando-se uma garrafa de Van Dorn. A turbidez foi mensurada uma vez a cada coleta nos períodos de 24, 72, 168 e 264 h com o auxílio de um turbidímetro (AT 2K, Alfakit, Brasil). Em laboratório, as amostras foram fracionadas e congeladas (-20 °C), para posterior quantificação da concentração de DNA por qPCR. O ensaio de quantificação foi realizado em um volume final de 10 µL [QuantiNova Probe PCR MasterMix®

1X; primers (específicos para *L. fortunei*); sonda de qPCR; BSA (Bovin serum albumin); água ultrapura e amostra] utilizando-se um Rotor-Gene Q (Qiagen®, Alemanha).

### 1.3 Análise dos dados

A normalidade e homogeneidade das variâncias dos dados de concentração do DNA, temperatura, tempo, profundidade, luminosidade, transparência e turbidez foram analisadas pelos testes de Levene e Cochran e a homocedasticidade foi analisada pelos resíduos da variância. A análise de Kruskal-Wallis foi utilizada para determinar as diferenças significativas entre as variáveis testadas, sempre com nível de confiança de 95%. As análises foram realizadas através do software Statistica 10.0 (TIBCO).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1.4 Condições ambientais

Os parâmetros avaliados para caracterizar o ambiente estudado incluíram a transparência (na superfície), turbidez, luminosidade e a temperatura da água (nas diferentes profundidades). Não há evidências de que os dois primeiros tenham interferido significativamente nas taxas de degradação do DNA presente nas amostras. A transparência da água por ser metodologicamente aplicada à camada superficial do corpo hídrico, apresentou valores homogêneos. A turbidez, por sua vez, foi considerada baixa, atingindo valores mais altos entre 1,5 a 4,3 m, com média de 4,5 NTU, caracterizando o ambiente com uma baixa presença de partículas coloidais ou em suspensão, como descrito por ESTEVES [38].

A temperatura manteve-se relativamente estável na camada superficial, na casa dos 22 °C. A partir de 7 m houve uma queda significativa, chegando a uma média de 16,4 °C (ver Figura 1 A). Em geral, as variações de temperatura em ambientes aquáticos tropicais não são expressivas [39]. As amplitudes costumam ser definidas pelo regime climático natural [40-42], além de estarem associadas à hidrodinâmica do ambiente [43]. Os valores médios de luminosidade chegaram a 13.283 lux (31,8%), na profundidade 0 m, e estabilizando em cerca de 694,5 lux (1,7%) a partir de 4,3 m (ver Figura 1 B). A curva registrada teve formato exponencial negativo, característica ligada à capacidade do meio em atenuar a radiação subaquática [38, 41].

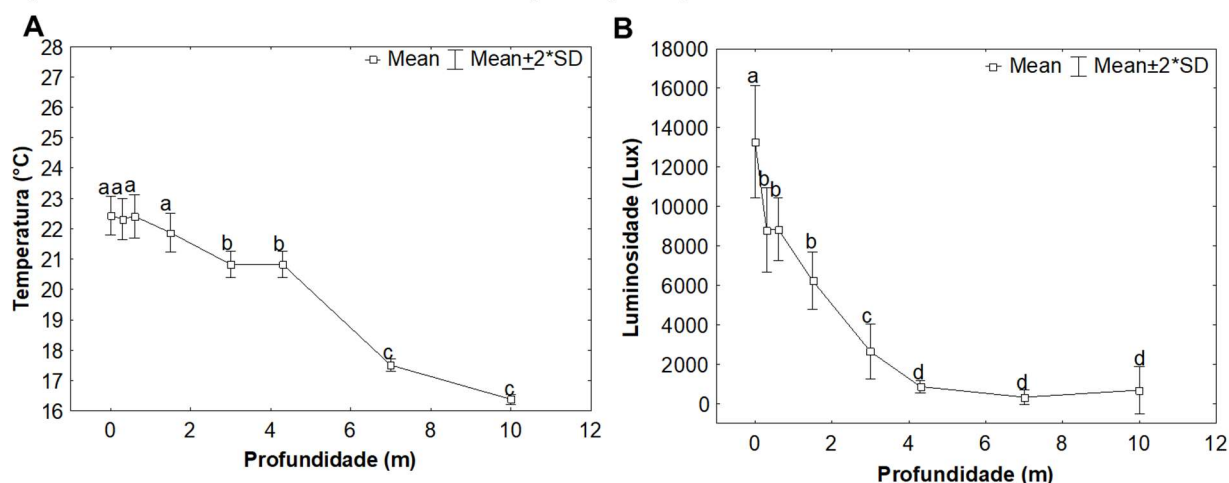


Figura 1 – (A) e (B) Valores médios de temperatura e luminosidade referente ao experimento executado no reservatório da UHE Governador Pedro Viriato Parigot de Souza utilizando amostras de extrato de DNA de *Limnoperna fortunei*.

### 1.5 Concentração de DNA

As concentrações de DNA de *L. fortunei* diminuíram exponencialmente nas amostras expostas à variação temporal e a profundidade da água (ver Figura 2 A), sendo que a maior redução (70,9%) foi registrada nas primeiras 24 h. Ainda assim, foi possível detectar a presença de DNA (em concentração de 0,15 ng/μl), após 264 h. Nossos resultados corroboram parcialmente aos obtidos em estudos que avaliaram a influência da temperatura e luminosidade no processo de degradação de DNA de peixes (*Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys nobilis* e *Lithobates catesbeianus*) em sistemas de mesossomos [16, 44, 45]. Tais estudos registraram taxas de degradação de DNA de até 90% após 72 h. Já Pilliod, Goldberg [29], trabalhando com o DNA de um anfíbio (*Dicamptodon aterrimus*) realizado em ambiente natural, detectaram uma taxa de degradação de 60%, após um período de 24 h.

Um fator importante em nosso estudo foi a profundidade da água em que as amostras foram expostas. Mas os resultados mostraram uma pequena variação da concentração de DNA entre as profundidades monitoradas. Quando o fator profundidade é analisado individualmente, observa-se uma estabilização da concentração média de

DNA entre 0,3 e 7,0 m (ver Figura 2 C), com menores concentrações sendo registradas na superfície (0 m) e no fundo (10 m). Não há uma explicação evidente para a maior degradação do DNA nas amostras posicionadas à 10 m. No entanto, já era esperado o resultado em relação à superfície, visto que em águas superficiais as moléculas de DNA ficam mais expostas às temperaturas mais altas e à maior incidência de raios UV [29, 46]. A radiação solar apresenta uma reconhecida influência sobre a degradação do DNA [47, 48]. Enquanto a temperatura, além de atuar diretamente sobre o DNA, pode estimular o metabolismo microbiano [16]. Isso pode acontecer mesmo em amostras que apresentem pequenas quantidades bacterianas, pois as bactérias são outro fator reconhecidamente relevantes no processo de degradação do DNA [49-52]. Através da análise de regressão múltipla (ver Figura 2 B), o que observamos, porém, foi que os fatores profundidade, tempo, temperatura e luminosidade apresentaram praticamente o mesmo grau de influência sobre as taxas de degradação de DNA nas amostras analisadas.

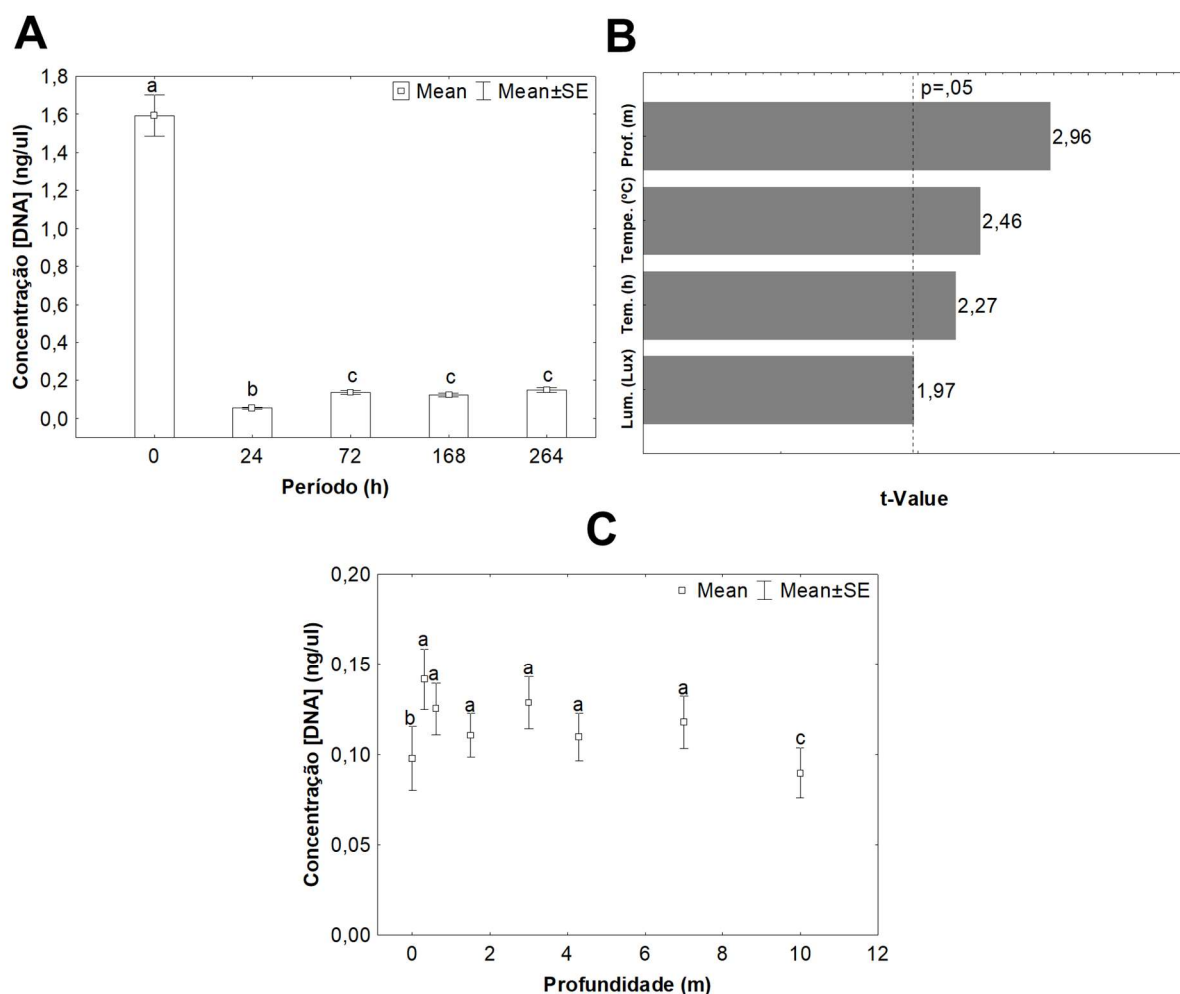


Figura 2 – (A) Concentração (valores médios e erro padrão) de DNA de *Limnoperna fortunei* em amostras experimentais analisadas ao final de 264 h de experimentação. (B) Resultado das análises de regressão múltipla comparando os efeitos de quatro fatores (temperatura, período, profundidade e luminosidade) sobre as concentrações de extrato de DNA de *L. fortunei*; (C) Concentração (valores médios e erro padrão) de DNA nas diferentes profundidades amostrais ao final de 264 h de experimentação.

#### 4 CONCLUSÕES

Este estudo mostrou que amostras contendo extrato de DNA de *Limnoperna fortunei* se degradam rapidamente nas primeiras 24 h após sua liberação. Isso indica que, em estudos envolvendo eDNA é fundamental que as amostras sejam filtradas e preservadas o mais rapidamente possível, preferencialmente ainda em campo. Outro fator importante observado foi em relação à profundidade, o DNA apresenta maior degradação quando estão diretamente submetidos à radiação solar ultravioleta. Assim, recomenda-se que as amostras para análise de eDNA sejam coletadas a partir de 0,30 m de profundidade, o que possibilita a obtenção de amostras naturalmente mais preservadas garantindo maior qualidade e confiabilidade aos resultados obtidos.

## 5 RERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pilgrim, E.M., et al., *Incorporation of DNA barcoding into a large-scale biomonitoring program: opportunities and pitfalls*. Journal of the North American Benthological Society, 2011. **30**(1): p. 217-231.
2. Zhou, X., et al., *Towards a comprehensive barcode library for arctic life-Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera of Churchill, Manitoba, Canada*. Frontiers in zoology, 2009. **6**(1): p. 1-9.
3. Ficetola, G.F., et al., *Species detection using environmental DNA from water samples*. Biology letters, 2008. **4**(4): p. 423-425.
4. Green, H.C. and K.G. Field, *Sensitive detection of sample interference in environmental qPCR*. Water research, 2012. **46**(10): p. 3251-3260.
5. Pilliod, D.S., et al., *Estimating occupancy and abundance of stream amphibians using environmental DNA from filtered water samples*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2013. **70**(8): p. 1123-1130.
6. Kasai, A., et al., *The effect of temperature on environmental DNA degradation of Japanese eel*. Fisheries Science, 2020: p. 1-7.
7. Barnes, M.A. and C.R. Turner, *The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics*. Conservation Genetics, 2016. **17**(1): p. 1-17.
8. Lodge, D.M., et al., *Conservation in a cup of water: estimating biodiversity and population abundance from environmental DNA*. Molecular ecology, 2012. **21**(11): p. 2555-2558.
9. Dejean, T., et al., *Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems*. PloS one, 2011. **6**(8): p. e23398.
10. Barnes, M.A., et al., *Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems*. Environmental science & technology, 2014. **48**(3): p. 1819-1827.
11. Goldberg, C.S., et al., *Molecular detection of vertebrates in stream water: a demonstration using Rocky Mountain tailed frogs and Idaho giant salamanders*. PloS one, 2011. **6**(7): p. e22746.
12. Thomsen, P.F., et al., *Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA*. Molecular ecology, 2012. **21**(11): p. 2565-2573.
13. Yamanaka, H. and T. Minamoto, *The use of environmental DNA of fishes as an efficient method of determining habitat connectivity*. Ecological Indicators, 2016. **62**: p. 147-153.
14. Jerde, C.L., et al., *"Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA*. Conservation Letters, 2011. **4**(2): p. 150-157.
15. Sanches, T.M. and A.D. Schreier, *Optimizing an eDNA protocol for estuarine environments: Balancing sensitivity, cost and time*. Plos one, 2020. **15**(5): p. e0233522.
16. Strickler, K.M., A.K. Fremier, and C.S. Goldberg, *Quantifying effects of UV-B, temperature, and pH on eDNA degradation in aquatic microcosms*. Biological Conservation, 2015. **183**: p. 85-92.
17. Boltovskoy, D., et al., *Dispersion and Ecological Impact of the Invasive Freshwater Bivalve Limnoperna fortunei in the Río de la Plata Watershed and Beyond*. Springer, 2006.
18. Karatayev, A.Y., et al., *The invasive bivalves Dreissena polymorpha and Limnoperna fortunei: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts*. Journal of Shellfish Research, 2007. **26**(1): p. 205-213.
19. Boltovskoy, D. and N. Correa, *Ecosystem impacts of the invasive bivalve Limnoperna fortunei (golden mussel) in South America*. Springer, 2015.
20. Pie, M.R., et al., *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, 2006. **72**(2): p. 218-219.
21. Nakano, D. and D.L. Strayer, *Biofouling animals in fresh water: biology, impacts, and ecosystem engineering*. Frontiers in Ecology and the Environment, 2014. **12**(3): p. 167-175.
22. Pucherelli, S.F., et al., *Range expansion of the invasive hydroid, Cordylophora caspia (Pallas, 1771), in Colorado River reservoirs*. BioInvasions Records, 2016. **5**(3): p. 133-137.
23. Tokumon, R. and D. Boltovskoy *Effects of the Invasive Freshwater Mussel Limnoperna fortunei on Sediment Properties and Accumulation Rates*. Wiley Online Library, 2018.
24. Doi, H., et al., *Detection of an endangered aquatic heteropteran using environmental DNA in a wetland ecosystem*. Royal Society Open Science, 2017. **4**(7): p. 170568.
25. Takahara, T., et al., *Estimation of fish biomass using environmental DNA*. PloS one, 2012. **7**(4): p. e35868.
26. Pie, M.R., et al., *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, 2017. **89**(2): p. 1041-1045.
27. Tsuji, S., et al., *Real-time multiplex PCR for simultaneous detection of multiple species from environmental DNA: an application on two Japanese medaka species*. Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 1-8.
28. Collins, R.A., et al., *Persistence of environmental DNA in marine systems*. Communications Biology, 2018. **1**(1): p. 1-11.
29. Pilliod, D.S., et al., *Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian*. Molecular Ecology Resources, 2014. **14**(1): p. 109-116.

30. Machler, E., M. Osathanunkul, and F. Altermatt, *Shedding light on eDNA: neither natural levels of UV radiation nor the presence of a filter feeder affect eDNA-based detection of aquatic organisms*. PLoS One, 2018. **13**(4): p. e0195529-e0195529.
31. Torti, A., B.B. Jørgensen, and M.A. Lever, *Preservation of microbial DNA in marine sediments: insights from extracellular DNA pools*. Environmental microbiology, 2018. **20**(12): p. 4526-4542.
32. Bailey, L.L., et al., *Sampling design trade-offs in occupancy studies with imperfect detection: examples and software*. Ecological Applications, 2007. **17**(1): p. 281-290.
33. Dejean, T., et al., *Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding: the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus**. Journal of applied ecology, 2012. **49**(4): p. 953-959.
34. Sassoubre, L.M., et al., *Quantification of environmental DNA (eDNA) shedding and decay rates for three marine fish*. Environmental science & technology, 2016. **50**(19): p. 10456-10464.
35. Wilcox, T.M., et al., *Parallel, targeted analysis of environmental samples via high-throughput quantitative PCR*. Environmental DNA, 2020. **2**(4): p. 544-553.
36. Jo, T., et al., *Multiplex real-time PCR enables the simultaneous detection of environmental DNA from freshwater fishes: a case study of three exotic and three threatened native fishes in Japan*. Biological Invasions, 2020. **22**(2): p. 455-471.
37. Sansom, B.J. and L.M. Sassoubre, *Environmental DNA (eDNA) shedding and decay rates to model freshwater mussel eDNA transport in a river*. Environmental Science & Technology, 2017. **51**(24): p. 14244-14253.
38. ESTEVES, F.d.A., *Fundamentos de Limnologia*. 3ª edição. Interciência, Rio de Janeiro, 2011.
39. Maia-Barbosa, P., R. Peixoto, and A. Guimarães, *Zooplankton in littoral waters of a tropical lake: a revisited biodiversity*. Brazilian Journal of Biology, 2008. **68**: p. 1069-1078.
40. Henry, R. and M. Nogueira, *A Represa de Jurumirim (São Paulo): Primeira síntese sobre o conhecimento limnológico e uma proposta preliminar de manejo ambiental*. Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais, 1999: p. 651-685.
41. Nogueira, M.G., G. Perbiche-Neves, and D.A. Naliato, *Limnology of two contrasting hydroelectric reservoirs (storage and run-of-river) in southeast Brazil*. HS BOROUGHENI, org. Hydropower: practice and application. Rijeka: INTECH, 2012: p. 167-184.
42. Abe, D., et al., *Monitoramento da qualidade ecológica das águas interiores superficiais e do potencial tráfego em escala continental no Brasil com o uso de hidroavião*. TUNDISI, J.G., MATSUMURATUNDISI, T. and SIDAGIS-GALLI, C. Eutrofização na América do Sul: causas, consequências e tecnologias de gerenciamento e controle. São Carlos: IIEE, 2006: p. 225-239.
43. Frago Jr, C.R., T.F. Ferreira, and D. da Motta Marques, *Modelagem ecológica em ecossistemas aquáticos*. 2009: Oficina de textos.
44. Eichmiller, J.J., S.a.E. Best, and P.W. Sorensen, *Effects of temperature and trophic state on degradation of environmental DNA in lake water*. Environmental science & technology, 2016. **50**(4): p. 1859-1867.
45. Lance, R.F., et al., *Experimental observations on the decay of environmental DNA from bighead and silver carps*. Management of Biological Invasions, 2017. **8**(3): p. 343.
46. Hahn, M.B., P.M. Dietrich, and J. Radnik, *In situ monitoring of the influence of water on DNA radiation damage by near-ambient pressure X-ray photoelectron spectroscopy*. Communications Chemistry, 2021. **4**(1): p. 1-8.
47. Ravanat, J.-L., T. Douki, and J. Cadet, *Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2001. **63**(1-3): p. 88-102.
48. Häder, D.-P. and R.P. Sinha, *Solar ultraviolet radiation-induced DNA damage in aquatic organisms: potential environmental impact*. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2005. **571**(1-2): p. 221-233.
49. Hofreiter, M., et al., *ancient DNA*. Nature Reviews Genetics, 2001. **2**(5): p. 353-359.
50. Zhu, B., *Degradation of plasmid and plant DNA in water microcosms monitored by natural transformation and real-time polymerase chain reaction (PCR)*. Water research, 2006. **40**(17): p. 3231-3238.
51. Corinaldesi, C., F. Beolchini, and A. Dell'Anno, *Damage and degradation rates of extracellular DNA in marine sediments: implications for the preservation of gene sequences*. Molecular Ecology, 2008. **17**(17): p. 3939-3951.
52. Fu, X.H., et al., *Persistence and renaturation efficiency of thermally treated waste recombinant DNA in defined aquatic microcosms*. Journal of environmental science and health, part a, 2012. **47**(13): p. 1975-1983.



## DADOS BIOGRÁFICOS

(1)



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.

(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)

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.

(4)

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.

(5)

PAULA

VALESKA

STICA

Paula Valeska Stica - ATGC Genética Ambiental LTDA - paula.vska@gmail.com. Possui graduação em Ciências Biológicas na Universidade Federal do Paraná. Trabalha como técnica no laboratório de biologia molecular do Grupo Integrado de Aquicultura e estudos ambientais.

(6)

JANAÍNA

DE

PAULA

DE

OLIVEIRA

Janaína de Paula de Oliveira - Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Discente do Curso de Medicina Veterinária.janainadepaula.zoo@gmail.com. Possui graduação em Zootecnia (2009) e Mestrado em Fisiologia (2012) na Universidade Federal do Paraná e atualmente discente do curso de Medicina Veterinária na UFPR. Participante do Projeto: "Monitoramento da biodiversidade de peixes no canal da piracema utilizando sequenciamento de DNA de segunda geração", como bolsista de Iniciação Científica (2021).

(7)

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.

(8)

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).

(9)

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.

(10) OSTRENSKY  
 ANTONIO  
 Graduou-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 Aquicultura. 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.

(11) PIE  
 MARCIO ROBERTO  
 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 de problemas ambientais.