



### **INDICAÇÃO № 5403/2022**

Indica a realização de consultas internas e externas, estudos e análises sobre a possibilidade de engendramento da Plataforma Municipal para o Adensamento dos conceitos de e-DNA / DNA Ambiental objetivando salvaguardar a nossa Biodiversidade / Ecossistemas para as presentes e futuras gerações.

Apresentamos, muito respeitosamente, ao Excelentíssimo Senhor Prefeito Municipal, a presente Indicação para que, em consonância aos demais órgãos desta Preclara Administração Pública, Secretarias, Coordenadorias e Gerências, merecedoras do nosso mais profundo respeito, se dignem na realização de consultas internas e externas, estudos e análises sobre a possibilidade de engendramento da Plataforma Municipal para o Adensamento dos conceitos de e-DNA / DNA Ambiental objetivando salvaguardar a nossa Biodiversidade – por meio de acordos de vontades, parcerias, convênios com demais entes federativos e ou instituições de ensino, pesquisa e extensão.

Como considerações, objetivando alçar Araraquara num novo paradigma ecológico-ambiental, à luz do desenvolvimento real verde e sustentável, rendendo homenagens ao Artigo 225 da Constituição Federal de 1988 (alicerçado nos princípios do Desenvolvimento Sustentável, da Prevenção, da Participação, do Princípio da Ubiquidade e da Responsabilidade Intergeracional Ambiental), propõe-se a Indicação em comento, sempre muito respeitosamente, para soerguer a realização de consultas internas e externas, estudos e análises sobre a possibilidade de engendramento da Plataforma Municipal para o Adensamento dos conceitos de e-DNA / DNA Ambiental objetivando salvaguardar a nossa Biodiversidade.

Inspiração: https://www.gov.br/mcti/pt-br/acompanhe-o-mcti/noticias/2022/09/mata-atlantica-tera-biodiversidade-mapeada-por-meio-de-estudo-de-dna-ambiental

Mata Atlântica terá biodiversidade mapeada por meio de estudo de DNA ambiental Técnica que envolve extração e sequenciamento genético dos rastros dos animais será aplicada pelo projeto Conexão Mata Atlântica

Publicado em 26/09/2022 16h13 Atualizado em 21/10/2022 14h21

Os animais deixam rastros. Além das pegadas e fezes, há inúmeros outros elementos, como minúsculos pedaços de pele, pelos, excreções. As células contidas nesse material carregam em seu interior informação genética que funcionam como códigos de barra e permitem a



identificação de espécies. Justamente essas informações são o objeto do 'Levantamento intensivo da biodiversidade do corredor sudeste da Mata Atlântica inferidos por sequenciamento de DNA Ambiental (eDNA)' que será executado pelo projeto Conexão Mata Atlântica, coordenado pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI).

A extração e o sequenciamento de DNA Ambiental serão empregados para mapear, na água e no solo, a ocorrência atual ou pretérita de organismos no bioma Mata Atlântica. Os fragmentos de material biológico podem ser facilmente extraídos sem o isolamento direto do organismo alvo e, em seguida, sequenciados e comparados com grandes bases de dados de códigos de barra de DNA, permitindo inferir quais espécies passaram por ali.

O estudo pretende melhorar o monitoramento de espécies da biota na região de intervenção do projeto, que envolve a Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul, e avaliar como elas respondem às intervenções.

Atualmente, as áreas de amostragem estão em processo de seleção. O levantamento será realizado em propriedades selecionadas dentro do escopo de intervenção do Projeto Conexão Mata Atlântica, que envolve mais de 22 mil km² e está localizado no corredor sudeste do bioma, que engloba os estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. Também serão selecionadas localidades para 'controle' em áreas sem intervenção ou unidades de conservação próximas.

A previsão é de que os dados de campo sejam obtidos até outubro. A extração de DNA das amostras de água e solo deve ser realizada em novembro.

Os dados de fragmentos de sequência de eDNA serão disponibilizados no <u>Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira</u> (SIBBr). Pequenos traços de e-DNA (ATGC, 50-200 pares de bases) funcionam como códigos de barras de DNA e, quando sequenciados, permitem a identificação das espécies.

Levantamento rápido e pouco invasivo – A estimativa dos responsáveis pelo projeto é de que pouco mais de mil amostras de água e solo sejam coletadas para a filtragem do DNA ambiental. Os organismos alvo do sequenciamento serão vertebrados (peixes, aves, mamíferos e anfibios) e invertebrados (artrópodes).

O levantamento por meio do eDNA apresenta vantagens em relação aos inventários tradicionais, por ser mais rápido e menos invasivo. A caracterização do número e da identidade de espécies pelos métodos tradicionais demandam expedições científicas que requerem investimento de tempo e presença de pesquisadores altamente especializados no conhecimento taxonômico dos vários grupos da biota, envolvendo captura ou coleta de material, curadoria e depósito em coleções biológicas.



O mapeamento da biodiversidade por meio do sequenciamento de DNA Ambiental é uma tecnologia recente e efetiva na área de inventários biológicos. A técnica é utilizada para avaliar as atividades de regeneração de áreas. O investimento fica concentrando em reagentes para a extração e em equipamentos. De acordo com os especialistas, o nível de detalhamento deste tipo de estudo é complementar aos métodos tradicionais de monitoramento da diversidade e tem boa resolução taxonômica, sendo eficaz para a avaliação rápida dos efeitos da modificação do habitat sobre a biodiversidade em regiões tropicais.

Com os dados gerados pelo estudo, devem ser investigados os aspectos de recuperação de ecossistemas e reconectar fragmentos florestais regenerados por meio de cálculos das métricas de diversidade, bem como de estimativas de riqueza e composição de comunidades. As informações obtidas serão correlacionadas com variáveis dos locais de amostragem e oportunamente comparadas entre localidades.

A base de dados da ocorrência de espécies será disponibilizada no SIBBr e resultará em listas para a região, que podem indicar quais espécies são invasoras, bioindicadoras ou ameaçadas e endêmicas. As informações também auxiliarão na compreensão da existência de interações ecológicas e serviços ecossistêmicos representando informações críticas que ajudam no norteamento da implementação de políticas públicas.

Projeto Conexão Mata Atlântica - O Projeto Conexão Mata Atlântica (Recuperação de Serviços de Clima e Biodiversidade no Corredor Sudeste da Mata Atlântica Brasileira) tem o objetivo de aumentar a proteção da biodiversidade e da água e combater mudanças climáticas. Para isso, promove atividades de conservação da vegetação nativa, adoção de sistemas mais produtivos e melhoramento da gestão de unidades de conservação.

A iniciativa do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), em conjunto com órgãos ambientais e de pesquisa dos governos dos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, conta com apoio financeiro do Fundo Global para o Meio Ambiente (GEF) e do Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID). A Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos (Finatec) é o órgão executor dos recursos.

Inspiração: Unesco lança projeto inédito com DNA ambiental para estudar espécies marinhas

### 19 Outubro 2021 Clima e Meio Ambiente

Cientistas vão recolher material genético de secreções, células e dejetos de peixes de locais considerados Patrimônios Mundiais; trabalho deve durar dois anos e tem a meta de ajudar a medir a vulnerabilidade da biodiversidade marítima.



# CÂMARA MUNICIPAL DE ARARAQUARA

A Organização das Nações Unidas para Educação, Ciência e Cultura, Unesco, está lançando um projeto que vai utilizar DNA ambiental, conhecido como eDNA, para entender a riqueza da biodiversidade de locais marinhos classificados como Patrimônio Mundial.

A agência considera a iniciativa ambiciosa, envolvendo cientistas e residentes locais, que vão coletar dejetos, secreções e células de peixes de vários locais.

### Impactos da mudança climática

A Unesco explica que o método eDNA envolve a coleta e a análise de amostras do solo, da água e do ar e não de um organismo individual. O projeto deve durar dois anos, com a meta de medir a vulnerabilidade da biodiversidade marítima à mudança climática.

Outro objetivo é verificar como os impactos da mudança climática afetam os padrões migratórios da vida marinha. O projeto é lançado junto com a Década das Nações Unidas da Ciência Oceânica para o Desenvolvimento Sustentável, que vai de 2021 até 2030.

(...)

Paradigma: <a href="https://gia.org.br/portal/edna-um-breve-historico-da-evolucao-molecular-ambiental/">https://gia.org.br/portal/edna-um-breve-historico-da-evolucao-molecular-ambiental/</a>

eDNA: UM BREVE HISTÓRICO DA EVOLUÇÃO MOLECULAR AMBIENTAL 05/07/2021

in Divulgação Científica

#### Por: Aline Horodesky

O estudo de DNA ambiental (eDNA), está baseado na detecção de moléculas de DNA produzidas como subproduto das atividades de uma determinada espécie, como aquelas encontradas em fezes, muco, saliva ou outra fonte de células mortas. Métodos de laboratório podem ser empregados para detectar e quantificar estas moléculas, levando a diversos tipos de aplicações. Uma potencial extensão da abordagem de eDNA envolve a detecção de mais de uma espécie simultaneamente.

(...)

A primeira referência ao DNA ambiental remonta a 1987 e diz respeito a um método para extração de DNA microbiano de sedimentos. No entanto, o termo realmente surgiu no início dos anos 2000, principalmente usado pela comunidade de microbiologistas. DNA ambiental refere-se ao DNA que pode ser extraído de amostras ambientais (como solo, água ou ar), sem primeiro isolar qualquer organismo-alvo. É caracterizado por uma mistura complexa de DNA genômico de muitos organismos diferentes e por possível degradação (isto é, por moléculas de DNA que são cortadas em pequenos fragmentos). O eDNA total contém DNA celular originado



de células ou organismos vivos e DNA extracelular resultante da morte celular natural e subsequente destruição da estrutura celular.

Microbiologistas têm analisado o eDNA do solo ou da água há mais de uma década, o que lhes deu acesso à genética de microrganismos não cultiváveis. Eles tinham três objetivos principais: (i) identificar táxons microbianos presentes em amostras ambientais; (ii) identificar as funções bioquímicas mais importantes por meio da análise de genes codificadores; e (iii) montar genomas inteiros de microrganismos não cultiváveis. A análise do eDNA por microbiologistas foi denominada metagenômica, que apenas se referia à montagem e análises funcionais (objetivos ii e iii) do eDNA de dados de sequências, mas não identificações baseadas na amplificação e sequenciação de genes marcadores como o 16S rDNA (objetivo i).

Contudo, a utilização do eDNA passou a se disseminar principalmente a partir de 2011, com aprimoramentos constantes significativos a cada ano. A identificação de táxons baseada em DNA foi estendida para a invertebrados da meiofauna (por exemplo, nematóides) e para microrganismos, usando uma abordagem de PCR/clonagem ou PCR/sequenciamento de segunda geração, isso já no início dos anos 2000, mas com o único objetivo de identificar os diferentes organismos que contribuíam com o DNA de uma determinada amostra.

Nos últimos anos, avanços significativos estão sendo alcançados nesta área de pesquisa. A coleta de amostras de eDNA realizadas em parques de safári, jardins zoológicos e fazendas, demonstraram que análises do DNA do solo podem ser usadas para registrar a presença de grandes mamíferos. Inventários de minhocas feitos através de métodos tradicionais consomem muito tempo e são muito complexos. Mas, uma tecnologia desenvolvida nos Alpes franceses e usando eDNA já permite que se trabalhe com comunidades de minhocas em qualquer parte do mundo.

Claramente, o surgimento de eDNA em estudos ecológicos mais amplos está hoje ligado à disponibilidade de sequenciadores de próxima geração (NGS), que permitem contornar a etapa cara e demorada de clonagem e sequenciamento de produtos de PCR usando o sequenciamento Sanger. Não há dúvidas de que, a partir de agora, as análises de eDNA serão integradas a mais e mais estudos ecológicos. O sequenciamento de DNA, outrora uma técnica cara e demorada, tem se tornado cada vez mais rápido, sensível, e capaz de produzir quantidades cada vez maiores de dados genéticos. Por exemplo, um único equipamento de alta performance de sequenciamento de DNA (Illumina HiSeq 250) possui hoje a mesma capacidade de produção de dados que possuíam conjuntamente todos os centros de pesquisa no mundo em 2006, sendo atualmente capaz de gerar 1 trilhão de bases em uma única corrida. Estes avanços têm possibilitado oportunidades sem precedentes na detecção e monitoramento de espécies em ambientes silvestres

Uma potencial extensão da abordagem de eDNA envolve a detecção de mais de uma espécie simultaneamente. No futuro, espera-se que as abordagens baseadas em eDNA possam ser



# CÂMARA MUNICIPAL DE ARARAQUARA

utilizadas como marcador único para análises de espécies ou de comunidades, através de pesquisas de metagenômica, de ecossistemas inteiros, possibilitando a prevenção dos padrões de biodiversidade espaciais e temporais.

#### Referências consultadas

YU, D. W. et al. Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. Methods in Ecology and Evolution, v. 3, n. 4, p. 613-623, 2012.

FOOTE, A. D. et al. Investigating the Potential Use of Environmental DNA (eDNA) for Genetic Monitoring of Marine Mammals. PLOS ONE, v. 7, n. 8, p. e41781, 2012.

MINAMOTO, T. et al. Surveillance of fish species composition using environmental DNA. Limnology, v. 13, n. 2, p. 193-197, August 01 2012. ISSN 1439-863X.

MÄCHLER, E. et al. Utility of environmental DNA for monitoring rare and indicator macroinvertebrate species. Freshwater Science, v. 33, n. 4, p. 1174-1183, 2014.

NOAA Ocean Exploration. Environmental DNA (eDNA). ThayerMahan, Inc., Kraken Robotics and NOAA Office of Ocean Exploration and Research, 2021.

KELLY, R. P. et al. Using Environmental DNA to Census Marine Fishes in a Large Mesocosm. PLOS ONE, v. 9, n. 1, p. e86175, 2014.

TABERLET, P. et al. Environmental DNA. Molecular Ecology, v. 21, n. 8, p. 1789-1793, 2012/04/01 2012. ISSN 0962-1083.

BRADY, S. F. Construction of soil environmental DNA cosmid libraries and screening for clones that produce biologically active small molecules. Nature protocols, v. 2, n. 5, p. 1297, 2007.

ROBE, P. et al. Extraction of DNA from soil. European Journal of Soil Biology, v. 39, n. 4, p. 183-190, 2003.

DOPHEIDE, A. et al. Impacts of DNA extraction and PCR on DNA metabarcoding estimates of soil biodiversity. Methods in Ecology and Evolution, v. 10, n. 1, p. 120-133, 2019.

DEJEAN, T. et al. Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems. PLOS ONE, v. 6, n. 8, p. e23398, 2011

NICHOLS, R. V. et al. Browsed twig environmental DNA: diagnostic PCR to identify ungulate species. Molecular Ecology Resources, v. 12, n. 6, p. 983-989, 2012.



# CÂMARA MUNICIPAL DE ARARAQUARA

BARNES, M. A. et al. Environmental Conditions Influence eDNA Persistence in Aquatic Systems. Environmental Science & Technology, v. 48, n. 3, p. 1819-1827, 2014/02/04 2014.

DEINER, K.; ALTERMATT, F. Transport Distance of Invertebrate Environmental DNA in a Natural River. PLOS ONE, v. 9, n. 2, p. e88786, 2014.

PILLIOD, D. S. et al. Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian. Molecular Ecology Resources, v. 14, n. 1, p. 109-116, 2014.

WILCOX, T. M. et al. A blocking primer increases specificity in environmental DNA detection of bull trout (Salvelinus confluentus). Conservation Genetics Resources, v. 6, n. 2, p. 283-284, 2014.

BLAXTER, M. L. The promise of a DNA taxonomy. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, v. 359, n. 1444, p. 669-679, 2004.

BLAXTER, M. Molecular systematics: counting angels with DNA. Nature, v. 421, n. 6919, p. 122, 2003.

BLAXTER, M. et al. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 360, n. 1462, p. 1935-1943, 2005.

USHIO, M. et al. Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water. Molecular Ecology Resources, v. 17, n. 6, p. e63-e75, 2017.

NICHOLS, R. V. et al. Browsed twig environmental DNA: diagnostic PCR to identify ungulate species. Molecular Ecology Resources, v. 12, n. 6, p. 983-989, 2012

BOESSENKOOL, S. et al. Blocking human contaminant DNA during PCR allows amplification of rare mammal species from sedimentary ancient DNA. Molecular ecology, v. 21, n. 8, p. 1806-1815, 2012.

BIENERT, F. et al. Tracking earthworm communities from soil DNA. Molecular Ecology, v. 21, n. 8, p. 2017-2030, 2012.

KITSON, J. J. et al. Detecting host–parasitoid interactions in an invasive Lepidopteran using nested tagging DNA metabarcoding. Molecular ecology, v. 28, n. 2, p. 471-483, 2019.

RAGUPATHY, S. et al. Exploring DNA quantity and quality from raw materials to botanical extracts. Heliyon, v. 5, n. 6, p. e01935, 2019.



DARLING, J. A.; MAHON, A. R. From molecules to management: Adopting DNA-based methods for monitoring biological invasions in aquatic environments. v. 111, n. 7, p. 978-988, 2011.

THOMSEN, P. F. et al. Detection of a Diverse Marine Fish Fauna Using Environmental DNA from Seawater Samples. PLOS ONE, v. 7, n. 8, p. e41732, 2012.

YOCCOZ, N. G. The future of environmental DNA in ecology. Molecular Ecology, v. 21, n. 8, p. 2031-2038, 2012.

WILCOX, T. M. et al. Robust Detection of Rare Species Using Environmental DNA: The Importance of Primer Specificity. PLOS ONE, v. 8, n. 3, p. e59520, 2013.

TAKAHARA, T. et al. Estimation of Fish Biomass Using Environmental DNA. PLOS ONE, v. 7, n. 4, p. e35868, 2012.

Pugna, desse modo, pelo pedido de realização de consultas internas e externas, estudos e análises sobre a possibilidade de engendramento da Plataforma Municipal para o Adensamento dos conceitos de e-DNA / DNA Ambiental objetivando salvaguardar a nossa Biodiversidade / Ecossistemas.

Sala de Sessões "Plínio de Carvalho", 13 de dezembro de 2022.

JOÃO CLEMENTE