DNA AMBIENTAL (eDNA): UMA FERRAMENTA INOVADORA PARA O MONITORAMENTO DA QUALIDADE DA ÁGUA E A DETECÇÃO DE ORGANISMOS DE INTERESSE NO SANEAMENTO E MEIO AMBIENTE

Marcio Roberto Pie(*)
Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

Otto Samuel Mäder Netto
ATGC Genética Ambiental Ltda, Curitiba, PR, Brasil

Aline Horodesky
ATGC Genética Ambiental Ltda, Curitiba, PR, Brasil

Antonio Ostrensky
Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

Endereço(*): Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Avenida Coronel Francisco H. dos Santos, nº 100 - Jardim das Américas - Curitiba - PR - CEP 81531-980 - Brasil - Tel.: +55 (41) 3361-1671 - e-mail: pie@ufpr.br.

RESUMO

O DNA ambiental (eDNA) é uma ferramenta molecular eficaz para detectar organismos a partir de amostras de água, sem captura direta, e oferece ao setor de saneamento uma alternativa mais sensível, rápida e escalável que métodos convencionais baseados em coleta e identificação morfológica. Este artigo apresenta os fundamentos e as principais aplicações da tecnologia, tomando como estudo de caso o ensaio de PCR quantitativa em tempo real (qPCR) desenvolvido para a detecção precoce do mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*), espécie invasora capaz de comprometer captações, tubulações e outras estruturas hidráulicas. Também são discutidas aplicações para a identificação de cianobactérias potencialmente toxigênicas e para a avaliação da qualidade da água por *metabarcoding* de comunidades bioindicadoras. A experiência acumulada em reservatórios e programas de monitoramento do setor elétrico demonstra que o eDNA já pode ser aplicado em campanhas extensivas, com menor volume de amostra, maior frequência de coleta e geração padronizada de informações. Sua incorporação ao saneamento pode ampliar a capacidade de detecção precoce, reduzir riscos operacionais e fortalecer a gestão de mananciais, constituindo uma solução estratégica e imediatamente disponível para o monitoramento ambiental no Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: DNA ambiental, espécies invasoras, qualidade da água.

1. INTRODUÇÃO

A gestão eficiente dos recursos hídricos depende de ferramentas de monitoramento capazes de detectar ameaças com rapidez e precisão. Nos últimos anos, uma tecnologia emergente tem revolucionado o monitoramento ambiental: o DNA ambiental, conhecido pela sigla eDNA (do inglês environmental DNA). Já consolidado em setores como a geração de energia elétrica, o eDNA começa a ganhar espaço em outras áreas, e o saneamento e o meio ambiente representam um campo de aplicação especialmente promissor.

De forma resumida, todos os organismos vivos liberam constantemente fragmentos de seu material genético no ambiente: nas fezes, no muco, nas células mortas, nos gametas e nas secreções. Esses fragmentos, denominados DNA ambiental, permanecem detectáveis na água por horas ou dias. Ao coletar uma simples amostra de água e analisá-la em laboratório com técnicas moleculares de alta sensibilidade, é possível identificar quais organismos estiveram presentes naquele local, mesmo que já tenham se deslocado, estejam em baixas densidades ou sejam de difícil observação direta (Taberlet et al., 2012; Ficetola et al., 2008).

Este trabalho apresenta os princípios do eDNA de forma acessível a profissionais de saneamento e meio ambiente, engenheiros, gestores e outros técnicos sem formação específica em biologia molecular. A partir de estudos publicados e de aplicações realizadas em reservatórios, demonstra-se que a tecnologia já alcançou maturidade analítica e escala compatíveis com programas operacionais de monitoramento. O ensaio para o mexilhão-dourado é utilizado como estudo de caso para evidenciar desempenho, aplicabilidade e transferência ao saneamento, enquanto as aplicações para cianobactérias e bioindicadores ilustram a amplitude de informações que podem ser obtidas a partir da mesma plataforma molecular.

2. OBJETIVO

O presente trabalho tem por objetivo demonstrar as possibilidades de aplicação imediata do DNA ambiental (eDNA) como ferramenta de monitoramento no setor de saneamento e meio ambiente, com base em revisão narrativa e análise técnico-comparativa da literatura. Para isso, utiliza como estudo de caso o método de detecção molecular do mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*) desenvolvido por Pie et al. (2017), examina aplicações para a detecção de cianobactérias toxigênicas e para a avaliação biológica da qualidade da água por bioindicadores moleculares e discute as condições técnicas e econômicas necessárias para sua implementação em larga escala.

3. PRINCÍPIOS DO eDNA E METODOLOGIA UTILIZADA

A metodologia consistiu em revisão narrativa e análise técnico-comparativa de estudos sobre detecção direcionada por PCR/qPCR, *metabarcoding*, bioindicadores aquáticos, desempenho operacional e custos de monitoramento. As publicações selecionadas foram utilizadas para descrever o fluxo analítico, comparar as abordagens moleculares com métodos convencionais, documentar aplicações em reservatórios e contextualizar o estudo de caso do mexilhão-dourado. A síntese foi orientada para a transferência tecnológica ao saneamento, considerando tanto os ganhos de sensibilidade e escala quanto os requisitos de infraestrutura, controle de qualidade e capacitação.

Para compreender o eDNA, é útil começar pelo conceito básico: o DNA (ácido desoxirribonucleico) é a molécula que carrega as informações genéticas de todos os seres vivos. Cada espécie possui um código genético único, como uma impressão digital molecular. O eDNA é simplesmente o DNA liberado por organismos diretamente no ambiente, na água, no sedimento ou no solo, sem necessidade de captura ou visualização dos animais.

O processo de análise de amostras de eDNA envolve três etapas principais. Primeiro, realiza-se a coleta de uma amostra de água, geralmente entre 0,1 e 2 litros. Em seguida, a amostra é filtrada para reter os fragmentos de DNA presentes em suspensão. Por fim, o DNA retido no filtro é extraído e analisado em laboratório por técnicas moleculares.

Existem duas abordagens principais de análise. A primeira é a PCR quantitativa em tempo real (qPCR), que detecta e quantifica uma espécie-alvo específica. É a abordagem utilizada quando se quer saber, por exemplo, se o mexilhão-dourado está presente em um reservatório ou se determinada cianobactéria tóxica foi detectada na água. A segunda é o metabarcoding, que utiliza sequenciamento genético de última geração para identificar simultaneamente centenas ou milhares de espécies em uma única amostra de água, sendo ideal para avaliações amplas da comunidade biológica.

Em aplicações de detecção direcionada e biomonitoramento, o eDNA apresenta vantagens claras em relação aos métodos tradicionais: maior sensibilidade para organismos em baixa densidade, menor volume de amostra, redução do esforço de campo, ausência de captura da fauna, processamento padronizado e possibilidade de ampliar a frequência e a cobertura espacial das campanhas. Essas características tornam a tecnologia especialmente adequada para monitoramentos de larga escala e para sistemas de alerta precoce. O desenho amostral, os controles de contaminação e a avaliação de inibição integram rotineiramente o fluxo de qualidade dos laboratórios moleculares e permitem produzir resultados robustos e comparáveis (Darling e Mahon, 2011; Smart et al., 2016; Andrade et al., 2021).

4. ESTUDO DE CASO: DETECÇÃO DO MEXILHÃO-DOURADO EM RESERVATÓRIOS

O mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*, família Mytilidae) é um bivalve originário do Sudeste Asiático que foi introduzido no Brasil e já colonizou extensas redes hidrográficas do país. Sua capacidade de se fixar em superfícies sólidas por meio de filamentos adesivos e seu alto potencial reprodutivo fazem com que forme incrustações densas em tubulações, grades, bombas, turbinas e demais estruturas hidráulicas, causando entupimentos, desgaste acelerado de equipamentos e prejuízos econômicos significativos (Boltovskoy, 2015; Boltovskoy et al., 2006).

Para as companhias de saneamento, a presença do mexilhão-dourado nos mananciais de captação representa uma ameaça real ao funcionamento das estações de tratamento de água, com potencial de comprometer a continuidade do abastecimento. O momento mais crítico para o controle é justamente o de menor visibilidade: o estágio inicial de colonização. Nessa fase, a densidade de indivíduos ainda é baixa, dificultando a detecção pelos métodos convencionais, que dependem da triagem visual de larvas ao microscópio ou da coleta direta de adultos.

Um método anterior, desenvolvido por pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, utilizava primers moleculares para detectar larvas do mexilhão-dourado em amostras de água filtrada (Pie et al., 2006). Embora representasse um avanço, a abordagem exigia a filtração de volumes superiores a 500 litros por amostra, fornecia apenas informação binária de presença ou ausência e dependia da existência de tecido larval fresco nas amostras.

Pie et al. (2017) descreveram o desenvolvimento de um ensaio de qPCR para detecção do mexilhão-dourado a partir de amostras de eDNA. O método baseia-se na amplificação de um fragmento de 100 pares de bases do gene mitocondrial COI, uma região altamente conservada e específica da espécie. A escolha de um gene mitocondrial é estratégica: cada célula possui dezenas a centenas de cópias de DNA mitocondrial, mas apenas duas de DNA nuclear, aumentando significativamente a probabilidade de detecção mesmo em baixíssimas densidades ou com DNA parcialmente degradado.

No estudo publicado, o método detectou a partir de 0,225 picograma de DNA-alvo, apresentou alta reprodutibilidade entre replicatas e resposta linear em cinco ordens de magnitude de concentração. A validação foi realizada em reservatórios de usinas hidrelétricas no Paraná cuja condição de presença ou ausência era previamente conhecida, com concordância entre o ensaio molecular e a classificação de todos os pontos avaliados (Pie et al., 2017). O desempenho analítico, o baixo volume de água requerido e a validação em campo demonstram que o ensaio está tecnicamente pronto para monitoramentos operacionais, desde que inserido em uma rotina padronizada de amostragem e controle de qualidade.

Tabela 1 - Comparação entre características dos principais métodos de detecção do mexilhão-dourado

Critério	Microscopia larval	PCR convencional	eDNA – qPCR
Volume de água necessário	> 500 litros	> 500 litros	0,1–2 litros
Tipo de informação	Presença/ausência	Presença/ausência	Quantitativo
Sensibilidade	Baixa	Média	Alta
Requer taxonomista em campo	Sim	Sim	Não
Velocidade do resultado	Dias a semanas	1–2 dias	1–2 dias

Fonte: Adaptado de Pie et al. (2006, 2017) e Darling e Mahon (2011).

Para companhias de saneamento, a detecção precoce do mexilhão-dourado nos pontos de captação permite adotar medidas preventivas antes do estabelecimento de incrustações, dimensionar sistemas de controle e reduzir o risco de paralisações emergenciais. A escalabilidade do eDNA já foi demonstrada no Brasil: uma prospecção do mexilhão-dourado analisou 174 pontos distribuídos em 12 bacias hidrográficas do Paraná, e o *metabarcoding* foi aplicado ao monitoramento de peixes no sistema da Usina Hidrelétrica de Itaipu, com campanhas e replicação espacial compatíveis com programas extensos (Andrade et al., 2021; Dal Pont et al., 2021). A incorporação ao saneamento, portanto, não depende do desenvolvimento de uma nova tecnologia, mas da transferência de uma solução já validada e aplicada no contexto de reservatórios e infraestrutura hídrica.

5. APLICAÇÕES DO eDNA NO SETOR DE SANEAMENTO E MEIO AMBIENTE

5.1 DETECÇÃO PRECOCE DE FLORAÇÕES DE CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS

Um dos maiores desafios operacionais para as companhias de saneamento é o monitoramento de florações de cianobactérias, eventos nos quais esses microrganismos fotossintetizantes se multiplicam em densidades elevadíssimas, tornando a água esverdeada, malcheirosa e, em muitos casos, perigosa para o consumo humano. Certas espécies produzem toxinas denominadas cianotoxinas, que incluem hepatotoxinas (como as microcistinas, que atacam o fígado), neurotoxinas e dermatotoxinas. A contaminação por microcistinas já causou eventos graves no Brasil, com destaque para o episódio de Caruaru (PE) em 1996, no qual pacientes em hemodiálise foram expostos a água contaminada.

O monitoramento convencional é realizado por contagem de células ao microscópio, método trabalhoso que requer taxonomistas experientes, é lento e não indica, por si só, se a cepa é toxigênica. Técnicas de PCR permitem detectar e quantificar, diretamente em amostras de água, os genes responsáveis pela produção de microcistinas (como os genes mcyB e mcyE). Bittencourt-Oliveira (2003) demonstrou a aplicabilidade dessa abordagem ao analisar 60 cepas de *Microcystis spp.* de 15 reservatórios distribuídos nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste do Brasil, confirmando a presença do genótipo produtor de microcistinas e a viabilidade de distinguir cepas tóxicas de não tóxicas exclusivamente pela análise molecular.

Abordagens quantitativas por qPCR ampliaram ainda mais essa capacidade. Vaitomaa et al. (2003) demonstraram associação positiva entre o número de cópias do gene *mcyE* e a concentração de microcistinas

em lagos, mostrando que a abundância do marcador molecular pode antecipar o reconhecimento de florações com potencial toxigênico. A qPCR não elimina a necessidade de quantificação química da toxina quando exigida para confirmação regulatória, mas acrescenta uma etapa de alerta mais precoce e sensível, permitindo priorizar amostras, intensificar a vigilância e preparar ajustes operacionais antes que a floração alcance níveis críticos.

5.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA POR METABARCODING: BIOINDICADORES MOLECULARES

A avaliação biológica da qualidade da água é um instrumento essencial para a gestão de recursos hídricos. Diferentemente dos parâmetros físico-químicos, que fornecem um retrato instantâneo das condições no momento da coleta, os organismos biológicos integram as condições ambientais ao longo do tempo, funcionando como testemunhas permanentes da saúde do ecossistema.

Entre os grupos mais utilizados como bioindicadores destacam-se os macroinvertebrados bentônicos, pequenos organismos como larvas de insetos aquáticos, vermes e crustáceos que vivem no fundo e nas margens dos rios. O índice EPT baseia-se na presença e abundância dos grupos Ephemeroptera (efemerídeos), Plecoptera (plecópteros) e Trichoptera (tricópteros), reconhecidamente sensíveis à poluição, cuja presença indica boa qualidade da água. O grupo Diptera tende a ser tolerante à poluição, sendo indicador de ambientes degradados. A razão EPT/Diptera é, portanto, um indicador robusto: quanto maior essa relação, melhor a qualidade do ambiente.

O levantamento convencional de macroinvertebrados exige coleta com redes, triagem manual e identificação morfológica, processo que pode levar semanas e depende de especialistas para cada grupo taxonômico. O *metabarcoding* de eDNA permite processar simultaneamente grande número de amostras e táxons, reduz a dependência de triagem individual e produz dados padronizados que podem ser reanalisados à medida que os bancos de referência são atualizados. Embora a cobertura taxonômica desses bancos ainda deva ser ampliada para parte da fauna brasileira, estudos comparativos já demonstraram concordância com índices convencionais e, em alguns casos, maior sensibilidade ao gradiente de degradação ambiental, sustentando sua utilização em programas de biomonitoramento em escala (Fernández et al., 2019; Uchida et al., 2020).

Fernández et al. (2019) compararam resultados de metabarcoding de eDNA com levantamentos morfológicos convencionais em sete pontos de amostragem no Rio Nalón (Espanha), demonstrando correlação positiva e significativa entre os índices de qualidade calculados pelas duas abordagens, validando o método molecular para avaliação do estado ecológico de rios. Uchida et al. (2020) demonstraram, em dois rios no Japão com gradientes de qualidade bem caracterizados, que o índice EPT calculado a partir de metabarcoding de eDNA apresentou correlação mais forte com a concentração de nitrogênio total do que o mesmo índice calculado pelo método morfológico convencional, indicando que o eDNA captura o sinal de degradação ambiental com maior sensibilidade.

5.3 OUTRAS APLICAÇÕES POTENCIAIS

Além das aplicações já descritas, o eDNA apresenta potencial em outros contextos relevantes para o saneamento. Na detecção de patógenos de origem hídrica, técnicas de qPCR permitem a identificação de organismos como *Cryptosporidium*, *Giardia*, vírus entéricos e bactérias patogênicas em amostras de água, com maior especificidade e rapidez em relação aos métodos microbiológicos convencionais.

O rastreamento de fontes de poluição fecal, conhecido como Microbial Source Tracking (MST), é outra aplicação promissora. Por meio do metabarcoding, é possível identificar a origem de contaminações fecais em corpos d'água, distinguindo entre contribuições de origem humana, bovina ou suína, informação fundamental para decisões de gestão integrada de bacias hidrográficas. O monitoramento de espécies nativas sensíveis como indicadores de recuperação ambiental após obras de saneamento de afluentes e restauração de matas ciliares é também uma aplicação natural e de alto valor para a gestão territorial.

6. ANÁLISE E DISCUSSÃO

A comparação apresentada neste artigo evidencia vantagens operacionais do eDNA por qPCR para a detecção do mexilhão-dourado quanto ao volume de amostra, à sensibilidade analítica, à velocidade de resposta e à logística de campo. A redução de mais de 5.000 vezes no volume de água em relação ao método molecular anterior transforma a viabilidade de campanhas extensas: substitui a filtração de centenas de litros por amostras transportáveis, reduz tempo de campo e permite aumentar o número de pontos e a frequência de

amostragem. Para presença, ausência e detecção precoce, o eDNA constitui uma solução mais eficiente e escalável que a triagem convencional de larvas.

A qPCR também fornece uma medida quantitativa da concentração de DNA-alvo, permitindo acompanhar tendências espaciais e temporais e identificar aumentos consistentes do sinal molecular antes que a infestação seja visualmente evidente. A concentração de eDNA não corresponde necessariamente a uma contagem direta de organismos, mas séries padronizadas podem ser convertidas em indicadores operacionais robustos. Com calibração local, controles positivos, negativos e de inibição e manutenção do mesmo protocolo de coleta e processamento, é possível estabelecer faixas de alerta e apoiar decisões de inspeção e controle.

As aplicações para mexilhão-dourado, cianobactérias e bioindicadores podem compartilhar parte da infraestrutura de coleta, extração, amplificação e gestão de dados, reduzindo o custo marginal por informação gerada. Dependendo do objetivo, o eDNA pode substituir etapas de prospecção, triagem e identificação convencional, mantendo análises microscópicas, químicas ou taxonômicas como confirmação dirigida ou para atender exigências regulatórias específicas. Essa integração não reduz o papel do eDNA a uma ferramenta complementar: ela permite concentrar os métodos tradicionais nas situações em que agregam maior valor, enquanto a plataforma molecular assume o rastreamento sensível, frequente e espacialmente abrangente.

6.1 CONDIÇÕES, CUSTOS E LIMITAÇÕES PARA IMPLEMENTAÇÃO NO SETOR DE SANEAMENTO

A implementação em larga escala requer uma cadeia analítica com controle de contaminação, rastreabilidade e garantia da qualidade, mas não exige que cada companhia de saneamento construa um laboratório completo. As análises podem ser centralizadas em laboratórios próprios regionais ou contratadas de prestadores especializados, enquanto as equipes de campo são capacitadas para coleta, filtração e preservação padronizadas. A qPCR utiliza equipamentos e competências já disseminados em laboratórios de diagnóstico molecular; o *metabarcoding* acrescenta sequenciamento e bioinformática, que também podem ser terceirizados. Assim, a disponibilidade desigual de infraestrutura e pessoal representa uma condição de planejamento e contratação, e não um impedimento tecnológico à adoção (Hirsch et al., 2026).

O custo deve ser calculado pelo ciclo completo, incluindo desenvolvimento ou seleção do ensaio, coleta, filtros, extração, replicatas, controles, reagentes, equipamentos ou terceirização, manutenção, sequenciamento, bioinformática e emissão de laudos. A principal vantagem econômica surge quando os custos fixos são distribuídos por campanhas recorrentes e por grande número de pontos: nesse cenário, a redução de deslocamentos, volume transportado, horas de campo e triagem especializada tende a favorecer o eDNA. Estudos comparativos mostram que o resultado depende da escala e da tecnologia escolhida; Smart et al. (2016) destacaram a importância dos custos de desenvolvimento, enquanto Stein et al. (2014) verificaram que abordagens de sequenciamento de nova geração podem alcançar custos comparáveis ou inferiores aos métodos morfológicos. Para o saneamento, isso favorece modelos centralizados e programas contínuos, nos quais o investimento inicial é rapidamente amortizado.

As estimativas disponíveis reforçam essa vantagem em campanhas extensas. Fu et al. (2021) calcularam, para uma campanha hipotética de 12 amostras marinhas realizada por equipe sênior, custo total de aproximadamente US$ 4,45 mil para eDNA, frente a US$ 14,95 mil para arrasto de praia e US$ 11,58 mil para levantamento por mergulho. Mesmo incluindo US$ 2,4 mil para terceirização da extração, do sequenciamento e da análise, a abordagem molecular permaneceu substancialmente mais econômica. Em outro sistema, Morris et al. (2024) verificaram que a coleta ativa de eDNA foi mais custo-efetiva que redes do tipo fyke para detectar um peixe invasor. Embora valores absolutos variem entre países e aplicações, os estudos mostram que a economia de mão de obra e logística pode superar os custos laboratoriais, sobretudo quando se amplia o número de pontos e campanhas.

A implementação pode começar imediatamente por qPCR para alvos de interesse operacional, utilizando protocolo validado e laboratório qualificado. Uma etapa inicial de amostragem paralela ao método convencional é recomendável para definir a linha de base, calibrar faixas de alerta e documentar os ganhos de sensibilidade e custo no manancial, mas deve ser entendida como transição para a rotina molecular, e não como evidência de que a tecnologia ainda é experimental. Após o primeiro ciclo de validação local, a rede pode ser ampliada rapidamente; o *metabarcoding* pode ser incorporado em seguida para avaliações multiespécies e bioindicadores, aproveitando a mesma estrutura de coleta e processamento.

7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

O DNA ambiental (eDNA) já constitui uma solução tecnicamente madura para o monitoramento biológico de recursos hídricos. Sua capacidade de detectar organismos a partir de pequenos volumes de água, com alta sensibilidade, rapidez e padronização, permite substituir campanhas de campo pesadas por redes de amostragem mais frequentes e espacialmente abrangentes. Para o setor de saneamento, isso representa uma mudança objetiva na capacidade de antecipar riscos e gerir mananciais.

O estudo de caso do mexilhão-dourado demonstra que a qPCR é mais sensível, logística e operacionalmente mais eficiente que os métodos anteriormente empregados para detecção precoce. Aplicações em Itaipu e em levantamentos abrangendo centenas de pontos confirmam que o eDNA pode ser executado em escala no contexto brasileiro. A mesma plataforma pode ser direcionada à detecção de cianobactérias toxigênicas e ao biomonitoramento por *metabarcoding*, ampliando a quantidade e a qualidade da informação produzida por campanha.

Recomenda-se que as companhias de saneamento incorporem o eDNA aos programas de monitoramento de mananciais, iniciando por qPCR para alvos de interesse imediato, como o mexilhão-dourado e marcadores de cianobactérias toxigênicas, e expandindo para *metabarcoding* conforme os objetivos de gestão. A adoção pode ser organizada por laboratórios centralizados ou prestadores especializados, com validação local, controles de qualidade e capacitação das equipes de coleta. As limitações atuais são administráveis e não justificam postergar a implementação de uma tecnologia que já oferece maior sensibilidade, escala e eficiência operacional que os métodos tradicionais em diversas aplicações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, P. D. B.; RAZZOLINI, E.; BAGGIO, R. A. I see golden mussel! They are everywhere! Environmental DNA supports widespread dissemination of *Limnoperna fortunei* in hydrographic basins in the Paraná State, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 64, e21210149, 2021.

2. BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Detection of potential microcystin-producing cyanobacteria in Brazilian reservoirs with a mcyB molecular marker. *Harmful Algae*, v. 2, n. 1, p. 51-60, 2003.

3. BOLTOVSKOY, D. *Limnoperna fortunei: the ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*. Cham: Springer International Publishing, 476 p., 2015.

4. BOLTOVSKOY, D.; CORREA, N.; CATALDO, D.; SYLVESTER, F. Dispersion and ecological impact of the invasive freshwater bivalve Limnoperna fortunei in the Río de la Plata watershed and beyond. *Biological Invasions*, v. 8, p. 947-963, 2006.

5. DAL PONT, G.; RITTER, C. D.; AGOSTINIS, A. O.; STICA, P. V.; HORODESKY, A.; COZER, N.; BALSANELLI, E.; MÄDER NETTO, O. S.; HENN, C.; OSTRENSKY, A.; PIE, M. R. Monitoring fish communities through environmental DNA metabarcoding in the fish pass system of the second largest hydropower plant in the world. *Scientific Reports*, v. 11, art. 23167, 2021.

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

7. FERNÁNDEZ, S.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, S.; MARTÍNEZ, J. L.; GARCIA-VAZQUEZ, E.; ARDURA, A. How can eDNA contribute in riverine macroinvertebrate assessment? A metabarcoding approach in the Nalón River (Asturias, Northern Spain). *Environmental DNA*, v. 1, n. 4, p. 385-401, 2019.

8. FICETOLA, G. F.; MIAUD, C.; POMPANON, F.; TABERLET, P. Species detection using environmental DNA from water samples. *Biology Letters*, v. 4, n. 4, p. 423-425, 2008.

9. FU, M.; HEMERY, L. G.; SATHER, N. K. *Cost efficiency of environmental DNA as compared to conventional methods for biodiversity monitoring purposes at marine energy sites*. Richland: Pacific Northwest National Laboratory, relatório PNNL-32310, 2021.

10. HIRSCH, S. et al. Understanding practical barriers to the global adoption of environmental DNA (eDNA) methods, tools, and standards. *BMC Research Notes*, v. 19, art. 107, 2026.

11. MORRIS, L. et al. Active eDNA is more cost-effective than fyke nets or passive eDNA collection when monitoring the invasion of an alien freshwater fish. *Environmental DNA*, v. 6, n. 5, e70010, 2024.

12. PIE, M. R.; BOEGER, W. A.; PATELLA, L. A.; FALLEIROS, R. M. 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*, v. 72, n. 2, p. 218-219, 2006.

13. PIE, M. R.; STRÖHER, P. R.; AGOSTINIS, A. O.; BELMONTE-LOPES, R.; TADRA-SFEIR, M. Z.; OSTRENSKY, A. 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*, v. 89, n. 2, p. 1041-1045, 2017.

14. SMART, A. S.; WEEKS, A. R.; VAN ROOYEN, A. R.; MOORE, A.; MCCARTHY, M. A.; TINGLEY, R. Assessing the cost-efficiency of environmental DNA sampling. *Methods in Ecology and Evolution*, v. 7, n. 11, p. 1291-1298, 2016.

15. STEIN, E. D.; MARTINEZ, M. C.; STILES, S.; MILLER, P. E.; ZAKHAROV, E. V. Is DNA barcoding actually cheaper and faster than traditional morphological methods? Results from a survey of freshwater bioassessment efforts in the United States. *PLOS ONE*, v. 9, n. 4, e95525, 2014.

16. TABERLET, P.; COISSAC, E.; HAJIBABAEI, M.; RIESEBERG, L. H. Environmental DNA. *Molecular Ecology*, v. 21, n. 8, p. 1789-1793, 2012.

17. UCHIDA, N.; KUBOTA, K.; AITA, S.; KAZAMA, S. Aquatic insect community structure revealed by eDNA metabarcoding derives indices for environmental assessment. *PeerJ*, v. 2020, n. 6, e9176, 2020.

18. VAITOMAA, J.; RANTALA, A.; HALINEN, K.; ROUHIAINEN, L.; TALLBERG, P.; MOKELKE, L.; SIVONEN, K. Quantitative real-time PCR for determination of microcystin synthetase E copy numbers for Microcystis and Anabaena in lakes. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, n. 12, p. 7289-7297, 2003.