

Detección temprana de Especies Exóticas Invasoras (EEI) en ambientes acuáticos del territorio Antártico y la plataforma continental del Mar Argentino mediante el uso de ADN ambiental (ADNa)

Leila Ron¹, Nancy Correa^{1;2}, Erin Grey³, Esteban Paolucci⁴

¹Servicio de Hidrografía Naval (SHN), Ministerio de Defensa, Argentina.

²Escuela de Ciencias del Mar, Facultad de la Armada, U. de la Defensa Nacional, Argentina.

³Maine Center for Genetics in the Environment (MCGE), University of Maine, Maine, Estados Unidos.

⁴Museo Argentino de Ciencias Naturales, MACN-CONICET, Argentina.

Dada la dificultad de mitigar los efectos y erradicar las EEI una vez establecidas, la detección temprana de las mismas para prevenir su introducción, son objeto de constantes investigaciones, incluyendo el uso de ADN ambiental presente en el agua. En esta línea, y con el objetivo de relevar la presencia de EEI en ambientes acuáticos del Mar Argentino y territorio Antártico se realizaron muestreos durante las campañas antárticas de verano (CAV 22-23 y CAV 23-24), SAMOC XX (2022) y diversos sectores del Mar Argentino en marzo/abril de 2022. En este estudio en colaboración entre el SHN, el laboratorio de Hidrobiología del MACN-CONICET y el MCGE de la Universidad de Maine, USA, se compararán muestras de plancton, analizadas tradicionalmente, con secuenciación masiva de muestras de ADNa para verificar su utilidad para detectar EEIs.

Keywords: ADN ambiental, Especies Exóticas Acuáticas, Antártida Argentina

1 Introducción

Dada la importancia de las invasiones biológicas debido a su impacto sobre los ecosistemas marinos [1, 2], sumado a la falta de legislación y control en el manejo de los vectores involucrados [3], se estima que las bioincrustaciones pegadas en el casco de los buques son una de las principales causas de pérdida de biodiversidad en los ambientes marítimo/portuario [4]. La alta demanda en el tráfico marítimo ha favorecido, año tras año, a la introducción y dispersión de estos organismos. Teniendo en cuenta que las consecuencias ecológicas de estas invasiones son, en general, significativas e irreversibles, la importancia de su detección temprana es fundamental para prevenir estos eventos e implementar rápidamente programas de mitigación. El uso de técnicas moleculares de ADN ambiental está siendo desarrollado a nivel global (<https://www.invasivespeciescentre.ca/edna/>), su estudio en los ambientes locales, así como la integración de la información con datos disponibles a nivel mundial, permitirá validar y calibrar su uso [5, 6].

2 Objetivos

- 1) Contribuir a la detección temprana y la prevención de la introducción de especies exóticas acuáticas mediante el uso de herramientas moleculares (ADNa).
- 2) Contribuir a la conservación de la biodiversidad en ambientes acuáticos del territorio Antártico y la plataforma continental del Mar Argentino.
- 3) Contrastar la riqueza de especies determinadas mediante muestreos del plancton y con técnicas de secuenciación masiva del material genético presente en el agua.

3 Materiales y métodos

El trabajo se descompone en tres grandes campañas: Puertos del frente marítimo argentino (mar./abr. 2022), SAMOC-XX (dic.2022) y CAV (2022/23-2023/24). Para cada sitio estudiado se recolectaron muestras para ADN ambiental de agua superficial, por quintuplicado, con un balde de 10 lt, a excepción de SAMOC que se realizaron triplicados en columna de agua a diferentes profundidades con botella niskin de 9lt. Adicionalmente se colectaron muestras de zooplancton para reconocimiento morfológico con red de ictioplancton de 300 μ m, como control. Para estas últimas se filtraron 50 lt de agua (por sitio), concentradas en 250 ml y fijadas en etano al 70%. Para la toma y fijación de las muestras de ADNa se utilizaron botellas plásticas de 250 ml, jeringas de 50 ml con pico con rosca tipo Luer Lock, porta filtro y filtro de celulosa de 0,8 μ m de tamaño de poro, Ø25mm y 0.75ml de buffer en tubos Eppendorf de 2 ml [5]. Se recolectó el agua en las botellas, previamente esterilizadas, rotulando el n° de réplica, consignando también los parámetros químicos y ambientales básicos (T°C, pH y salinidad), asociados a cada sitio. Con posterioridad se procedió al filtrado de las mismas, en el laboratorio, 250 ml totales por réplica. Luego de la apertura del porta filtros, con instrumental esterilizado (RNA-DNA free), se transfirió el filtro de celulosa al eppendorf con el buffer, las muestras se conservarán refrigeradas hasta su posterior análisis. Se realizó un blanco de ADNa de forma similar a lo explicado previamente pero usando agua destilada para cada una de las estaciones. Las muestras de ADNa serán remitidas al laboratorio del Maine Center for Genetics de la Environment University of Maine, Estados Unidos, para realizar la extracción y secuenciación de las mismas.

4 Conclusiones

Considerando que una vez establecido el organismo invasor en el ambiente es verdaderamente difícil de erradicar [7], todas las estrategias tienen que estar puestas en la prevención de su ingreso, monitoreando de forma eficiente, sus vías de ingreso y sus posibles áreas de distribución [8]. Para esto es fundamental estar actualizado con las herramientas técnico-tecnológicas para su detección temprana [9]. Hacer una valoración objetiva de la sensibilidad de los métodos, combinando la identificación

taxonómica clásica y las modernas técnicas ADN, permitiría obtener mejores resultados. Obteniendo del primero los altos niveles de certeza y del segundo la optimización en los tiempos de detección.

Referencias

1. Alidoost Salimi, P., Creed, J.C., Esch, M.M., Fenner, D., Jaafar, Z., Levesque, J.C., Montgomery, A.D., Alidoost Salimi, M., Edward, J.K.P., Raj, K.D., Sweet, M.: A review of the diversity and impact of invasive non-native species in tropical marine ecosystems. *Marine Biodiversity Records* 14, (2021)
2. Guy-Haim, T., Lyons, D.A., Kotta, J., Ojaveer, H., Queiros, A.M., Chatzinikolaou, E., Arvanitidis, C., Como, S., Magni, P., Blight, A.J., Orav-Kotta, H., Somerfield, P.J., Crowe, T.P., Rilov, G.: Diverse effects of invasive ecosystem engineers on marine biodiversity and ecosystem functions: A global review and meta-analysis. *Glob Chang Biol* 24, 906-924 (2018)
3. Ron, L.: Protocolos de verificación para el control de descarga de agua de lastre de los buques en puerto (BWM 2004; D-2). Unidad Academica Escuela Superior carrera de Especializacion en Gestion de la proteccion del Ambiente Acuatico. INSTITUTO UNIVERSITARIO de SEGURIDAD MARÍTIMA de la PREFECTURA NAVAL ARGENTINA, Buenos Aires (2020)
4. Sylvester, F., Kalaci, O., Leung, B., Lacoursière-Roussel, A., Murray, C.C., Choi, F.M., Bravo, M.A., Therriault, T.W., MacIsaac, H.J.: Hull fouling as an invasion vector: can simple models explain a complex problem? *J. Appl. Ecol.* 48, 415-423 (2011)
5. Andrés, J., Czechowski, P., Grey, E., Saebi, M., Andres, K., Brown, C., Chawla, N., Corbett, J.J., Brys, R., Cassey, P., Correa, N., Deveney, M.R., Egan, S.P., Fisher, J.P., vanden Hooff, R., Knapp, C.R., Leong, S.C.Y., Neilson, B.J., Paolucci, E.M., Pfrender, M.E., Pochardt, M.R., Prowse, T.A.A., Rumrill, S.S., Scianni, C., Sylvester, F., Tamburri, M.N., Therriault, T.W., Yeo, D.C.J., Lodge, D.M.: Environment and shipping drive environmental DNA beta-diversity among commercial ports. *Mol. Ecol.* 32, 6696-6709 (2023)
6. Czechowski, P., de Lange, M., Heldsinger, M., Kardailsky, A., Rayment, W., Hepburn, C., Ladds, M., Knapp, M.: Comparison of traditional and molecular surveys of fish biodiversity in southern Te Wāhipounamu/Fiordland (Aotearoa/New Zealand). *Environmental DNA* 6, (2024)
7. Boltovskoy, D.: *Limnoperna fortunei*: the ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel. Springer International Publishing, Cham, Switzerland (2015)
8. Abelando, M., Bobinac, M., Fiore, J.C.: Assessment of the efficiency of controls to prevent biologic invasions at the San Lorenzo Port, Argentina. *Environ. Monit. Assess.* 192, 420 (2020)
9. Endo, N., Sato, K., Nogata, Y.: Molecular based method for the detection and quantification of larvae of the golden mussel *Limnoperna fortunei* using real-time PCR. *Plankton Benthos Research* 4, 125-128 (2009)