

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PATRICIA DAMMSKI BORGES

Limnoperna fortunei (BIVALVIA: MYTILIDAE) E O SETOR ELÉTRICO BRASILEIRO:
DISTRIBUIÇÃO, IMPACTOS, ESTUDO DE CASO DA DISPERSÃO NO RIO IGUAÇU E
TESTE DE PROTOCOLO DE USO DE LARVAS NA CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL
GENÉTICO DE POPULAÇÕES

CURITIBA

4 de setembro de 2014

PATRICIA DAMMSKI BORGES

Limnoperna fortunei (BIVALVIA: MYTILIDAE) E O SETOR ELÉTRICO BRASILEIRO:
DISTRIBUIÇÃO, IMPACTOS, ESTUDO DE CASO DA DISPERSÃO NO RIO IGUAÇU E
TESTE DE PROTOCOLO DE USO DE LARVAS NA CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL
GENÉTICO DE POPULAÇÕES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas área de concentração Zoologia. Orientador: PhD Walter Antônio Pereira Boeger

CURITIBA
4 de setembro de 2014



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação Zoologia

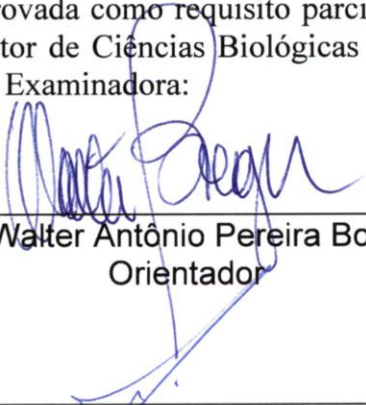


TERMO DE APROVAÇÃO

Patricia Dammski

“*Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) e o setor elétrico brasileiro: distribuição, impactos, estudo de caso da dispersão no Rio Iguaçu e teste de protocolo de uso de larvas na caracterização do perfil genético de populações”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zoologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:



Dr. Walter Antônio Pereira Boeger
Orientador

Dr. Gustavo Alberto Darrigran (Museu de La Plata)



Dra. Rosana Moreira da Rocha (UFPR)

Curitiba, 24 de julho de 2014

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia/UFPR
Setor de Ciências Biológicas - Departamento de Zoologia
Caixa Postal 19020 - CEP 81531-980 - Curitiba - Paraná
Telefone/FAX +55 (041) 3361-1641**

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor Walter Boeger, pelo aceite em me orientar, por todo o ensinamento e compreensão.

A todo o Laboratório de Ecologia Molecular e Parasitologia Evolutiva (LEMPE) pelo apoio logístico e a todos os colegas que de alguma forma colaboraram com as análises, sugestões, e pela companhia. A Anne, Marcus, Rafael e Luiza pelo auxílio no processamento de amostras em laboratório. Á Luciana, Emanuel e Taísa, pelas discussões e apoio moral indispensável. Ao Marcel, Mariana e Renata pela ajuda no processamento das amostras no laboratório. Ao Flávio e Baggio pelo auxílio nas análises dos dados. Um agradecimento especial à colega de laboratório que se tornou uma grande amiga, Sandra Ludwig, pela paciência em me acompanhar desde os primeiros passos no laboratório, parte teórica, análises e redação da dissertação, pelo companheirismo e acima de tudo pela amizade.

Aos membros da banca Professor Gustavo Darrigran pela disponibilidade, discussões e valiosas contribuições, e Rosana Rocha por todas as críticas e sugestões desde as primeiras avaliações nos relatórios parciais.

Aos Institutos Lactec, em especial à Ingrid e Tânia, minhas chefes, por me permitirem cursar o mestrado e pela compreensão nas ausências, em especial à Ingrid, que acompanhou todo o meu crescimento profissional, sempre me incentivou nas escolhas, pelas conversas e confiança. Ao Otto por todas as sugestões para este estudo, pelas incontáveis viagens e conversas, por todo o apoio desde a decisão em cursar o mestrado e durante todo o curso. Ao Leo pelas conversas, coletas de amostras, sugestões e companhia desde o primeiro dia de trabalho. Á Flora pela amizade e por sempre me acalmar e apoiar. A toda a equipe, Douglas, Maurício e Camila pelo auxílio em campo, com os dados, e pela compreensão. Ao Lucas pela confecção do mapa e paciência para chegar à versão final e à Mariana pelas alterações finais.

À Companhia Paranaense de Energia – COPEL, à Tractebel Energia, à Eletronorte, e demais Concessionárias de Energia com as quais foram realizados serviços e/ou projetos de P&D regulamentados pela Agência Nacional de Energia Elétrica – ANEEL e que forneceram dados para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Itaipu Binacional, através da Carla Canzi pela disponibilidade e Domingo Rodriguez Fernandez pelo atendimento à solicitação de auxílio para coleta e envio de amostras de mexilhão dourado da Central Hidrelétrica de Itaipu.

Ao Parque Nacional do Iguaçu pelo apoio nas pesquisas em parceria com os Institutos Lactec, nas quais foram obtidos dados para esta pesquisa. Ao Raphael pelo apoio, acompanhamento e fornecimento de dados, e ao Pedro pelo apoio nas campanhas de campo no Parque, auxílio nos estudos e coleta de dados.

À Sanepar - Companhia de Saneamento do Paraná, através da Diretoria de Meio Ambiente e Ação Social, do gerente de Assessoria de Pesquisa e Desenvolvimento Eng. Dr. Charles Carneiro, pela autorização das coletas realizadas na represa Piraquara II. À bióloga Ana Cristina do Rego Barros por todo o apoio e disponibilidade. Ao engenheiro ambiental Luis Paulo Carlesse Martins, pelo pronto atendimento e interesse e pela disponibilidade do barco, e ao Tiago e Paulo pelo auxílio em campo.

À Biometrix, através da minha amiga Rafaela Wassmansdorf, pela disponibilidade em testar protocolos para extração de DNA de estágios larvais do mexilhão dourado.

À minha família, pelo apoio durante o curso. Ao meu pai Windsor e minha mãe Roseli por todo o investimento na minha formação. Investimento este também financeiro, claro, mas principalmente de tempo e dedicação. Essa base foi fundamental para o sucesso que alcancei.

Ao meu namorado, Juliano de Andrade, à quem dedico um agradecimento especial pela compreensão, paciência, cuidado e apoio incondicional neste momento em que me faltou tempo, disposição e bom humor muitas vezes, e ainda por ajudar com sugestões e críticas no trabalho.

Aos amigos e amigas, que por vezes até nem se deram conta, mas que são importantes nessa etapa da vida de correria, seriedade e foco.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
PRÓLOGO	11
CAPÍTULO I - LIMNOPERNA FORTUNEI (BIVALVIA, MYTILIDAE) NA AMÉRICA DO SUL: DISTRIBUIÇÃO E SUA CONSEQÜÊNCIA PARA O SETOR ELÉTRICO BRASILEIRO.....	14
RESUMO.....	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAIS E MÉTODOS	17
RESULTADOS	18
DISCUSSÃO	25
AGRADECIMENTOS	28
REFERÊNCIAS.....	28
APÊNDICES	32
CAPÍTULO II - PROCESSO DE INVASÃO DA BACIA DO RIO IGUAÇU, PARANÁ, BRASIL POR LIMNOPERNA FORTUNEI (BIVALVIA, MYTILIDAE) E TESTE DE PROTOCOLO DE USO DE LARVAS NA CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO DE POPULAÇÕES.....	41
RESUMO.....	42
INTRODUÇÃO	43
MATERIAIS E MÉTODOS	44
<i>Locais de coleta.....</i>	<i>44</i>
<i>Amplificação e Sequenciamento de mtDNA.....</i>	<i>46</i>
<i>Análise de Dados.....</i>	<i>46</i>
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO	49
<i>Padrões de invasão.....</i>	<i>49</i>
<i>Larvas como proxy da genética populacional.....</i>	<i>50</i>
AGRADECIMENTOS	52
REFERÊNCIAS.....	52
APÊNDICES	55
EPÍLOGO	57
REFERÊNCIAS	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Panorama atual da distribuição do mexilhão dourado na América do Sul, com destaque para as ocorrências em usinas hidrelétricas brasileiras. 1. Bacia do Rio Amazonas; 2. Bacia do Tocantins Araguaia; 3. Bacia do Atlântico Norte Nordeste; 4. Bacia do Rio São Francisco; 5. Bacia do Atlântico Leste; 6. Bacia dos Rios Paraná Paraguai; 7. Bacia do Uruguai; 8. Bacia do Atlântico Sul e Sueste.	19
Figura 2. Número de novas ocorrências de <i>Limnoperna fortunei</i> em usinas hidrelétricas nas bacias hidrográficas do Rio Paraná e Uruguai, entre 2001 e atualmente.	22
Figura 3. Número de novas ocorrências de <i>Limnoperna fortunei</i> em usinas hidrelétricas obtidas através de publicações, vistorias, comunicação pessoal e detecção molecular de larvas.	23
Figura 4. Localização dos pontos de coleta no Rio Iguaçu e em um ponto à jusante da foz do Rio Iguaçu, no Rio Paraná. Estrelas em vermelho indicam presença de <i>L. fortunei</i> apenas através de detecção molecular larvas, estrelas amarelas representam locais com ocorrência registrada em bibliografia porém não detectada neste trabalho. Gráficos de pizza indicam a frequência dos haplótipos de COI para populações de <i>L. fortunei</i> no Rio Iguaçu e para a UHE Itaipu. Siglas conforme Tabela I. Os gráficos de pizza indicam a proporção de cada haplótipo nas populações de adultos (A) e larvas (L).	44
Figura 5. Rede de haplótipos baseada no gene COI para populações adultas de <i>L. fortunei</i> no Rio Iguaçu e em um ponto à jusante de sua foz (à esquerda). Círculos indicam os diferentes haplótipos encontrados e a proporção com que ocorrem em cada ponto. Números correspondem a mutações que separam haplótipos nas respectivas posições. A posição desses haplótipos na rede de todos os haplótipos conhecidos está apresentada à direita da figura. Círculos brancos representam haplótipos não detectados nesse estudo, portanto, sem valores de frequência. Siglas conforme Tabela 1.	47
Figura 6. Rede de haplótipos baseada no gene COI para larvas de <i>L. fortunei</i> no Rio Iguaçu e em um ponto à jusante de sua foz. Círculos indicam os diferentes haplótipos encontrados e a proporção com que ocorrem em cada ponto. Números correspondem a mutações que separam haplótipos nas respectivas posições. Siglas conforme Tabela 1.	48

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Ocorrências de <i>Limnoperna fortunei</i> em usina hidrelétricas no Brasil, com suas respectivas localizações e método de detecção.	20
Tabela 2. Predição da invasão de usinas hidrelétricas por <i>Limnoperna fortunei</i> /ano no Brasil.	24
Tabela 3. Pontos amostrados ao longo do Rio Iguaçu e um ponto no Rio Paraná com suas respectivas coordenadas, número de indivíduos amostrados (N), número de haplótipos encontrados (<i>n</i>) e seus respectivos códigos, e índices de diversidade genética, sendo π a diversidade nucleotídica e <i>h</i> a diversidade haplotípica encontrada para COI em <i>L. fortunei</i>	45
Tabela 4. Estimativas de diferenciação na frequência de haplótipos em populações de adultos com base no gene mitocondrial COI para populações de <i>L. fortunei</i> . Números em negrito apresentam significância estatística ($p < 0,05$).	48
Tabela 5. Estimativas de diferenciação na frequência de haplótipos em larvas com base no gene mitocondrial COI para populações de <i>L. fortunei</i> . Números em negrito apresentam significância estatística ($p < 0,05$).	48
Tabela 6. Estimativas de diferenciação genética populacional para adultos de <i>L. fortunei</i> com base no gene mitocondrial COI. Números em negrito apresentam significância estatística após correção de Bonferroni ($p < 0,008$). Valores de <i>Gst</i> abaixo da diagonal e <i>D</i> de Jost acima da diagonal.	49
Tabela 7. Estimativas de diferenciação genética populacional para larvas de <i>L. fortunei</i> com base no gene mitocondrial COI. Números em negrito apresentam significância estatística após correção de Bonferroni ($p < 0,016$). Números sublinhados não apresentam significância devido à valor de “ <i>p</i> ” ligeiramente superior ao calculado após correção. Valores de <i>Gst</i> abaixo da diagonal e <i>D</i> de Jost acima da diagonal.	49
Tabela 8. Estimativas de diferenciação na frequência de haplótipos em populações de adultos (A) e larvas (L) com base no gene mitocondrial COI para <i>L. fortunei</i> . Não foi observada significância estatística após correção de Bonferroni ($p < 0,016$) para o teste <i>t</i>	49

ÍNDICE DE APÊNCICES

Apêndice A. Ocorrências de <i>L. fortunei</i> na América do Sul.	32
Apêndice B. Locais vistoriados sem ocorrência de <i>L. fortunei</i> no Brasil.	37
Apêndice C. Teste comparativo de AMOVA para adultos de <i>L. fortunei</i> entre PQ, CX e OS. Siglas conforme Tabela 1.	55
Apêndice D. Teste comparativo de AMOVA para adultos de <i>L. fortunei</i> entre IT, PQ, CX e OS. Siglas conforme Tabela 1.	55
Apêndice E. Teste comparativo de AMOVA para larvas de <i>L. fortunei</i> entre IT, PQ e CX. Siglas conforme Tabela 1.	56
Apêndice F. Teste comparativo de AMOVA para larvas de <i>L. fortunei</i> entre PQ e CX. Siglas conforme Tabela 1.	56

RESUMO

As invasões biológicas têm sido reconhecidas como uma das ameaças de alto impacto aos ecossistemas naturais. Os ambientes mais susceptíveis à introdução acidental de espécies são regiões estuarinas e lagos, pois muitas das espécies exóticas e potencialmente invasoras são organismos aquáticos. Os bivalves de água doce, em particular, apresentam a maioria dos atributos necessários para a colonização de novos ambientes. Um bivalve de grande interesse é o mexilhão dourado *Limnoperna fortunei*. Originário da Ásia e introduzido na América do Sul em 1991 na Argentina, em pouco tempo se disseminou entre as bacias hidrográficas deste país, do Paraguai, Uruguai, Bolívia e Brasil, com limite de distribuição ao norte registrado na região de Cáceres, Mato Grosso, Brasil. A Bacia Amazônica ainda não apresenta registro do mexilhão dourado. A chegada da espécie na região deverá promover sérios impactos ambientais e econômicos, e sua ocorrência certamente não passará despercebida. O setor mais afetado pela proliferação do mexilhão dourado é o setor elétrico, atualmente, a espécie está presente em 36 usinas hidrelétricas brasileiras, e outras 52 apresentam risco de invasão no período de um ano. Somadas, resultam em aproximadamente 56% da potência instalada total de usinas hidrelétricas no Brasil. Se considerarmos ainda os prejuízos que o mexilhão dourado potencialmente pode gerar a outras fontes de geração de energia que utilizam água para a própria geração e para resfriamento de equipamentos, como as pequenas centrais hidrelétricas (PCH), as usinas termelétricas (UTE) e as usinas term nucleares (UTN), os impactos serão extremos e imprevisíveis. As ferramentas moleculares são de extrema importância para elucidar questões de rotas de invasão e detectar precocemente estágios larvais de *L. fortunei*. Neste estudo, é proposto um protocolo de utilização de larvas no estudo do perfil genético de populações, permitindo estudar a espécie em regiões de difícil acesso às populações adultas e entender de forma mais aprofundada os processos de invasão.

Palavras chave

Fouling, bioinvasão, mexilhão dourado, incrustação, protocolo molecular.

ABSTRACT

Biological invasions are recognized as one of the major threats to natural ecosystems. Ecosystems that are more susceptible to accidental introduction of species are estuarine regions and lakes, since many of the exotic and potentially invasive species are aquatic organisms. Freshwater bivalves, in particular, present most of the attributes required to colonize and invade new environments. A bivalve of great interest is the golden mussel, *Limnoperna fortunei*. Originally from Asia and introduced in South America in 1991, this species soon spread throughout the watersheds in this country, Paraguay, Uruguay, Bolivia and Brazil, reaching the region of Caceres, Mato Grosso, Brazil. The Amazon Basin still has no record of the golden mussel. The arrival of the species in the region should promote serious environmental and economical impacts, and its occurrence certainly will not go unnoticed. The sector most affected by the proliferation of the golden mussel is the electricity-production sector. Currently, 36 Brazilian power plants present the species, and 52 others are at risk of invasion within one year. Together, these power plants represent approximately 56% of the total installed capacity of hydroelectricity in Brazil. If we also consider the damage that the golden mussel can potentially generate to other sources of power generation that use water to generate power and cooling equipment, such as small hydropower, thermal power plants and the thermonuclear plants, the impacts will be unpredictable and extreme. Molecular tools are extremely important to elucidate issues such as invasion routes and to early detect *L. fortunei* larval stages. In this study, we proposed a protocol to use larvae to determine the genetic profile of populations of the golden mussel, allowing study of the species in regions of difficult access to adult populations and a better understanding of the processes of invasion.

Key words

Fouling, bioinvasion, golden mussel, molecular protocol.

PRÓLOGO

A distribuição de espécies pode mudar naturalmente ao longo do tempo, porém, as atividades humanas têm aumentado a taxa e a escala espacial dessas mudanças, seja de forma acidental ou com interesse comercial e ornamental (e.g. Ricciardi & MacIsaac 2000, Ruiz *et al.* 2000). A introdução de uma espécie passa a ser considerada uma invasão biológica quando, após se estabelecer, a espécie gera algum tipo de impacto, seja ele econômico, social e/ou ecológico (Walther *et al.* 2009).

As regiões estuarinas e lagos são ambientes susceptíveis à introdução acidental de espécies, uma vez que muitas das espécies exóticas e potencialmente invasoras são organismos aquáticos (e.g. Roman & Darling 2007). A introdução de espécies aquáticas apresenta uma forte correlação com a atividade humana e em especial com a expansão e globalização do comércio (Mills *et al.* 1993). Atualmente, a descarga de água de lastro é a principal via de introdução de espécies nos portos de todo o mundo e uma das grandes ameaças ao equilíbrio ecológico dos ambientes aquáticos, pois carrega consigo organismos em estágios larvais não perceptíveis a olho nu e de difícil detecção (Silva & Souza 2004, Darrigran & Damborenea 2009).

O processo de bioinvasão apresenta três estágios: 1) Inicia quando uma espécie é transportada de sua região de origem para um novo local, ultrapassando a barreira geográfica, momento na qual passa a ser considerada uma espécie exótica (Mack 1995); 2) Após a introdução, suportando as condições bióticas e abióticas do novo local, a espécie passa conseqüentemente a se reproduzir, ultrapassando a barreira do estabelecimento; 3) A partir da colonização, quando a espécie apresenta alto crescimento populacional e supera fatores locais com interferência antrópica, ultrapassa a barreira da dispersão, podendo iniciar uma bioinvasão (Mack 1995, Higgins & Richardson 1996, Mack *et al.* 2000). Uma introdução bem sucedida resulta da interação entre a susceptibilidade do ambiente a ser invadido e as próprias características invasoras da espécie (Darrigran & Damborenea 2009).

Segundo Morton (1996), uma espécie deve possuir vários atributos para que possa colonizar um novo ambiente. Dentre eles estão: 1. Curto período de vida (por exemplo, dois ou três anos); 2. Rápido crescimento individual; 3. Rápida maturidade sexual; 4. Alta fecundidade; 5. Grande capacidade de colonizar uma ampla faixa de habitat; 6. Ampla faixa de tolerância fisiológica; 7. Comportamento gregário; 8. Associação com algum tipo de atividade humana; 9. Ampla variabilidade genética; 10. Hábito alimentar suspensívoro.

Os bivalves de água doce, em particular, apresentam a maioria desses atributos (Darrigran & Damborenea 2009). O bivalve mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Mytilidae), vem causando graves impactos ambientais e prejuízos econômicos significativos na América do Sul. Originário do sudeste asiático vem expandindo sua distribuição em todo o mundo. Em 1965, invadiu as águas de Hong Kong (Morton 1977), e anos depois foi registrado no Japão e Taiwan (Kimura 1994, Ricciardi 1998). A espécie chegou ao estuário do Rio de la Plata na Argentina, em 1991 (Pastorino *et al.* 1993), provavelmente por meio de água de lastro de navios oriundos da região de origem, e em pouco tempo se disseminou entre as bacias hidrográficas deste país, do Paraguai, Uruguai, Bolívia e Brasil (Darrigran & Ezcurra de Drago 2000).

Estes organismos são geralmente encontrados fixos sobre pedras, rochas, e demais substratos naturais e artificiais, freqüentemente formando grandes aglomerados. A espécie fixa-se a estes substratos através de um filamento de base protéica, o bisso, secretado por uma glândula localizada na base do pé muscular, normalmente em forma de cordões (Ruppert & Barnes 1996).

Vários fatores no ambiente podem influenciar na abundância, distribuição e crescimento das populações de *L. fortunei*, como profundidade e demais fatores abióticos, predação, entre outros (Nakano *et al.* 2010, Oliveira *et al.* 2010). Segundo Darrigran & Damborenea (2011), as características que tornam o mexilhão dourado uma espécie invasora de sucesso são: fase larval planctônica, ciclo de vida curto, rápido crescimento dos indivíduos, rápida maturidade sexual, alta taxa de fecundidade, capacidade de colonizar diferentes *habitats*, comportamento gregário, associação a atividades humanas e se alimentarem de organismos em suspensão.

Segundo Darrigran & Damborenea (2005) um dos piores impactos causados pelo mexilhão dourado sobre as populações nativas é sua incrustação nas valvas de espécies da malacofauna, dificultando assim a sua movimentação e impedindo sua respiração e alimentação. O mexilhão dourado tem sido reportado fixo sobre o exoesqueleto de organismos aquáticos nativos, até mesmo em suas partes moles, tais como os bivalves *Anodontites trapesialis*, *Diplodon koseritzie*, *Leila blavivilliana*, o caranguejo *Aegla platensis* e o gastrópode *Pomacea canaliculata* (Mansur *et al.* 1999, Darrigran 2000, Mansur *et al.* 2003, Oliveira 2003). Já foi reportado também sobre a espécie invasora *Corbicula fluminea*. Este tipo de comportamento é observado também em espécies de *D. polymorpha* (mexilhão zebra) e mexilhão quagga, e tem promovido danos intensos sobre espécies nativas na América do Norte (Burlakova *et al.* 2000, Zanatta *et al.* 2002).

Os organismos aquáticos invasores são problemáticos também para as atividades humanas e em sistemas industriais e produtivos. Observa-se a existência de extensa bibliografia a respeito da infestação ocorrida na América do Norte pelas espécies *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra) e *Dreissena bugensis* (mexilhão quagga), citando conseqüências e prejuízo causados por esses moluscos (Claudi 1995, Kerley *et al.* 2000, Drake & Bossenbroek 2004). Os danos econômicos associados com espécies exóticas invasoras nos Estados Unidos são de aproximadamente US \$ 120 bilhões/ano, sendo cerca de US\$ 1 bilhão por ano apenas para monitorar e controlar o mexilhão zebra (Pimentel *et al.* 2005).

Embora em muito menor quantidade, a literatura de origem asiática ou argentina, referente a infestações provocadas pelo *L. fortunei*, nos mostram que os impactos econômicos causados por esta espécie são muito semelhantes aos causados por *D. polymorpha* (Matsui *et al.* 2002, Brugnoli & Clemente 2002, Cataldo *et al.* 2002). No Brasil, os gastos vêm crescendo anualmente com controle nas usinas já afetadas e com prevenção nas que ainda não possuem organismos invasores (Belz 2006). Populações de *L. fortunei* podem alcançar densidades de 240.000 ind./m² em ambientes alterados pelo homem (Darrigran & Dreher Mansur 2009).

Uma vez que a espécie introduzida impacta de algum modo o local invadido, medidas começam a ser destinadas ao seu controle, porém, em muitos casos, se realizam de forma tardia e pontual. Diversos estudos tem sido realizados com o objetivo de desenvolver metodologias para o controle do mexilhão dourado utilizando métodos físicos (Kowalski & Kowalski 2008), injeção de produtos químicos (Giordani *et al.* 2005), aplicação de biocida, entre outros (e.g. Caprari 2006, Darrigran *et al.* 2007, Pereyra *et al.* 2011, Santos 2011). Dificilmente um único método é suficiente para minimizar o problema em uma planta industrial, sendo necessária a utilização de dois ou mais métodos de forma complementar (Claudi 1995). Devido a todos estes fatores, a melhor ferramenta é, ainda, a prevenção, alternativa de menor custo ambiental e econômico (Darrigran & Damborenea 2005).

O mexilhão dourado é originário da Ásia, e foi introduzido na América do Sul provavelmente via descarga de água de lastro de navios transoceânicos, com primeiro registro em 1991 (Pastorino *et al.* 1993), expandindo sua distribuição rapidamente para as porções superiores da bacia do Rio Paraná, atingindo

principalmente os grandes rios, numa velocidade de cerca de 240 Km/ano (Darrigran & Ezcurra de Drago 2000; Boltovskoy *et al.* 2006; Darrigran & Dreher Mansur 2009). Em pouco tempo, disseminou-se por várias outras bacias hidrográficas da Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil, causando graves impactos ambientais e econômicos. Não há registro de *L. fortunei* em outros continentes.

Este estudo traz a atual distribuição de *Limnoperna fortunei* na América Sul, com foco para as usinas hidrelétricas no Brasil, discutindo sua dispersão através de um estudo de caso para o Rio Iguaçu, Paraná, utilizando ferramentas genéticas, e fazendo uma análise dos impactos com uma previsão da dispersão da espécie no setor elétrico brasileiro no período de um ano.

Capítulo I - *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) na América do Sul: distribuição e sua consequência para o setor elétrico brasileiro

(Formatado para a Biological Invasions)

***Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) na América do Sul: distribuição e sua consequência para o setor elétrico brasileiro**

Resumo

A espécie invasora *Limnoperna fortunei*, originária da Ásia, foi introduzida na América do Sul em 1991 e dispersou-se rapidamente atingindo diferentes bacias hidrográficas da Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil. Seu limite de distribuição mais ao norte é Cáceres, Mato Grosso, Brasil. Ao todo, 183 pontos na América do Sul apresentam ocorrência do mexilhão dourado. Esses pontos foram avaliados através de publicações, visualizações de adultos, comunicação pessoal ou detecção molecular de larvas. No Brasil, das 196 usinas hidrelétricas, 36 apresentam ocorrência de *L. fortunei* e 52 apresentam risco de invasão no prazo de um ano. Somando-as, totalizam 44% das usinas hidrelétricas brasileiras e aproximadamente 56% da potência instalada. Além disto, a Bacia Amazônica apresenta uma usina hidrelétrica em risco de invasão, ou seja, esta bacia poderá sofrer a invasão do mexilhão dourado em curto prazo. Ações de prevenção da introdução de *L. fortunei* em regiões não invadidas e o monitoramento e detecção precoce da espécie podem prevenir ou retardar os impactos de sua proliferação.

Palavras chave

Espécie invasora, bioinvasão, bioincrustação, mexilhão dourado, *fouling*

Introdução

A distribuição de espécies aquáticas pode mudar naturalmente ao longo do tempo, porém, as atividades humanas têm aumentado a taxa e a escala espacial dessas mudanças, seja acidentalmente através da água de lastro de navios. Por exemplo, organismos são deliberadamente transportados e introduzidos para atividades de interesse comercial e ornamental por todo o mundo (e.g. Ricciardi & MacIsaac 2000, Ruiz *et al.* 2000). A introdução de uma espécie passa a ser considerada uma invasão biológica quando, após se estabelecer, gera algum tipo de impacto, seja ele econômico, social e/ou ecológico (Walther *et al.* 2009).

Uma espécie aquática invasora de grande interesse na América do Sul é o mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857). O mexilhão dourado é um mitilídeo originário do sudeste asiático que apresenta comportamento gregário e incrustante. A espécie fixa-se a substratos naturais e artificiais por meio do bisso, sobre substratos consolidados, tais como conchas de outros animais, raízes de plantas aquáticas, concreto, vidro, plástico, nylon, grades de metal e estruturas submersas ou banhadas pela água (Darrigran & Damborenea 2009; Belz *et al.* 2012). Essa espécie forma grandes aglomerados e atinge elevadas densidades, causando impactos ambientais e graves prejuízos à fontes de abastecimento de água, usinas hidrelétricas e sistemas industriais na América do Sul (e.g. Darrigran 2002).

Em 1991, espécimes de *L. fortunei* foram detectados pela primeira vez no estuário do Rio de la Plata, provavelmente introduzidos via descarga de água de lastro de navios transoceânicos (Pastorino *et al.* 1993). A partir do local de sua introdução, o mexilhão-dourado expandiu sua distribuição rapidamente para as porções superiores da bacia do Rio Paraná, atingindo principalmente os grandes rios, numa velocidade de cerca de 240 Km/ano (Darrigran & Ezcurra de Drago 2000; Boltovskoy *et al.* 2006; Darrigran & Dreher Mansur 2009). Em pouco tempo, disseminou-se por várias outras bacias hidrográficas da Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil, causando graves impactos ambientais e econômicos. A velocidade e dinâmica de sua dispersão contra a corrente foram resultado de sua associação às atividades humanas, como pesca, comércio e recreação, aliadas à região de intenso tráfego fluvial (Darrigran & Damborenea 2005). No Brasil, a dispersão ocorreu inicialmente na Bacia do Rio Paraná, atingindo rapidamente trechos do alto Rio Paraná e grandes rios, como o Paraguai, Iguazu, Paranapanema, Paranaíba e Tietê. A invasão mais tardia da Bacia do Rio do Uruguai pelo mexilhão dourado se deu possivelmente pela baixa navegabilidade neste rio, uma vez que as características ambientais são favoráveis ao seu desenvolvimento e não restringiriam seu estabelecimento (Darrigran *et al.* 2012).

A incrustação e proliferação descontrolada de *L. fortunei* se enquadram a um evento conhecido como *macrofouling*. Este problema tem afetado sistemas de tratamento de água, usinas térmicas, fábricas de óleo e usinas hidrelétricas (Darrigran 2002, Darrigran & Damborenea 2005). Dentre os impactos gerados pelo *macrofouling* destacam-se a redução do diâmetro de tubulações e da velocidade da água; a contaminação da água pela morte de grande quantidade de organismos; e a obstrução de filtros e tubulações em sistemas de resfriamento de usinas hidrelétricas. Nestes ambientes, o mexilhão dourado pode atingir cerca de 240.000 ind./m² (Darrigran & Dreher Mansur 2009). Todos estes impactos geram um aumento de custos ocasionados por desgaste de equipamentos, perda de eficiência dos sistemas, aumento de mão de obra e paralisação de equipamentos e sistemas para manutenção e limpeza.

As conseqüências e prejuízos da infestação ocorrida na América do Norte pelas espécies *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra) e *Dreissena bugensis* (mexilhão quagga) são bastante citadas (Claudi 1995, Kerley *et al.* 2000, Drake & Bossenbroek 2004). Os danos econômicos associados com espécies exóticas invasoras nos

Estados Unidos são de aproximadamente US\$ 120 bilhões / ano, sendo cerca de US\$ 1 bilhão por ano apenas para monitorar e controlar o mexilhão zebra (Pimentel *et al.* 2005). Embora em menor quantidade, a literatura de origem asiática ou sul-americana referente a infestações provocadas por *L. fortunei*, mostram que os impactos econômicos causados por esta espécie são muito semelhantes (Matsui *et al.* 2002, Brugnoli & Clemente 2002, Cataldo *et al.* 2002).

No Brasil existem 197 usinas hidrelétricas em operação, totalizando 86.625,95 MW de potência instalada (ANEEL 2014). O primeiro registro do mexilhão dourado em uma usina hidrelétrica (UHE) brasileira ocorreu em 2001 (Zanella & Marenda 2002), na UHE Itaipu, Rio Paraná. Desde então, novas ocorrências da espécie em usinas hidrelétricas vêm sendo registradas. As atividades humanas, tais como piscicultura, a remoção e transporte de areia e a utilização de barcos de pesca e recreativos facilitam a dispersão do mexilhão dourado contra a correnteza de rios e entre bacias hidrográficas (Belz *et al.* 2012).

Segundo a IUCN (2000), a prevenção é a forma mais barata, eficaz e deve ser o primeiro objetivo no controle de espécies invasoras. De acordo com Darrigran & Damborenea (2009) a prevenção deve englobar a avaliação de risco, detecção precoce, rápida resposta e educação pública, porém, na maioria dos casos, o manejo de espécies invasoras é reativo e ações começam a ser tomadas após a espécie já ter se estabelecido. A fim de desenvolver ações para a prevenção e monitoramento da dispersão do mexilhão dourado, Pie *et al.* (2006) desenvolveram um método para a detecção precoce da espécie através de um marcador molecular rápido e preciso de larvas de *L. fortunei* em amostras de plâncton, o qual foi testado por Boeger *et al.* (2007) e Darrigran *et al.* (2009).

Este trabalho apresenta uma atualização do panorama da distribuição atual de *L. fortunei* na América do Sul, com foco nas ocorrências em usinas hidrelétricas a partir de publicações, registros de adultos e larvas, e detecção molecular de estágios larvais, aclarando qual o impacto ao setor elétrico e alertando para as perspectivas futuras.

Materiais e Métodos

Para a coleta de dados, levantaram-se ocorrências de *L. fortunei* através de referências bibliográficas na América do Sul, desde 1991 até os dias atuais. No Brasil, realizou-se prospecção de adultos e larvas entre 2008 e 2010 nas bacias hidrográficas do Rio Amazonas, Rio Araguaia Tocantins, do Atlântico Sul e Sudeste, Rio Paraná, do Atlântico Norte e Nordeste e Rio Uruguai. No total, foram 284 pontos avaliados (ver apêndice). Para prospecção de larvas, duas amostras de cada ponto foram coletadas utilizando rede de plâncton de 64 µm através de arrastos embarcados durante aproximadamente 4 minutos na menor velocidade da embarcação, ou em tubulações dentro de usinas filtrando aproximadamente 4.000 litros de água. As amostras foram fixadas em álcool 70% e analisadas em laboratório através de duas metodologias: sob microscópio estereoscópico, através de triagem convencional em placa de petri; e seguindo Pie *et al.* (2006) através de protocolo de detecção molecular de larvas de *L. fortunei*. Para prospecção de adultos realizaram-se vistorias em usinas hidrelétricas e rios. Além disto, foi realizado contato direto com Concessionárias de Energia Elétrica para busca de usinas hidrelétricas com ocorrência da espécie.

Adicionalmente, avaliou-se a capacidade de geração de energia elétrica comprometida devido à presença do mexilhão dourado em usinas hidrelétricas no Brasil e realizou-se uma predição de novas invasões em UHE's no prazo de um ano, levando em consideração que o mexilhão dourado, a partir de sua introdução na América do

Sul, expandiu sua distribuição a uma taxa de aproximadamente 240 Km/ano (Darrigran & Ezcurra de Drago 2000; Boltovskoy *et al.* 2006; Darrigran & Dreher Mansur 2009). Todas as UHE's distantes a 240 km ou menos, em linha reta, de um ponto de ocorrência, foram consideradas em risco de invasão no período de um ano. Belz *et al.* (2012) e Zhan *et al.* (2012) demonstraram que a dispersão por "saltos" mediada por vetores como embarcações, transporte de areia e piscicultura é a principal forma de propagação da espécie na América do Sul. Com base nestes dados, e considerando que *L. fortunei* tem o potencial de dispersar-se de um reservatório a outro através de vetores de dispersão, foi utilizado o critério de cálculo em linha reta entre usinas livres do mexilhão dourado e pontos de ocorrência.

Em algumas usinas, houve registro através de mais de um método, porém foi contabilizado apenas um, sendo que se existe publicação, esta foi utilizada. Nas demais, se há presença de adultos, este método foi adotado para registro e por último a detecção molecular de larvas. A única exceção foi a UHE Itá, na qual a ocorrência de *L. fortunei* foi publicada por Agudo-Padrón & Porto Filho (2013), porém, neste trabalho, foi detectada sua presença na usina em 2009.

Resultados

Do total de 284 pontos avaliados e vistoriados (Apêndice A, Apêndice B), 183 apresentaram ocorrência de *L. fortunei* (Apêndice A; Figura 1), sendo 160 registros oriundos de publicações, um através de visualização direta de adultos, 16 de comunicação pessoal e seis de prospecção molecular de larvas. O ponto de máxima expansão do mexilhão dourado ao norte foi publicado por Darrigran & Damborenea (2009) para a região de Cáceres, Bacia Hidrográfica do Rio Paraná, Mato Grosso, Brasil. Ainda não existem registros de ocorrência da espécie na Bacia Amazônica. Em usinas hidrelétricas, o ponto de máxima expansão ao norte é a UHE São Simão, localizada no Rio Paranaíba, Bacia Hidrográfica do Rio Paraná.

Das 197 UHE's (≥ 30 MW) em operação no Brasil, 36 apresentam ocorrência de *L. fortunei*. Dessas, 31 estão distribuídas na bacia hidrográfica do Rio Paraná, ou seja 86%, e cinco na bacia hidrográfica do Rio Uruguai, ou seja 14%, totalizando 34.880,7MW de capacidade de geração de energia hidrelétrica (Tabela 1).

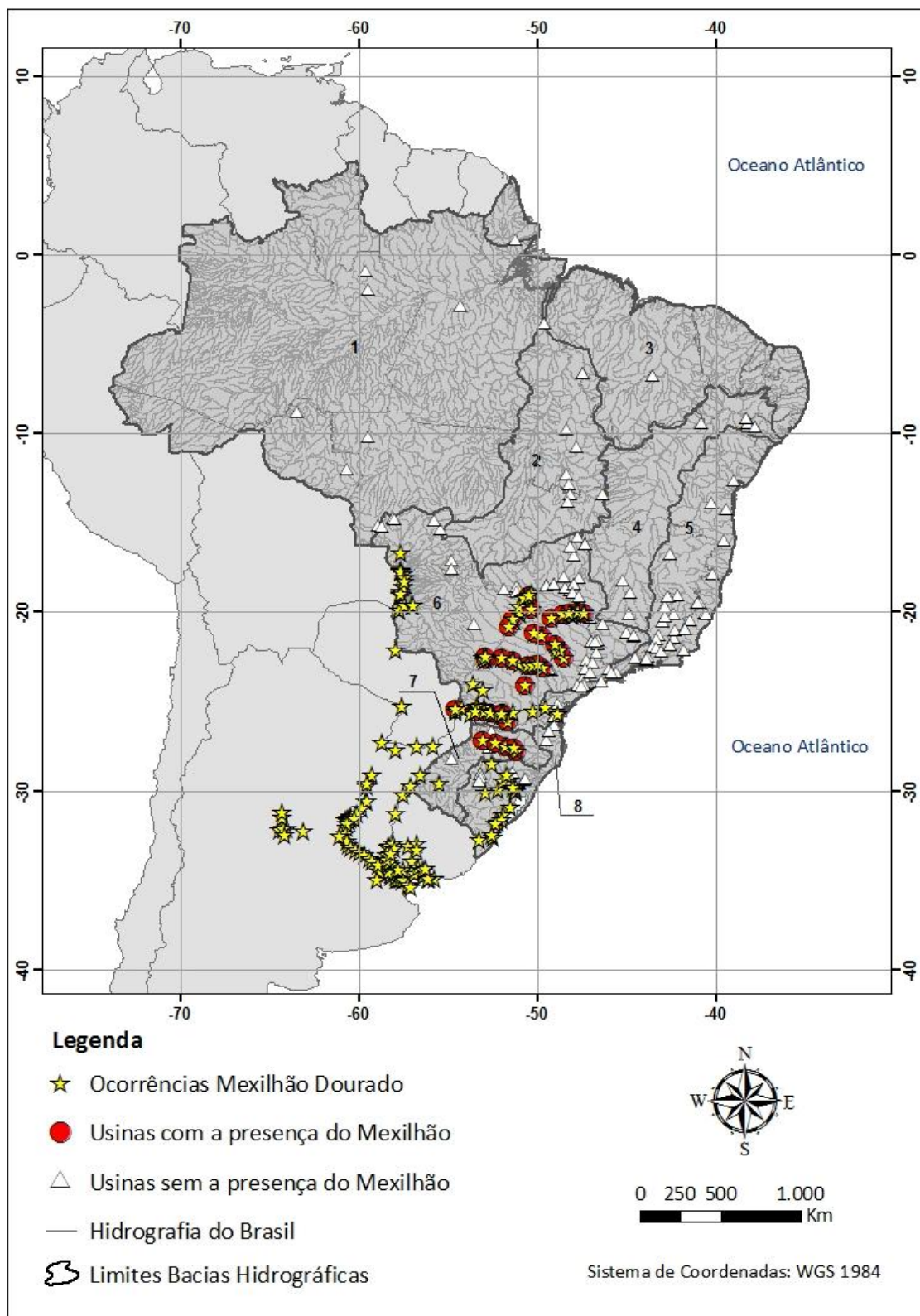


Figura 1. Panorama atual da distribuição do mexilhão dourado na América do Sul, com destaque para as ocorrências em usinas hidrelétricas brasileiras. 1. Bacia do Rio Amazonas; 2. Bacia do Tocantins Araguaia; 3. Bacia do Atlântico Norte Nordeste; 4. Bacia do Rio São Francisco; 5. Bacia do Atlântico Leste; 6. Bacia dos Rios Paraná Paraguai; 7. Bacia do Uruguai; 8. Bacia do Atlântico Sul e Sueste.

Tabela 1. Ocorrências de *Limnoperna fortunei* em usina hidrelétricas no Brasil, com suas respectivas localizações e método de detecção.

Detecção	Usina (UHE)	Latitude	Longitude	Estado	Bacia	Capacidade MW	Impactos à UHE	Método de detecção ¹	Referência
2001	Itaipu	-25,408253	-54,589173	PR	Rio Paraná	7000,0	Sim	PB	Zanella & Marenda 2002
2003	São Simão	-19,019345	-50,500216	MG/GO		1710,0	Sim	PB	Darrigran & Damborenea 2009
	Porto Primavera	-22,477972	-52,956106	SP/MS		1540,0	Sim	PB	Darrigran & Damborenea 2009
2004	Jupiaá	-20,775833	-51,626667	SP/MT		1551,2	Sim	PB	Rolla <i>et al.</i> 2004 <i>apud</i> Von Rukert <i>et al.</i> 2004
	Rosana	-22,602222	-52,872778	SP/PR		372,0	Sim	PB	Avelar <i>et al.</i> 2004
	Barra Bonita	-22,519823	-48,534809	SP		140,8	Sim	PB	Darrigran & Damborenea 2009
	Ilha Solteira	-20,381690	-51,364674	SP/MG		3444,0	Sim	PB	Von Rukert <i>et al.</i> 2004
2005	Bariri	-22,153819	-48,753469	SP		136,8	Sim	PB	Pareschi <i>et al.</i> 2008
	Ibitinga	-21,758056	-48,991389			131,5	Sim	PB	Pareschi <i>et al.</i> 2008
	Promissão	-21,296111	-49,783056			264,0	Sim	AD	Comunicação Pessoal - AES Tietê
	Avanhandava	-21,118889	-50,201111			347,4	Sim	AD	Comunicação Pessoal - AES Tietê
2006	Salto Caxias	-25,542018	-53,501454	PR		1240,0	Sim	PB/AD/ML	Belz <i>et al.</i> 2012
2007	Sato Segredo	-25,792778	-52,113721			1260,0	Não	PB/ML	Mäder Netto 2011
	Chavantes	-23,128889	-49,731667	SP/PR		414,0	Sim	PB	Mäder Netto 2011
	Capivara	-22,660278	-51,358056			619,0	Sim	PB	Mäder Netto 2011
	Taquaruçu	-22,544444	-52,000556			525,0	Sim	PB	Mäder Netto 2011
	Canoas I	-22,941111	-50,517222			80,0	Sim	PB	Mäder Netto 2011
	Canoas II	-22,938333	-50,250833			72,0	Sim	PB	Mäder Netto 2011
	Salto Grande	-22,901667	-49,996667			73,8	Sim	PB	Mäder Netto 2011
2009	Itá	-27,276711	-52,382161	RS/SC	Rio Uruguai	1450,0	Sim	PB/AD	Agudo-Padrón & Porto Filho 2013
2011	Salto Osório	-25,535586	-53,009253	PR	Rio Paraná	1078,0	Sim	AD	Este estudo
	Santa Clara	-25,647778	-51,953611			120,0	Não	ML	Este estudo
	Marimbondo	-20,301111	-49,196667	SP/MG		1440,0	Sim	AD	Este estudo - Comunicação Pessoal-- Furnas
	Porto Colombia	-20,126057	-48,572249			319,2	Sim	AD	Este estudo - Comunicação Pessoal - Furnas
	Volta Grande	-20,034431	-48,222989			380,0	Sim	AD	Este estudo - Comunicação Pessoal - Cemig
	Igarapava	-19,983333	-47,750000			210,0	Sim	AD	Este estudo - Comunicação Pessoal - Cemig

	Jaguara	-20,025833	-47,434722			424,0	Sim	AD	Este estudo - Comunicação Pessoal - Cemig
2012	Machadinho	-27,527417	-51,789600	RS/SC	Rio Uruguai	1140,0	Sim	PB	Agudo-Padrón & Porto Filho 2013
	Barra Grande	-27,777406	-51,188389			690,0	Sim	PB	Agudo-Padrón & Porto Filho 2013
2013	Foz do Chapecó	-27,139444	-53,047222			855,0	Sim	AD	Este estudo - Comunicação pessoal - Foz do Chapecó
	Salto Santiago	-25,650000	-52,616667	PR	Rio Paraná	1420,0	Não	ML	Este estudo
	Foz do Areia	-26,083333	-51,650000			1676,0	Não	ML	Este estudo
	Fundão	-25,708611	-51,998056			120,0	Não	ML	Este estudo
	Água Vermelha	-19,851111	-50,345556	SP/MG		1396,0	Sim	AD	Este estudo - Comunicação Pessoal - AES Tietê
	Mauá	-24,062220	-50,706390	PR		361,0	Não	ML	Este estudo
2014	Campos Novos	-27,601667	-51,316944	SC	Rio Uruguai	880,0	Sim	AD/ML	Este estudo - Comunicação Pessoal - Enercan
	Total					34880,7			

¹Métodos de detecção de *Limnoperna fortunei*: (PB) publicação; (AD) Presença de adulto; (ML) detecção molecular de larvas.

Na bacia hidrográfica do Rio Paraná foi registrada ocorrência do mexilhão dourado em usinas hidrelétricas desde 2001, na UHE Itaipu (Zanella & Marenha 2002) e o novo registro mais recente ocorreu em 2013 na UHE Fundão, através de detecção molecular de larvas. Já na bacia do Rio Uruguai, a primeira detecção em usina hidrelétrica no Brasil ocorreu apenas em 2009, na UHE Itá, através de detecção de um indivíduo juvenil, neste mesmo ponto houve publicação da ocorrência da espécie em 2011 (Agudo-Padrón & Porto Filho 2013). O registro novo mais recente ocorreu em 2014 na UHE Campos Novos, através de detecção molecular de larvas e comunicação pessoal (Com. Pessoal – Enercan¹) (Figura 2).

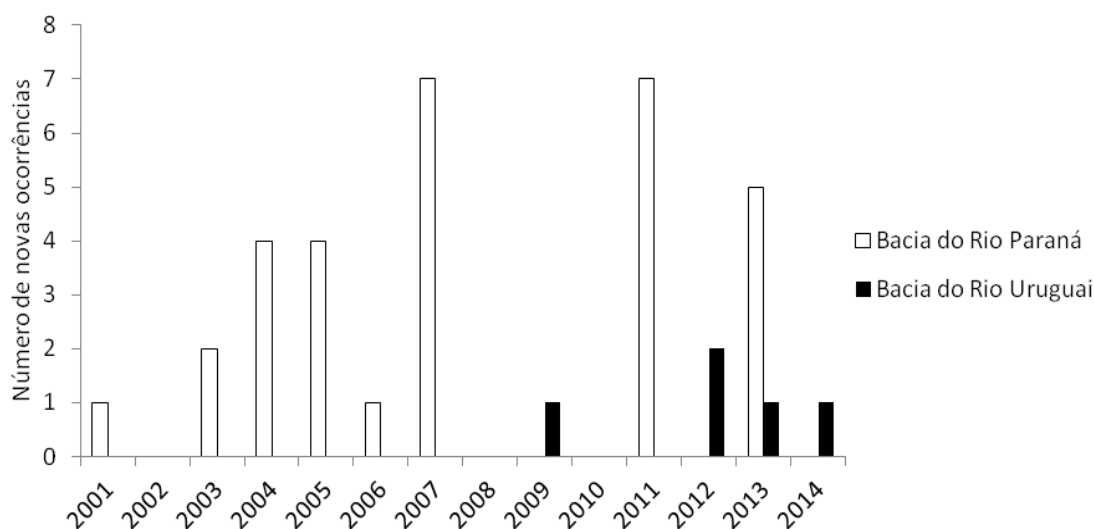


Figura 2. Número de novas ocorrências de *Limnoperna fortunei* em usinas hidrelétricas nas bacias hidrográficas do Rio Paraná e Uruguai, entre 2001 e atualmente.

Desde a primeira ocorrência do mexilhão dourado em usinas hidrelétricas no Brasil, 13 registros partiram de publicações, um de visualizações de adulto, 16 de comunicações pessoais e seis através de detecção molecular de larvas (Figura 3). A UHE Salto Caxias tem registro oriundo de publicação (Belz *et al.* 2012), porém também ocorreu a visualização de adultos e a detecção de larvas através de equipamento óptico e detecção molecular de larvas. Para a UHE Salto Osório a detecção ocorreu tanto por visualização de adultos e detecção de larvas através de equipamento óptico, quanto por detecção molecular de larvas. A presença do mexilhão dourado na UHE Itá, em 2013, foi publicada por Agudo-Padrón & Porto Filho (2013), porém a detecção de indivíduo juvenil no plâncton através de equipamento óptico ocorreu anteriormente, em 2009. Na UHE Segredo a ocorrência foi publicada por Mäder Netto (2011), porém a espécie também foi registrada através da detecção molecular de larvas. Para a UHE Campos Novos houve registro por comunicação pessoal e detecção molecular de larvas.

Cabe destacar que nem todas as usinas hidrelétricas com ocorrência do mexilhão dourado já apresentam impactos em seus sistemas de resfriamento. Nessas, foi registrada a presença apenas de larvas, não sendo encontradas populações adultas estabelecidas. É o caso das UHE's Segredo, Foz do Areia, Salto Santiago, Santa Clara, Fundão e Mauá. Ainda, algumas usinas hidrelétricas apresentaram o registro de larvas através de detecção

¹ Campos Novos Energia S.A.

molecular, porém a ocorrência não se manteve, e neste caso a invasão do mexilhão dourado não foi considerada efetivada, é o caso das UHE's Capivari, Pitangui, São Jorge e Vossoroça, localizadas no Estado do Paraná.

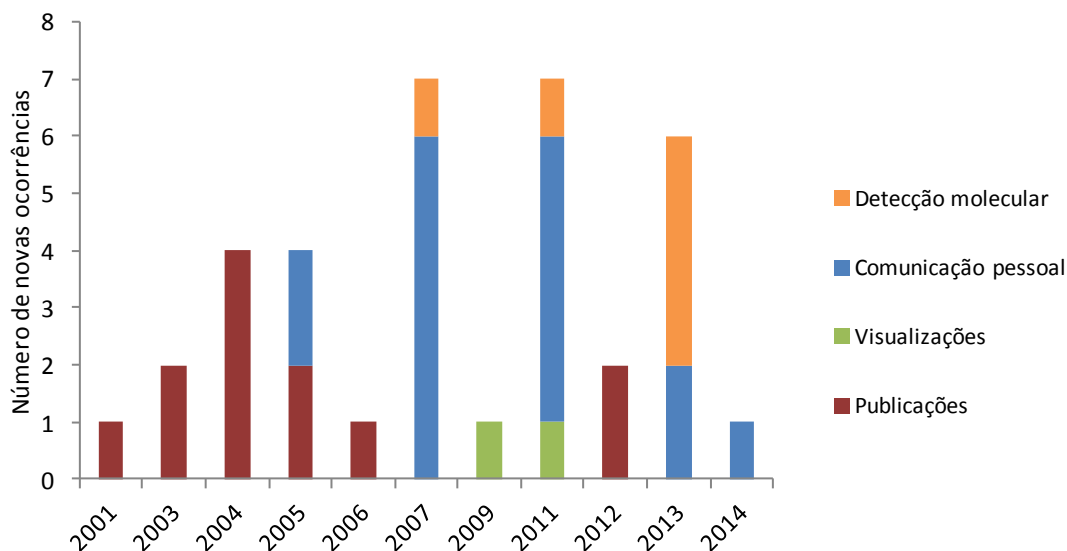


Figura 3. Número de novas ocorrências de *Limnoperna fortunei* em usinas hidrelétricas obtidas através de publicações, vistorias, comunicação pessoal e detecção molecular de larvas.

Das usinas hidrelétricas brasileiras que ainda não apresentam ocorrência de *L. fortunei*, 52 foram consideradas em risco de invasão no prazo de um ano (Tabela 2). Estas estão distribuídas em sete Estados brasileiros, e nas bacias hidrográficas do Rio Paraná, do Rio Uruguai, do Atlântico Sul e Sudeste e do Rio Amazonas. Destaca-se a bacia do Rio Paraná com a maior quantidade de UHE's em risco de invasão, totalizando 32 usinas. A bacia hidrográfica do Atlântico Sul e Sudeste já apresenta ocorrência de *L. fortunei* em rios (Apêndice I), porém, nenhuma usina hidrelétrica dessas bacia encontra-se invadida.

As bacias hidrográficas do Atlântico Sul e Sudeste e do Rio Amazonas apresentam potencial risco de invasão, uma vez que possuem usinas hidrelétricas a uma distância ≤ 240 km de um ponto de ocorrência. Destaca-se a UHE Guaporé, localizada na bacia hidrográfica do Rio Amazonas, distante aproximadamente 170 km da região de Cáceres, já invadida pelo mexilhão dourado (Darrigran & Damborenea 2009), localizada na bacia hidrográfica do Rio Paraná.

Do total de usinas hidrelétricas no Brasil, aproximadamente 18% apresentam ocorrência e 26% em risco de invasão, respectivamente 34.880,7 MW e 14.009,65 MW. Somando-as, totalizam 44% das usinas hidrelétricas brasileiras e aproximadamente 56% da potência instalada.

Tabela 2. Predição da invasão de usinas hidrelétricas por *Limnoperna fortunei*/ano no Brasil.

Usina	Latitude	Longitude	Distância mais próxima de ponto com ocorrência (Km)	Estado	Bacia	Capacidade MW
Ourinhos	-23,0684420	-49,8380670	10	PR/SP	Rio Paraná	44
Jurumirim	-23,2094440	-49,2300000	48	SP		97,75
Parapanema	-23,1869440	-49,3838890	35			31,5
Pirajú	-23,1544440	-49,3800000	35			70
Três Irmãos	-20,6686390	-51,2999810	32			1292
Itupararanga	-23,6125000	-47,3969440	160			55
Americana	-22,6990280	-47,2841670	125			55
Euclides da Cunha	-21,6030560	-46,9491670	195			108,8
Limoeiro	-21,6252780	-47,0094440	180			32
Caconde	-21,5766670	-46,6241670	185			80,4
Estreito Marechal Mascarenha Moraes	-20,1505560	-47,2794440	240	SP/MG		1050
Furnas	-20,2877780	-47,0661110	45	MG		492,1
Amador Aguiar I	-20,6647220	-46,3202780	137			1216
Amador Aguiar II	-18,7902780	-48,1472220	165			240
Miranda	-18,6597220	-48,4352780	160			210
Nova Ponte	-18,9122220	-48,0413890	125			408
Cachoeira Dourada	-19,1330560	-47,6936110	100			510
Itumbiara	-18,5025000	-49,4930560	105	MG/GO		658
Emborcação	-18,4236110	-49,1183330	150			2082
Corumbá I	-18,4519310	-47,9859390	180			1192
Serra do Falcão	-17,9892830	-48,5310280	230	GO		375
Salto do Rio Verdinho	-18,0666670	-47,6666670	215			210
Salto Eng ^o José Muller de Godoy Pereira	-19,1455560	-50,7672220	35			93
Barra dos Coqueiros	-18,8083330	-51,1694440	75			116
Caçu	-19,1177780	-50,6455560	25			68,4
Espora	-18,7233330	-51,0030560	60			90
Jauru	-18,5294440	-51,1500000	85			65
Juba I	-18,6758330	-51,8655560	150			32
Juba II	-15,2355560	-58,7277780	135	MT		121,5
Manso	-14,7483330	-58,0738890	150			42
Jacuí	-14,7561110	-58,0230560	150			42
Passo Real	-14,8744440	-55,7858330	240			210
Dona Francisca	-29,0735140	-53,2089720	90	RS	Rio Uruguai	180
Itaúba	-29,0166670	-53,1833330	90			158
Monte Claro	-29,4496140	-53,2856670	110			125
Castro Alves	-29,2607190	-53,2358830	120			512,4
14 de Julho	-29,0302780	-51,5205560	55			130
Canastra	-29,0083330	-51,3791670	70			130
São José	-29,0647530	-51,6749420	50			100
	-29,3934420	-50,7464940	60			44,8
	-28,1800000	-54,8250000	215			51

Monjolinho	-27,3455560	-52,7311110	30			67
Passo Fundo	-27,5500000	-52,7333330	45			220
Quebra Queixo	-26,6500000	-52,5333330	65	SC		120
Salto Pilão Governador Parigot de Souza	-27,1166670	-49,5000000	160		Atlântico Sul e Sudeste	182
Guaricana	-25,1386500	-48,8738280	160	PR		260
Salto do Iporanga	-25,7160000	-48,9830000	145			36
Alecrim	-24,0997220	-47,7202780	185	SP		36
Barra	-24,0813890	-47,5066670	195			72
Fumaça	-24,0241670	-47,3555560	200			40
Guaporé	-24,0075000	-47,2638890	203			36
Guaporé	-15,1238890	-58,9647220	170	MT	Rio Amazonas	120
Total						14.009,65

Discussão

A Bacia Amazônica ainda não apresenta registro do mexilhão dourado. A região é pouco estudada para esta finalidade e, por esta razão, a falta de registro não implica necessariamente na ausência da espécie. Entretanto, a chegada do mexilhão dourado na Região Amazônica deverá promover sérios impactos ambientais e econômicos, e sua ocorrência certamente não passará despercebida. O mexilhão dourado é considerado um “engenheiro de ecossistemas”; pode criar novos habitats, facilitando a colonização de novas espécies previamente ausentes; altera a riqueza de espécies e composição de comunidades de macro-invertebrados bentônicos; prejudica outras espécies de bivalves ao se fixar sobre suas conchas dificultando sua alimentação; passa a ser uma fonte de alimento e suas altas densidades favorecem muitas espécies de peixes, alterando a cadeia alimentar; e, finalmente, por serem filtradores, modificam o ambiente, influenciando por exemplo a disponibilidade de oxigênio e a transparência da água (Darrigran & Damborenea 2005, Darrigran & Damborenea 2011, Uliano-Silva *et al.* 2013). Dentre outras áreas da Bacia Amazônica, a sub-bacia do Araguaia-Tocantins é especialmente crítica pois apresenta um elevado potencial hidrelétrico e introdução da espécie trará inevitavelmente prejuízos extensos e intensos ao setor elétrico da região (Uliano-Silva *et al.* 2013). As usinas hidrelétricas em operação na região são: UHE Tucuruí (4.200 MW), UHE Serra da Mesa (1.275 MW), UHE Luis Eduardo Magalhães - Lajeado (903 MW), UHE Cana Brava (472 MW) e UHE Peixe Angical (452 MW), além de outras (ANEEL 2014).

Segundo ANEEL (2014), 63,16% de toda a energia produzida no Brasil provem de usinas hidrelétricas, ou seja 86.625,95 MW. Se considerarmos que 34.880,7 MW somam a potência instalada de usinas com ocorrência do mexilhão dourado e 14.009,65 MW das usinas em risco de invasão no prazo de um ano, temos em torno de 56% da capacidade hidrelétrica do Brasil comprometida, caso ações de prevenção e métodos de controle do mexilhão dourado não sejam implementadas imediatamente.

A construção de barragens e a formação de reservatórios criam não apenas um ambiente favorável para o estabelecimento do mexilhão dourado, mas também atraem atividades de recreação, pesca e eventos náuticos, os quais são considerados vetores de introdução e dispersão do mexilhão dourado (Belz *et al.* 2012). Um exemplo da influencia de atividades esportivas e recreativas sobre a dispersão e estabelecimento do mexilhão dourado é o reservatório de Rio Tercero, na Argentina. Nesse reservatório, o mexilhão dourado foi registrado no ano de 2000

e drena para o Rio Paraná através do Rio Tercero-Caracarañá, o qual não é navegável. Porém, o reservatório é um destino turístico para passeios de barco e pesca, e foi provavelmente através de barcos vindos de áreas de ocorrência, que a espécie foi introduzida na região (Karatayev *et al.* 2007).

Se considerarmos ainda os prejuízos que o mexilhão dourado potencialmente pode gerar a outras fontes de geração de energia que utilizam água para a própria geração e para resfriamento de equipamentos, como as pequenas centrais hidrelétricas (PCH), as usinas termelétricas (UTE) e as usinas termonucleares (UTN), os impactos serão imprevisíveis.

A extensa bibliografia a respeito da infestação ocorrida na América do Norte pelas espécies *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra) e *Dreissena bugensis* (mexilhão quagga), cita conseqüências e prejuízos causados por esses moluscos (Claudi 1995, Kerley *et al.* 2000, Drake & Bossenbroek 2004). Os danos econômicos associados com espécies exóticas invasoras nos Estados Unidos são de aproximadamente US \$ 120 bilhões / ano, sendo cerca de US\$ 1 bilhão por ano, apenas para monitorar e controlar o mexilhão zebra (Pimentel *et al.* 2005). Embora em muito menor quantidade, a literatura de origem asiática ou Argentina, referente a infestações provocadas pelo *L. fortunei*, nos mostram que os impactos econômicos causados por esta espécie são muito semelhantes aos causados por *D. polymorpha* (Matsui *et al.* 2002, Brugnoli & Clemente 2002, Cataldo *et al.* 2002). Uma usina hidrelétrica de 120MW com problema de incrustação, pode ter o prejuízo de até R\$ 40.000,00 (cerca de US\$ 17.700,00) por dia de máquina parada, sem considerar valores com mão de obra e materiais para limpeza (Mäder Netto 2011).

A partir do desenvolvimento do marcador molecular para detecção de larvas de *L. fortunei*, várias ocorrências foram registradas através desta metodologia, sendo que cinco usinas hidrelétricas brasileiras apresentam registro apenas de larvas. Esta detecção precoce permite o desenvolvimento de ações para prevenir os sistemas de resfriamento dos impactos da incrustação do mexilhão dourado. Diversos estudos têm sido executados com o objetivo de desenvolver metodologias de controle do mexilhão dourado em UHE's utilizando métodos físicos (Kowalski 2008), injeção de produtos químicos, aplicação de biocida, entre outros (e.g. Caprari 2006, Pereyra *et al.* 2011, Santos 2011). É importante salientar que, com as metodologias existentes hoje para o controle da incrustação do mexilhão dourado nos sistemas de resfriamento de usinas hidrelétricas, a eficiência de se prevenir a incrustação é muito maior do que controlá-lo após atingir elevadas densidades.

A partir dos dados obtidos sobre a distribuição do mexilhão dourado, fica evidente a importância de ações de prevenção à sua introdução em regiões ainda não invadidas. Através de intensos programas de divulgação e educação ambiental (Darrigran *et al.* 2008), aliados ao conhecimento dos vetores de dispersão em cada região, é possível retardar o processo de introdução e invasão do mexilhão dourado.

Nos locais de ocorrência de *L. fortunei* e nas regiões de invasão iminente, é essencial o monitoramento da espécie, que pode ser inserido em programas de monitoramento de qualidade da água e ictiofauna em reservatórios. Em especial nas regiões industriais ainda não afetadas, o monitoramento do mexilhão dourado e sua detecção precoce permitem o desenvolvimento de ações para prevenir os impactos de sua proliferação. O controle do mexilhão dourado dentro de sistemas industriais deve ser realizado com muita cautela. Além de avaliar a eficiência das metodologias, é essencial acompanhar seus impactos tanto ao ambiente quanto aos materiais presentes dentro dos sistemas. Biocidas e produtos químicos, além de controlar o mexilhão dourado, acabam atingindo outros organismos, e sua utilização deve ser avaliada e ponderada caso a caso. Processos

corrosivos em aço e desgaste de borrachas de vedação podem ainda ocorrer em contato com alguns produtos químicos, em especial produtos à base de cloro.

Em sistemas fechados, os subprodutos formados na utilização de produtos químicos, ou mesmo os efeitos nocivos a outros organismos são evitados, uma vez que não são liberados ao meio ambiente. A implantação do sistema fechado deve ser levada em consideração em projetos de novas usinas, principalmente as que serão construídas em áreas de ocorrência ou próximas a elas.

Agradecimentos

À Companhia Paranaense de Energia – COPEL, à Tractebel Energia, à Eletronorte, e demais Concessionárias de Energia com as quais foram realizados serviços e/ou projetos de P&D regulamentados pela Agência Nacional de Energia Elétrica – ANEEL e que forneceram dados para o desenvolvimento desta pesquisa. A todas as Concessionárias de Energia que forneceram dados sobre a ocorrência do mexilhão dourado. Ao Lucas de Pelli Senes e Mariana Andreotti Dias, pela confecção do mapa de distribuição do mexilhão dourado.

Referências

- Aneel (2014) BIG - Banco de Informações de Geração. <http://www.aneel.gov.br/aplicacoes/capacidadebrasil/capacidadebrasil.cfm>.
- Agudo-Padrón AI, Porto Filho E (2013) The Asiatic Golden Mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), in the Upper Uruguay River Basin, Southern Brazil: Current Situation to one year of its Regional Discovery. *Ellipsaria* 15(2): 31-35.
- Avelar WEP, Martim SL, Vianna MP (2004) A new occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1856) (Bivalvia, Mytilidae) in the State of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Biol.* 64(4): 739-742.
- Belz CE, Darrigran G, Netto OSM, Boeger WA, Junior PJR (2012) Analysis of four dispersion vectors in Inland Waters: the case of the invading bivalves in South America. *Journal of Shellfish Research* 31: 777–784, <http://dx.doi.org/10.2983/035.031.0322>
- Boeger W, Pie MR, Falleiros RM, Ostrensky A, Darrigran G, Dreher Mansur MC, Belz CE (2007) Testing a molecular protocol to monitor the presence of golden mussel larvae (*Limnoperna fortunei*) in plankton samples. *Journal of Plankton Research* 29(11): 1015-1019.
- Boltovskoy D, Correa N, Cataldo D, Sylvester F (2006). Dispersion and ecological impact of the invasive freshwater bivalve *Limnoperna fortunei* in the Rio de la Plata watershed and beyond. *Biological Invasions*, vol 8, p. 947–963.
- Brugnoli E, Clemente JM (2002) Los moluscos exóticos en la Cuenca del Plata: su potencial impacto ambiental y económico. Sección Limnología. Facultad de Ciencias. Universidad de la República Oriental del Uruguay.
- Brugnoli E, Clemente J, Boccardi L, Borthagaray A, Scarabino F (2005) Golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) distribution in the main hydrographical basins of Uruguay: updates and predictions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 77(2): 235-244.
- Burns MDM, Geraldi RM, Garcia AM, Bemvenuti CE, Capitoli RR, Vieira JP (2006) Primeiro registro de ocorrência do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* na Bacia de Drenagem da Lagoa Mirim, RS, Brasil. *Biociências* 14(1): 83-84.
- Caprari J (2006) Pinturas antiincrustantes. In: Darrigran G, Damborenea C (Eds.), 1ª ed, Bio-Invasión del mejillón dorado en el Continente Americano, Universidade Nacional de La Plata, 2006, pp181-211.
- Cataldo D, Boltovskoy D, Pose M (2002) Control del molusco incrustante *Limnoperna fortunei* mediante el agregado de moluscicidas al agua. In: Tercera jornada sobre conservación de la fauna íctica en el rio Uruguay, Paysandu, Uruguay.
- Claudi R (1995) Zebra mussel mitigation; Overview. In. Proceedings of the Fifth International Zebra Mussel and Other Aquatic Nuisance Organisms Conference, Toronto, Canada. pp. 47-55.
- Clemente J, Brugnoli E (2002) First record of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in continental waters of Uruguay (Río Negro and Río Yí Rivers). *Bol Soc Zool Uruguay* 13: 29-33.

- Darrigran G (2002) Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland fresh water environments. *Biological Invasions* 4: 145–156, <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020521811416>.
- Darrigran G, Boeger W, Damborenea CI, Maroñas MI (2009) Evaluation of sampling and analysis techniques for early detection of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in limit areas of its distribution. *Brazilian Journal of Biology* 69(3): 979-980. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842009000400029>.
- Darrigran G, Damborenea C (2005) A South American bioinvasion case history: *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857), the golden mussel. *Amer. Malac. Bull.*, 20, 105-112.
- Darrigran G, Damborenea C (2009) Características da espécie. In: Introdução a Biologia das Invasões. O mexilhão-dourado na América do Sul: biologia, dispersão, impacto, prevenção e controle, São Carlos, Cubo Editora, 246 pp.
- Darrigran G, Damborenea C (2011) Ecosystem engineering impacts of *Limnoperna fortunei* in South America. *Zoolog. Sci* 28:1–7.
- Darrigran G, Damborenea C, Drago EC, Ezcurra de Drago I, Paira A, Archuby F (2012) Invasion process of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae): the case of Uruguay River and emissaries of the Esteros del Iberá Wetland, Argentina. *Zoologia (Curitiba)* 29(6): 531-539, <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-46702012000600004>.
- Darrigran G, Damborenea C, Greco N (2007) Freshwater invasive bivalves in man-made environments: A case study of larvae biology of *Limnoperna fortunei* in a Hydroelectric Power Plant in South America. *Ambio* 36: 575–579.
- Darrigran G, Dreher Mansur MC (2009) Introdução e dispersão do *Limnoperna fortunei*. In “Introdução a Biologia das Invasões. O Mexilhão Dourado na América do Sul: biologia, dispersão, impacto, prevenção e controle” Ed. G Darrigran, C Damborenea, Cubo Editora, São Carlos, pp 89–110.
- Darrigran G, Ezcurra de Drago I (2000) Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. *The Nautilus* 114(2): 69-73.
- Darrigran G, Pastorino G (1995) The recent introduction of a freshwater asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South América. *The Veliger* 38(2): 171-175.
- Darrigran G, Vilches A & Legarralde T (2008) Desinterés del Pasado, Decisiones del Futuro: Educación para prevenir las invasiones biológicas. *Revista Educación en Biología*, 11(1):39-52.
- Di Persia DH, Bonetto AA (1997) Nuevas citas de *Limnoperna fortunei* para la cuenca del rio Paraná, Argentina. *Neotropica* 43(109-110): 119-120.
- Drake J, Bossenbroek J (2004) The potential distribution of zebra mussels in the United States. *BioScience* 54: 931-941. [http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054%5B0931:TPDOZM%5D2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054%5B0931:TPDOZM%5D2.0.CO;2)
- Garcia DAZ, Orsi ML, Casimiro ACR, Kurcheski G (2009) Registro de ocorrência de *Limnoperna fortunei* no médio e baixo Paranapanema: uma ameaça as suas águas. Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil, 13 a 17 de Setembro de 2009, São Lourenço – MG.
- Ituarte CF (1997) *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) em la costa uruguaya del Rio de la Plata. *Neotropica* 43(109-110): 117-118.
- IUCN (2000) Guidelines for the prevention of biodiversity loss caused by alien invasive species. In: 51st Meeting of the IUCN Council, Gland Switzerland.
- Karatayev AY, Boltovskoy D, Padilla DK, Burlakova LE (2007) The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts. *Journal of Shellfish Research* 26(1): 205–213.

- Kerley B, Brodie G, Helton B (2000) Hydro plant interim zebra mussel control strategy. Public Power Institute Study Closure Report 97026, Tennessee Valley Authority. Knoxville, Tennessee.
- Kowalski EL, Kowalski SC (2008) Revisão sobre métodos de controle do mexilhão dourado em tubulações. Revista Produção on-line, 8(2). <http://dx.doi.org/10.14488/1676-1901.v8i2.119>.
- Langone JA (2005) Notas Sobre El Mejillón Dorado *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857) (BIVALVIA, MYTILIDAE) en Uruguay. Publ. Extra mus. Nac. Hist. Nat. Antropol. (Montev., En Línea) Número 1.
- Lima LL, Querol E, Oliveira EV (2008) Ocorrência de *Limnoperna fortunei* (Dunker,1857) (Mollusca, Mytilidae) No Rio Quaraí, município de Barra do Quaraí, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biodiversidade Pampeana* 6(1): 50-52.
- Mäder Netto OS (2011) Controle da incrustação de organismos invasores em materiais de sistemas de resfriamento de usinas hidrelétricas. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais – PIPE.
- Mansur MCD, Pereira D (2006) Bivalves límnicos da bacia do rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Unionoidea, Veneroidea e Mytiloidea). *Revista Brasileira de Zoologia* 23 (4) 1123-1147.
- Mansur MCD, Santos CP, Darrigran G, Heydrich I, Callil CT, Cardoso FR (2003) Primeiros dados qualitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (DUNKER), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia* 20 (1): 75-84.
- Matsui Y, Nagaya K, Funahashi G, Goto Y, Yuasa A, Yamamoto H, Ohkawa K, Magara Y (2002) Effectiveness of antifouling coatings and water flow in controlling attachment of the nuisance mussel *Limnoperna fortunei*. *Biofouling* 18(2): 137-148. <http://dx.doi.org/10.1080/08927010290032395>.
- Oliveira M (2003) Ocorrência e Impactos do Mexilhão Dourado (*Limnoperna fortunei*, Dunker 1857) no Pantanal Mato-Grossense. Circular Técnica, 38, EMBRAPA.
- Oliveira MD, Pellegrin LA, Barreto RR, Santos CL, Xavier IG (2004) Área de Ocorrência do Mexilhão Dourado (*Limnoperna fortunei*) na Bacia do Alto Paraguai, entre os anos de 1998 e 2004. Documento 64, EMBRAPA.
- Oliveira MD, Takeda AM, Barros LF (2006) Invasion by *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) of the Pantanal wetland, Brazil. *Biological Invasions* 8: 97–104. <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-005-0331-0>.
- Pareschi DC, Matsumura-Tundisi T, Medeiros GR, Luzia AP, Tundisi JG (2008) First occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) in the Rio Tietê watershed (São Paulo State, Brazil). *Brazilian Journal of Biology* 68(4): 1107-1114. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842008000500017>.
- Pastorino G, Darrigran G, Martin SM, Lunaschi L (1993) *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857) (Mytilidae), a new bivalve invading the waters of Rio de La Plata. *Neotropica La Plata*, 39: 101-102.
- Pereyra PJ, Bulus Rossini G and Darrigran G (2011) Toxicity of three commercial tannins to the nuisance invasive species *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): implications for control. *Fres Env Bull* 20: 1432-1437.
- Pestana D, Pie MR, Ostrensky A, Boeger WA, Andreoli C, Franceschi F, Lagos P (2008) Seasonal Variation in Larval Density of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) in the Iguaçú and Paraná Rivers, in the Region of Foz do Iguaçú, Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51 (3): 607-612.
- Pestana D, Ostrensky A, Tschá MK, Boeger WA (2010) Prospecção do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) nos principais corpos hídricos do estado do Paraná, Brasil. *Pap. Avulsos Zool.* (São Paulo) 50 (34): 553-559.

- Pie, MR, Boeger WA, Patella L, Falleiros RM (2006) A fast and accurate molecular method for the detection of larvae of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Mollusca: Mytilidae) in plankton samples. *J. Mollus. Stud* 72: 218– 219.
- Pimentel D, Zuniga R, Morrison D (2005) Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics*, 53(3): 273– 288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2004.10.002>.
- Ricciardi A, MacIsaac MJ (2000) Recent Mass Invasion of the North American Great Lakes by Ponto-Caspian species. *TREE* vol. 15. 62-65.
- Ruiz GM, Fofonoff PW, Carlton JT, Wonham MJ, Hines AH (2000) Invasion of coastal marine communities in North America: apparent patterns, processes, and biases. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 481–531. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.481>
- Santos CP (2011) Desenvolvimento de metodologia para controle das larvas de *Limnoperna fortunei* com o uso de radiação ultravioleta e seus impactos sobre *Microcystis aeruginosa* potencialmente presentes na água superficial. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ecologia.
- Scarabino F, Verde M (1994) *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) em la costa Uruguaya del rio de La Plata (Bivalvia; Mytilidae). *Com. Soc. Malac. Urug* 7(66-67): 374-375.
- Takeda AM, Mansur MCD, Fujita DS, Bibian JPR (2003) Ocorrência da espécie invasora de Mexilhão Dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) em dois pequenos reservatórios próximos a Curitiba, PR. *Acta Biológica Leopoldensia* 25(2).
- Uliano-Silva M, Fernandes FFCF, Holanda IBB, Rebelo MF (2013) Invasive species as a threat to biodiversity: The golden mussel *Limnoperna fortunei* approaching the Amazon River basin. In: “Exploring Themes on Aquatic Toxicology” Ed. Allodi S, Research Signpost, Kerala, India.
- Villar C, Mercado L, Capítulo AR, Bonetto C (1997) Presencia del molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia; Mytilidae) em el bajo Paraná. *Gayana Zool.* 61(2): 87-96.
- Von Rückert GB, Campos MCS, Rolla ME (2004) Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de Cyanobacteria. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 26 (4): 421-429. <http://dx.doi.org/10.4025/actascibiolsci.v26i4.1523>
- Walther, G. R. et al. 2009 Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends Ecol. Evol.* 24, 686 – 693. (doi:10.1016/j.tree.2009.06.008).
- Zanella O, Marenda LD (2002) Ocorrência de *Limnoperna fortunei* na Central Hidrelétrica de Itaipu. In: 5 Congresso Latinoamericano de Malacologia, São Paulo. Resumos. Instituto Butantan/Instituto de Biociências, USP, São Paulo, p. 41.
- Zhan A, Perepelizin PV, Ghabooli S, Paolucci E, Sylvester F, Sardiña P, Cristescu ME, MacIsaac HJ (2012) Scale-dependent post-establishment spread and genetic diversity in an invading mollusc in South America. *Diversity and Distributions* 18: 1042–1055. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-4642.2012.00894.x>

Apêndices

Apêndice A. Ocorrências de *L. fortunei* na América do Sul.

Detecção	País	Local	Ponto	Longitude	Latitude	Citação							
1991	Argentina	Rio da Prata	Balneário Bagliardi	-55,8160881836	-34,9161744767	Pastorino <i>et al.</i> 1993							
1993			Balneário Atalaya	-57,9827376216	-34,9995181538	Darrigran & Pastorino 1995							
			Punta Lara	-57,9827390639	-34,7995184420								
			Bagliardi	-57,8160728066	-34,9161841245								
			Punta Blanca	-57,6660738152	-34,9328500343								
			Atalaya	-57,5494075494	-34,9995160332								
			Magdalena	-57,5160743482	-35,0161825125								
			Punta Indio	-57,2327414816	-35,2495141161								
			Punta Piedras	-57,1327409104	-35,4328466894								
1994	Uruguai		Balneário Artilleros	-57,5327449189	-34,4495167883	Scarabino & Verde 1994							
			Playa Pascual	-56,4160844356	-34,7828442293								
1994/1995	Argentina		Cidade de Bernal	-58,2327381591	-34,6661865225	Darrigran & Ezcurra de Drago 2000							
			Retiro	-58,2327381591	-34,6661865225								
			Porto de Buenos Aires	-58,3660711016	-34,5828539600								
1995			Ilha Martim Garcia	-58,2494081185	-34,1828539841	Rumi <i>et al.</i> 1996 <i>apud</i> Darrigran & Damborenea 2009							
			San javier and Correntoso	-60,7494072958	-31,6662030163	Darrigran & Ezcurra de Drago 2000							
			Margem direita, Salado del Norte - Santo Tomé	-60,7494072958	-31,6662030163								
			Uruguai		Barrancas de San Pedro	-58,8494017242	-34,4661898209	Scarabino & Verde 1994					
					Arazatí (Departamento de San Jose)	-56,9160817580	-34,6161802285						
					Praias da cidade de Colonia del Sacramento	-57,8160763637	-34,4161848719						
			Argentina	Rio Paraná		Vuelta del Este, Zarate	-59,0160697776	-34,9952448480	Darrigran & Ezcurra de Drago 2000				
						Paso Burghi, Rosa	-60,6327326719	-32,9995338470					
			1996			Colorado	-56,1494189047	-34,9161760670	Brugnoli <i>et al.</i> 2005				
						Argentina	Medio Rio Paraná	Laguna setubal, perto de santa fé e arroyo el chueco		-60,5827424880	-31,5495357603	Di Persia & Bonetto 1997	
Lagunas San Pedro o Capón	-60,4660775489	-31,3995354634											
Santo Domingo o Leyes	-60,4660769228	-31,4995353019											
Setúbal o Guadalupe em toda sua extensão	-60,5827424880	-31,5495357603											
Colastine, Santa Fé - Salado infer, Coronda	-60,5827419619	-31,6328689620											
Portos das Diamante e rosá	-60,6494055136	-32,0495352971											
Confluência entre Paraná e Paraguai								Ilha Cerrito		-58,7161121207	-27,3328695209		Darrigran & Ezcurra de Drago 2000

		Rio Paraná	Proximo a cidade de Santa Fé	-60,4660767134	-31,5328685817	
		Baixo Rio Paraná	Cidade de Paraná, Arroyo Seco (25 Km abaixo de Rosá)	-60,5160752172	-31,7162018552	Villar <i>et al.</i> 1997
1997	Paraguai		Brazo Largo (sobre Paraná Guazú)	-58,6660739374	-33,8661898018	
			Assunção	-57,6327957770	-25,2828708022	Darrigran & Damborenea 2005
			Porto de Assunção	-57,6350179583	-25,2887041270	Darrigran & Ezcurra de Drago 2000
	Argentina	Rio Paraná	Campana	-59,2833333333	-29,1333333333	Di Persia & Bonetto 1997
			Entre Campana e Goya	-59,5294444400	-29,7602777800	
			Entre Campana e Goya	-59,5294444400	-29,6038888900	
			Entre Campana e Goya	-59,6052777800	-30,6016666700	
			Entre Campana e Goya	-59,5722222200	-30,6025000000	
			Entre Campana e Goya	-59,8300000000	-30,9783333300	
			Entre Campana e Goya	-60,0877777800	-31,2575000000	
			Entre Campana e Goya	-60,2811111100	-31,5688888900	
			Entre Campana e Goya	-60,6569444400	-31,8266666700	
			Entre Campana e Goya	-60,7213888900	-32,3850000000	
			Entre Campana e Goya	-60,6997222200	-32,8036111100	
			Entre Campana e Goya	-60,4850000000	-33,1366666700	
			Entre Campana e Goya	-60,2058333300	-33,3191666700	
			Entre Campana e Goya	-59,9802777800	-33,4694444400	
			Entre Campana e Goya	-59,7227777778	-33,6091666667	
			Entre Campana e Goya	-33,8022222222	-59,4541666667	
			Entre Campana e Goya	-59,2716666667	-33,9311111111	
			Goya	-58,9327366954	-34,1495240084	
1998		Alto Rio Paraná	Hidrelétrica de Yacyretá	-56,7327918387	-27,4828613457	Darrigran <i>et al.</i> 2002
	Brasil	Pantanal	Corumbá	-57,6494857409	-18,9828915583	Oliveira & Barros 2003
	Argentina	Alto Rio Paraná	Porto de Posadas	-55,8327981550	-27,5161911066	Darrigran & Ezcurra de Drago 2000
	Brasil	Delta do Rio Jacuí	Ilha do Chico Inglês	-51,2161546212	-30,0328326407	Mansur <i>et al.</i> 2003
			Canal da Pintada	-51,2494877671	-30,0161661532	
			Canal Formoso	-51,2494881091	-29,9494996847	
			Saco da Pólvora	-51,2494877671	-30,0161661532	
			Ilha do Serafim	-51,2661548101	-29,9161665154	
			Canal Maria Conga	-51,2328213225	-29,9994994712	
		Bacia do Alto Rio Paraguai	Baia do Tuiuiú	-57,6530973221	-18,8212255038	Oliveira <i>et al.</i> 2004
			Corumbá	-57,6550411449	-19,0203914345	
			Ladá	-57,5978192974	-19,0203912753	
			Porto Murtinho	-57,9330599740	-27,7253654479	

1999		Canal do Tamengo	-57,6666666700	-18,9833333300			
		Bela Vista	-57,6906005324	-17,6409523258			
		Baia do Castelo	-57,5355987938	-18,5878927263			
		Morraria Acurizal	-57,6639337854	-17,7306741303			
		Forte Coimbra	-57,7661488003	-19,8828886087			
		Pantanal	Baia do Tuiuiu	-57,6530973221		-18,8212255038	Oliveira <i>et al.</i> 2006
		Proximidades Forte Coimbra	-57,7783709116	-19,8923330549			
		Proximidades Bela Vista do Norte	-57,6953227436	-17,6340079206			
		Lago Castelo	-57,5661542141	-18,5662262246			
		Lago Tamengo	-57,6661710822	-18,9833333300			
Uruguai	Rio Yi	-56,8005560000	-33,2769600000	Clemente & Brugnoli 2002			
	Bacia do Rio Negro	Usina de Palmar	-57,2827558237	-33,1161845033	Brugnoli <i>et al.</i> 2005		
Brasil	Delta do Rio Jacuí, Lago Guaíba e Lagoa dos Patos	Arambaré	-51,4994810643	-30,8994979252	Mansur <i>et al.</i> 2003		
		São Lourenço	-51,9661415302	-31,3328319595			
2000	Uruguai	Bacia do AltoRio Paraguai	Porto Esperança	-57,4405963022	-19,5981664786	Oliveira <i>et al.</i> 2004	
		Bacia do Rio Uruguai	Las Cañas	-58,3660809724	-33,1495228368	Brugnoli <i>et al.</i> 2005	
Argentina	Uruguai	Bacia do Rio Santa Lucia	Gualeguaychu	-58,3660809724	-33,1495228368		
			Paso Belastiqui	-56,0660863399	-34,8995090299		
2001		Aguas corrientes	-56,3827532212	-34,5161778487	Langone 2005		
		Colonia La Concordia	-58,4213554423	-33,5820224020			
		Carmelo	-58,3085756694	-33,9931323353			
		Nueva Palmira (Dep. De Colonia)	-58,4141313440	-33,8639663732			
		Fray bentos	-58,2902484534	-33,1098003240			
		Nuevo Berlín	-58,0627509748	-32,9786883693			
		Rio Negro	Mercedes (Departamento de Soriano).	-58,0046941765		-33,2311876705	
		San Salvador	Dolores (Departamento de Soriano)	-58,2255239748		-33,5175771301	
		San José	San José de Mayo (Departamento de San José)	-56,7091409727		-34,3175686215	
		Santa Lucia	Santa Lucía (Departamento de Canelones)	-56,3991424679		-34,4461780450	
Brasil	Bacia da Lagoa Mirim	Balnera Mirim	-53,2575116835	-32,7470005294	Oliveira <i>et al.</i> 2004		
	Bacia do Alto Rio Paraguai	Baía Zé Dias	-57,5117121376	-17,8770620539			
Argentina	Rio Uruguai	UHE Salto Grande	-57,9494291299	-31,2828576313	Darrigran & Damborenea 2005		
	Cordoba	Usina nuclear em Tercero	-64,4494499288	-32,1995069632			
Brasil	Rio Paraná	UHE Itaipú	-54,5661502896	-25,4161927540	Zanella & Marena 2002		
	Piraquara (Sanepar)*	Reservató próximo a Curitiba	-53,7826834855	-25,7162862005	Takeda <i>et al.</i> 2003		
2002	Uruguai	Guaricana (Copel)*	Reservató próximo a Curitiba	-48,8660232270	-25,7163248398		
		Bacia do Rio la Prata	Colonia del Sacramento e Rosá / Punta Espinillo	-56,1494189047	-34,9161760670	Brugnoli <i>et al.</i> 2005	

2003	Brasil	Bacia do Rio Negro	Usina Baigorria	-56,7994272967	-32,9328492775	
		Paraná	São Paulo	-53,0461726931	-22,5486701213	Avelar <i>et al.</i> 2004
		Paranaíba	UHE São Simão	-50,4987638900	-19,0188888900	Darrigran & Damborenea 2009
	Uruguai	Bacia do Alto Paraguai	Baía Gaíva	-57,6861558539	-17,7340075086	Oliveira <i>et al.</i> 2004
			Paraguai - Amolar	-57,4740495724	-18,0858343418	
			Canal Baía Mandioré	-57,4515499536	-18,2549979867	
Brasil	Bacia do Santa Lucia	Miranda - Passo do Lontra	-57,0368309447	-19,5771987500		
	Lagoa dos Patos	Paso Severino reservató	-56,2993819844	-34,3327824252	Brugnoli <i>et al.</i> 2005	
2004	Brasil	Lagoa dos Patos	Praia do Laranjal	-52,2327061765	-31,7495393554	Martins <i>et al.</i> 2003 <i>apud</i> Darrigran & Damborenea 2009
			Ilha Feitoria	-52,0327060257	-31,6662093345	
			Miranda - Passo do Lontra	Pantanal	-57,0368309447	-19,5771987500
	Paraná	Bacia do Alto Paraguai	UHE Porto Primavera	-22,4779720000	-52,9561060000	Darrigran & Damborenea 2009
			Miranda – Foz do Rio Vermelho	-56,9807199373	-19,6108096924	Oliveira <i>et al.</i> 2004
			Apa - foz	-57,9293372845	-22,1063102645	
2005	Rio Paraná	UHE Jupia - resevratório	UHE Jupia - resevratório	-50,9826714308	-20,0663983925	Rolla <i>et al.</i> 2004 <i>apud</i> Von Rukert <i>et al.</i> 2004
			UHE Ilha Solteira	-51,3161926959	-20,4162016423	Von Rukert 2004
			UHE Rosana	-52,9828393506	-22,6828638560	Avelar <i>et al.</i> 2004
	Rio Paranaíba	Porto Alencastro	Porto Alencastro	-51,0202760000	-19,6600430000	Campos <i>et al.</i> 2005 <i>apud</i> Darrigran & Damborenea 2009
			Confluência com Claro	-50,6451980000	-19,1334750000	
			Confluência com Verde	-50,7351130000	-19,1856070000	
Rio Grande	UHE Agua Vermelha	-50,3455560000	-19,8511110000	Este trabalho - Comunicação pessoal - AES Tietê		
2006	Bacia de drenagem da Lagoa Mirim	Rio Tietê	UHE Agua Vermelha	-52,3828018747	-31,8494989943	Burns <i>et al.</i> 2006
			UHE Ibitinga	-48,9333333333	-21,9500000000	Pareschi <i>et al.</i> 2008
			UHE Bariri	-48,9328730629	-22,2000000000	
	Paraná	Iguaçu	Cáceres	-57,6980555600	-16,7069444400	Darrigran & Damborenea 2009
			UHE Promissão	-54,5923585887	-25,5778359988	Pestana <i>et al.</i> 2008
			UHE Promissão	-54,5661495766	-25,5828588833	
Lagoa dos Patos / Lagoa	Pardo - junto ao Rio Jacuí	UHE Promissão	-21,2961110000	-49,7830560000	Este trabalho - Comunicação Pessoal - AES Tietê	
		UHE Avandava	-21,1188890000	-50,2011110000		
		Reserva Ecológica do Taim	-52,5161298290	-32,5828310608	Burns <i>et al.</i> 2006	
Parapanema	Jusante das UHE Canoas I e Canoas II	Próximos à UHE Escola Eng. Mackenzie	-51,3828513721	-22,6995255793	Garcia <i>et al.</i> 2009	
		Pardo - junto ao Rio Jacuí	-50,5495236114	-22,9495220570		
			-52,2328133843	-29,9661701530	Mansur & Pereira 2006	

		Mirim				
			Porto de Estrela	-51,9494848917	-29,4661705021	
			Capilha (TAIM), lagoa Mirim	-52,5827964449	-32,4994982150	
			Rio dos Sinos - Sapucaia do Sul	-51,2161555593	-29,8494998541	
	Argentina	Carcaranã		-61,1021994325	-32,5117467709	Darrigran <i>et al.</i> 2009
		Rio Tercero em Villa Maria		-63,1521278167	-32,2514569614	
		Rio Tercero		-64,0675631821	-32,0930515822	
			Usina Piedras Moras	-64,1505725957	-32,1046319746	
			Usina Tercero	-64,2429319314	-32,1194824098	
		Segundo em Despeñaderos		-64,1710498802	-32,4859016899	
			Usina Los Molinos	-64,3024856857	-31,4994333551	
			Usina San Roque	-64,2955873805	-31,2449736057	
	Brasil	Iguaçu	UHE Salto Caxias	-53,5014540000	-25,5420180000	Belz <i>et al.</i> 2012
2007		Paranapanema	UHE Chavantes	-49,7316670000	-23,1288890000	Mäder Netto 2011
			UHE Salto Grande	-49,9966670000	-22,9016670000	
			UHE Capivara	-50,2508330000	-22,9383330000	
			UHE Canoas I	-50,5172220000	-22,9411110000	
			UHE Canoas II	-51,3580560000	-22,6602780000	
			UHE Taquaruçu	-52,0005560000	-22,5444440000	
		Iguaçu	UHE Segredo	-52,1137210000	-25,7927780000	
			Marmelândia	-53,0099156589	-25,3152810288	Pestana <i>et al.</i> 2010
			Quedas do Iguaçu	-53,3451730325	-25,3378721018	
			Faxinal do Céu	-51,4045168944	-25,5925245977	
			São mateus do Sul	-50,2306764695	-25,5256109287	
			Porto Amazonas	-49,5316728765	-25,3298193909	
		Piquiri	Francisco Alves	-53,5952863850	-24,0431074498	
			Ubiratã	-53,0779775800	-24,3356224400	
		Tibagi	Primeiro de Maio	-51,0286868463	-22,8667460584	
2008		Quaraí	Barra do quaraí	-57,5661047898	-30,2161914924	Lima <i>et al.</i> 2008
2009		Rio Caí	Rio Caí	-51,3513774600	-29,8253301500	Mäder Netto 2011
		Rio Uruguai	Uruguaiana	-57,0959850300	-29,7518453200	
2011			UHE Itá	-52,3821610000	-27,2767110000	Agudo-Padrón & Porto Filho 2013
		Rio Grande	UHE Volta Grande	-20,0344310000	-48,2229890000	Este trabalho - Comunicação Pessoal - Cemig
		Rio Grande	UHE Igarapava	-19,9833330000	-47,7500000000	
		Rio Grande	UHE Jaguara	-20,0258330000	-47,4347220000	
		Rio Grande	UHE Porto Colômbia	-20,1260570000	-48,5722490000	Este trabalho - Comunicação pessoal - Furnas

	Rio Grande	UHE Marimbondo	-49,1966670000	-20,3011110000	
	Rio Iguaçu	Parque Nacional do Iguaçu	-54,9181700000	-2,55974830000	Este trabalho - Detecção de adultos
		UHE Salto Osório	-53,0092530000	-25,5355860000	Este trabalho - Detecção de adultos
	Rio Jordão	UHE Santa Clara	-51,9536110000	-25,6477780000	Este trabalho - Detecção molecular de larvas
2012	Rio Pelotas	UHE Machadinho	-51,7896000000	-27,5274170000	Agudo-Padrón & Porto Filho 2013
		UHE Barra Grande	-51,1883890000	-27,7774060000	
2013	Rio Uruguai	UHE Foz do Chapecó	-53,0472220000	-27,1394440000	Este trabalho - Comunicação pessoal - Foz do Chapecó
	Rio grande	UHE Água Vermelha	-19,8511110000	-50,3455560000	Este trabalho - Comunicação Pessoal - AES Tietê
	Rio Iguaçu	UHE Salto Santiago	-52,6166670000	-25,6500000000	Este trabalho - Detecção molecular de larvas
		UHE Foz do Areia	-51,6500000000	-26,0833330000	
	Rio Jordão	UHE Fundão	-51,9980560000	-25,7086110000	
	Rio Tibagi	UHE Mauá	-50,7063900000	-24,0622200000	
2014	Rio Canoas	UHE Campos Novos	-51,3169440000	-27,6016670000	Este trabalho - Comunicação Pessoal - Enercan

* Locais onde houve o registro de indivíduos adultos de *Limnoperna fortunei*, porém hoje não há ocorrência da espécie.

Apêndice B. Locais vistoriados sem ocorrência de *L. fortunei* no Brasil.

Prospecção	Estado	Bacia Hidrográfica	Método de prospecção	Ponto	Longitude	Latitude	
2008	Tocantins Maranhão	Amazônica	Coleta de plâncton	Araguatins	-54,91938838	-2,437569570	
				Imperatriz	-54,86370268	-2,308153680	
				Arari (Rio Mearim)	-54,92497169	-2,396480940	
				Itapecuru-Mirim (Rio Itapecuru)	-54,98934347	-2,469322180	
	Amazonas		Inspeção visual	Praia municipal de Rio preto da Eva	-60,10250604	-3,062459800	
				Itacoatiara (Rio Urubu)	-59,90725992	-3,138217640	
				Itacoatiara (Rio Amazonas)	-59,89390718	-3,211083910	
				Santarém (Praia ponta da pedra)	-59,88329340	-3,122031600	
				Jari (Rio Amazonas)	-60,01655093	-3,175931380	
				Santarém	-59,99344552	-3,156764810	
	Pará			Coleta de plâncton	Santarém - Alter do Chão (Praia do Cururu)	-60,00103159	-3,139889900
					Tucuruí	-59,70235020	-2,700858780
					Tucuruí	-59,57677857	-3,037506910

				Tucuruí	-58,44888247	-3,147147440
				Belém	-48,50068094	-1,447699430
				Vila do Conde	-48,78540102	-1,571031940
				Abaetetuba	-48,88678912	-1,712419850
				Cametá	-49,49539561	-2,246027380
				Baião	-49,67400523	-2,792412560
				Tucuruí (montante) reservatório	-49,65289405	-3,352964290
				Novo Repartimento	-49,61560781	-4,158519940
				Jacundá	-49,45345044	-4,550178340
				Itupiranga	-49,32372879	-5,137952120
				Marabá - Início do reservatório de Tucuruí	-49,12817454	-5,340728420
Maranhão				Araioses (Rio Parnaíba)	-49,65232832	-3,673423990
Goiás		Inspeção visual		Pirinópolis (Rio das Almas)	-49,59750841	-3,552495420
				Cidade de Goiás (Rio Bacalhau)	-49,62067541	-3,878625390
				Montante de Aruanã (Rio Araguaia)	-47,48763116	-5,544614770
				Jusante Barragem UHE Cana Brava	-51,18050418	-14,99088825
				Próximo a barragem (Reservatório da UHE Cana Brava)	-51,10409653	-14,93294395
				Vila Borba	-51,09697454	-14,84994992
				São Jorge - Vale da Lua (Rio São Miguel)	-50,31038357	-14,64321332
Tocantins				Caseara (Rio Araguaia)	-48,20998219	-13,54759877
				Caseara (Rio Araguaia)	-48,20998228	-13,50061015
				Caseara (Rio Piedade)	-48,14760517	-13,39510509
		Coleta de plâncton		Palmas (Praia Graciosa)	-48,14355240	-13,40934111
				Palmas (Praia da Prata)	-48,07726588	-13,90395206
Amazonas		Inspeção visual		Praia de Ponta Negra	-47,79286755	-14,18579994
				Praia do Catalão (encontro das águas do rio Negro e Solimões)	-48,18027778	-5,718611110
				Ilha dos Mouros (Rio Solimões)	-49,84420711	-9,233059970
				Ilha da terra nova (Rio Solimões)	-49,93144819	-9,187027030
				Praia em frente a Manaus (Rio Negro)	-49,18224456	-9,850716500
		Coleta de plâncton		Rio Negro	-48,36451137	-10,18650781
		Inspeção visual		Areira em frente a Manaus	-48,36906128	-10,22631035
Goiás	Atlântico Norte e Nordeste			Rio Vermelho	-44,78430337	-3,459408620
				Jusante de Aruanã (Rio Araguaia)	-43,75231989	-3,612457030
				Mozarlândia (Rio Tesoura)	-41,87038833	-2,89642013
			Rio Paraná	Rio Crixás-Açu	-48,95788287	-15,85419861
				Praia artificial de Minaçu (Reservatório da UHE Cana Brava)	-50,12870708	-15,95447833
2009	Mato Grosso	Amazônica	Coleta de plâncton	Rio Guaporé	-59,32041516	-15,23011729

Amapá		Inspeção visual	Praia do Rio Amazonas	-52,07751158	-1,62879552
Pará			Porto de Moz - Praia de areia do Rio Amazonas	-52,24850445	-1,71130714
			Porto de Moz - Banco de areia no meio do Rio Xingu	-51,65895305	-1,41481917
		Coleta de plâncton	Rio Amazonas	-51,64923354	-1,42282201
			Prainha em frente ao porto da cidade de Gurupá	-51,16311054	-0,59007473
Amazonas			Caldeirão do Rio Amazonas	-60,33439808	-3,08341797
			Caldeirão do Rio Amazonas	-60,43467644	-3,07897346
			Caldeirão do Rio Amazonas	-60,28967559	-3,05175116
			Caldeirão do Rio Amazonas	-60,13023026	-3,137862800
Mato Grosso	Araguaia Tocantins		Rio Araguaia	-53,21005501	-17,33711579
Pará	Atlântico Norte e Nordeste		Itatupa - Delta do Rio Amazonas	-51,41932910	-1,201373330
Amapá			Praia da Fazendinha	-51,13288808	-0,060454400
			Canal dos navios (Rio Amazonas)	-51,11414906	-0,068748910
Rio Grande do Sul	Atlântico Sul e Sudeste			-51,14669564	-28,87630531
			Rio Belo (Bacia do Guaíba)	-51,18031544	-29,31048464
			Arroio Caracol	-50,85513198	-29,31025561
				-51,85132434	-29,22592638
			Clube Nautico Capingui Barragem I da Us Capingui (CEEE)	-52,21830633	-28,34590272
			Usina Hidroelétrica Capigui - Barragem III	-52,25528643	-28,38042497
			Cachoeirinha do Sul	-52,89609778	-30,06111144
			Usina Dona Francisca (Rio Jacuí)	-53,28995622	-29,45550639
			Estrada Sta. Maria	-53,28288829	-29,70681121
			Salto do Jacuí - Reservatório de Passo Real	-53,19750332	-29,08093764
Mato Grosso	Rio Paraná		Rio do Bagre	-58,7870573	-15,62407843
			Porto Espiridião	-58,46652812	-15,86313570
			Cáceres	-57,69856823	-16,07403839
			Rio Cuiabazinho	-55,89275588	-14,68266150
			Rio Cuiabá	-55,96786004	-16,21378476
			Rio Corrente	-52,09400017	-18,53255177
Goiás			Rio Verde,	-52,01213252	-18,39405968
		Inspeção visual	Rio Ponte de Pedra	-51,9864678	-18,15926145
		Coleta de plâncton	Rio Claro	-51,74975712	-17,93698878
			Rio Paranaíba	-49,49387497	-18,50978870
			Rio Piracanjuba (Piratininga)	-48,55265734	-17,74361488
			Rio Piracanjubinha	-48,90531469	-17,36192880
Rio Grande do Sul	Rio Uruguai		Próximo a Panambi	-53,50647435	-28,29138282
				-53,22994015	-27,17374631

		-53,55675157	-27,75533185
		-54,10588491	-29,66389244
		-54,67409815	-29,49407855
	Praia de Manoel Viana	-55,47830823	-29,59467048
		-55,47951313	-29,19799095
	Porto de São Borja	-56,03156765	-28,62204746
	Itaqui - clube nautico	-56,56048620	-29,11584005
	Proximo cidade de Alegrete	-55,78047150	-29,80440178
	Ao lado da cidade Rosário do Sul, extração de areia	-54,89116175	-30,26338302
2010		-54,96201491	-28,52986841
	Futura Usina Passo São João - Eletrosul	-55,0014609	-28,16526124
	Porto Xavier (Rio uruguai)	-55,13790289	-27,89813753
	Porto Mauá (Rio Uruguai)	-54,67254404	-27,57274499
	Salto Yucumá - Parque do Turvo (Rio Uruguai)	-53,89393778	-27,19743760

Capítulo II - Processo de invasão da bacia do Rio Iguaçu, Paraná, Brasil por *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) e teste de protocolo de uso de larvas na caracterização do perfil genético de populações.

Processo de invasão da bacia do Rio Iguaçu, Paraná, Brasil por *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) e teste de protocolo de uso de larvas na caracterização do perfil genético de populações.

Resumo

A introdução de espécies aquáticas em um ambiente apresentam forte correlação com a atividade humana. O bivalve invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) foi introduzido na América do Sul em 1991, com primeira ocorrência no Brasil em 1998. No Rio Iguaçu, a espécie foi registrada em 2001 e atualmente apresenta ocorrência em quase toda sua extensão, porém, não se conhece a forma com que a espécie foi introduzida e de que forma dispersou-se nos diferentes pontos deste rio. Este estudo propõe um protocolo molecular de utilização de larvas de *L. fortunei* no estudo do perfil genético de populações de *L. fortunei* e faz uma avaliação genética das populações da espécie no Rio Iguaçu, comparando-as com uma população do Rio Paraná com a finalidade de avaliar a conectividade das populações e inferir sobre sua introdução e dispersão. Adultos e larvas de *L. fortunei* foram amostrados e comparados buscando verificar diferenciação genética entre os dois estágios de desenvolvimento do organismo e entre os pontos amostrados. Verificou-se que as populações de *L. fortunei* do Rio Iguaçu não apresentam diferenciação genética entre si, ou seja, existe conectividade entre elas, porém, são significativamente diferentes da população do Rio Paraná, indicando estruturação genética devido, provavelmente, à barreira geográfica formada pelas Cataratas do Iguaçu. Ainda, os haplótipos presentes nas populações do Rio Iguaçu são compartilhados com os do Rio Paraná, e desta forma, concluímos que essas podem ter se originado de propágulos provenientes do Rio Paraná. Não foi observada diferenciação genética significativa entre adultos e larvas em cada ponto. Assim, os resultados do uso de larvas na caracterização do perfil genético de populações de *L. fortunei* se mostraram satisfatórios, podendo representar um protocolo importante no estudo de genética populacional de espécies aquáticas com estágios larvais planctônicos.

Palavras chave

Espécies invasoras, mexilhão dourado, larvas planctônicas, vetores de dispersão e protocolo molecular.

Introdução

A introdução de espécies aquáticas exóticas em um novo ambiente pode ocorrer de forma natural, porém, apresenta forte correlação com a atividade humana (Mills *et al.* 1993, Drake *et al.* 2004). O bivalve invasor mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857), foi introduzido na América do Sul em 1991, possivelmente via água de lastro de navios mercantes na região estuarina do sistema fluvial do rio da Prata e expandiu sua distribuição rapidamente para as porções superiores da bacia do Rio Paraná, numa velocidade de cerca de 240 km/ano (Boltovskoy *et al.* 2006). No Brasil, seu primeiro registro ocorreu em 1998 na Bacia do Alto Paraguai, região de Cáceres, Mato Grosso, e no mesmo ano, na região do Delta do Jacuí, Rio Grande de Sul. A dispersão e intensa proliferação do mexilhão dourado vêm causando graves impactos ambientais (Mansur *et al.* 1999, Darrigran 2002, Mansur *et al.* 2003, Oliveira 2003, Darrigran & Damborenea 2005, Gazulha *et al.* 2012) e prejuízos econômicos significativos na América do Sul (Darrigran 2002, Darrigran & Damborenea 2005, Belz 2006, Darrigran & Dreher Mansur 2009).

No Rio Iguazu, afluente do Rio Paraná, o primeiro registro de *L. fortunei* ocorreu no final de 2001, na região da Bacia do Altíssimo Rio Iguazu, em dois pontos próximos à cidade de Curitiba, capital do Estado do Paraná (Takeda *et al.* 2003). Em abril do mesmo ano, foi registrada a ocorrência da espécie na Usina Hidrelétrica de Itaipu, Rio Paraná, extremo oeste do Estado (Zanella & Marenda 2002). Segundo Takeda *et al.* (2003), não houve registros intermediários do mexilhão dourado ao longo do Rio Iguazu, que percorre o estado de leste a oeste, entre um ponto e outro de ocorrência, sugerindo introduções independentes sem causas conhecidas.

Em 2005, Pestana *et al.* (2008) realizaram análises de densidade larval na região de Foz do Iguazu, nos rios Paraná e Iguazu, sendo que no Rio Iguazu houve ocorrência, porém em baixa densidade (de 3 a 218 larvas/m³). Os autores afirmam que, apesar da barreira natural formada pelas Cataratas do Iguazu, a atividade de extração de areia observada na região poderia ser um meio de dispersão do mexilhão dourado para regiões à montante das Cataratas, hipótese levantada também por Belz *et al.* (2012). A prospecção de larvas de *L. fortunei*, até então, era realizada através de triagem de amostras de plâncton sob microscópio estereoscópico. Em 2006, Pie *et al.* (2006) desenvolveram um método molecular rápido e preciso para detectar larvas de *L. fortunei* em amostras de plâncton, o qual foi testado por Boeger *et al.* (2007) e Darrigran *et al.* (2009). Entre 2007 e 2008, diferentes pontos do Rio Iguazu, abrangendo grande parte de sua extensão, foram amostrados para prospecção de larvas do mexilhão dourado, tanto através do método de marcador molecular, quanto por triagem convencional sob microscópio estereoscópico. Todos os pontos amostrados apresentaram resultado positivo quanto à presença de larvas de *L. fortunei* (Pestana *et al.* 2010).

O Rio Iguazu, portanto, em grande parte de sua extensão, está infestado pelo mexilhão dourado. Porém, não se conhece a forma pela qual a espécie foi introduzida e dispersou-se o longo desse rio. As ferramentas de análise molecular podem ser muito úteis para elucidar essas questões e aspectos ainda pouco conhecidos sobre a estrutura populacional de espécies invasoras (Vidigal *et al.* 2013). Estudos moleculares realizados em populações de *L. fortunei* da América do Sul por Zhan *et al.* (2012), demonstraram que a dispersão por “saltos” mediada por embarcações é a principal forma de propagação da espécie na América do Sul.

Larvas de bivalves são freqüentemente utilizadas na prospecção molecular de espécies (e.g. Claxton & Boulding 1998, Ludwig *et al.* 2014, Pestana *et al.* 2010), em monitoramentos e estudos populacionais (e.g. Cataldo & Boltovskoy 2000, Santos *et al.* 2005, Darrigran *et al.* 2007, Pestana *et al.* 2008) e em testes de tolerância a diferentes tratamentos (e.g. Cataldo *et al.* 2005, Angonesi *et al.* 2008, Perepelizin & Boltovskoy

2011) todavia, não existem protocolos para o uso de larvas como proxy da estrutura genética da população de adultos. Assim, esse estudo avalia um protocolo de utilização de larvas de *L. fortunei* no estudo do perfil genético de populações e faz uma caracterização genética das populações da espécie no Rio Iguazu, as quais foram comparadas com uma população do Rio Paraná, logo à jusante da foz do Rio Iguazu.

Materiais e Métodos

Locais de coleta

As coletas foram realizadas em oito pontos do rio Iguazu, Paraná, Brasil, abrangendo os trechos baixo, médio e alto. Os pontos foram determinados com base em locais de conhecida ocorrência de populações já estabelecidas com presença de adultos, e pontos onde foi registrada apenas a presença de larvas da espécie (Figura 4; Tabela 3): 1) Parque Nacional do Iguazu (PQ); 2) Usina Hidrelétrica Governador José Richa - Salto Caxias (CX); 3) Usina Hidrelétrica de Salto Osório (OS); 4) Usina Hidrelétrica de Salto Santiago; 5) Usina Hidrelétrica Governador Ney Aminthas de Barros Braga - Salto Segredo; 6) Usina Hidrelétrica Bento Munhoz da Rocha Netto - Foz do Areia; 7) Município de Porto Amazonas e 8) Represa Piraquara II. Além desses, um ponto foi amostrado logo à jusante da foz do Rio Iguazu, no reservatório da UHE Itaipu (IT) (Figura 4; Tabela 3). Este ponto é separado dos demais por uma barreira geográfica formada pelas Cataratas do Iguazu.

Em todos os pontos, foram realizadas coletas de plâncton utilizando redes de plâncton de malha 64 µm, filtrando aproximadamente quatro mil litros de água. Além disso, foram realizadas vistorias para prospecção visual de adultos tanto em reservatório quanto dentro dos sistemas de resfriamento de usinas hidrelétricas. Quando detectados, adultos foram coletados através de raspagem do substrato e/ou coleta manual. Todas as amostras foram conservadas em álcool 70% e levadas ao laboratório para análise.

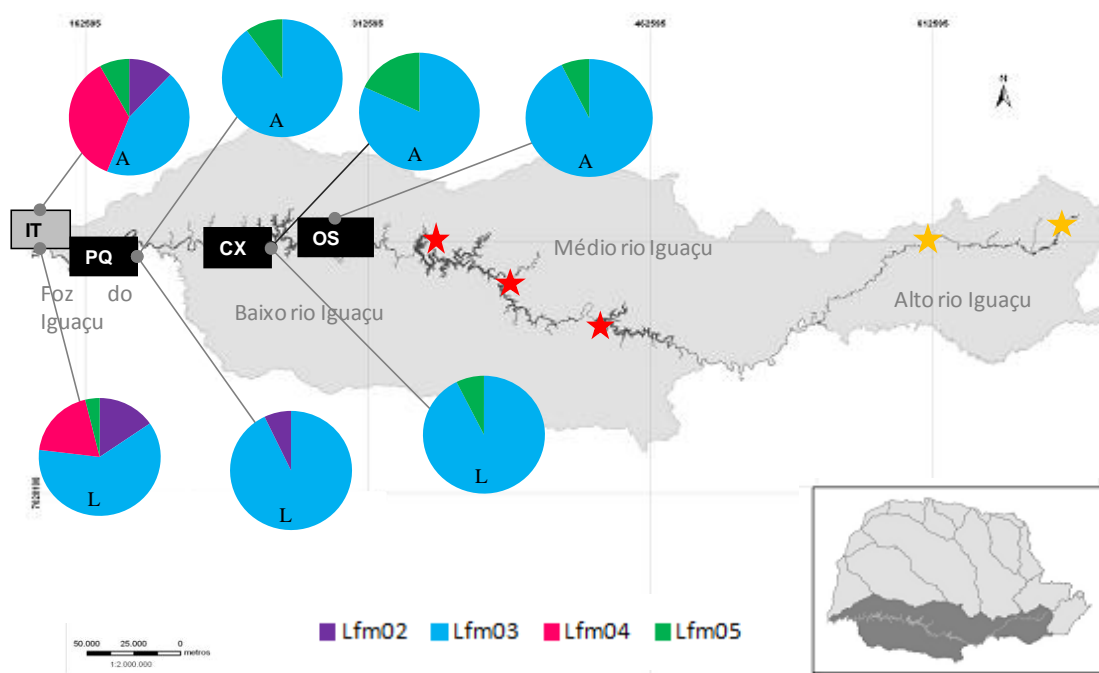


Figura 4. Localização dos pontos de coleta no Rio Iguazu e em um ponto à jusante da foz do Rio Iguazu, no Rio Paraná. Estrelas em vermelho indicam presença de *L. fortunei* apenas através de detecção molecular larvas, estrelas amarelas representam locais com ocorrência registrada em bibliografia porém não detectada neste trabalho. Gráficos de pizza indicam a frequência dos haplótipos de COI para populações de *L. fortunei* no Rio Iguazu e para a UHE Itaipu. Siglas conforme Tabela I. Os gráficos de pizza indicam a proporção de cada haplótipo nas populações de adultos (A) e larvas (L).

Tabela 3. Pontos amostrados ao longo do Rio Iguaçu e um ponto no Rio Paraná com suas respectivas coordenadas, número de indivíduos amostrados (N), número de haplótipos encontrados (n) e seus respectivos códigos, e índices de diversidade genética, sendo π a diversidade nucleotídica e h a diversidade haplotípica encontrada para COI em *L. fortunei*.

Ponto	Latitude	Longitude	Adultos				Larvas					
			N	Código do haplótipo	n	π	h	N	Código do haplótipo	n	π	h
UHE Itaipu (IT)	-25,408253	-54,589173	25	Lfm02-05	4	0,00506	0,6833	26	Lfm02-05	4	0,00324	0,5815
Parque Nacional do Iguaçu (PQ)	-25.600246	-54.393469	30	Lfm03, Lfm05	2	0,00114	0,1862	28	Lfm02-03	2	0,00197	0,1376
UHE Salto Osório (OS)	-25,535586	-53,009253	28	Lfm03, Lfm05	2	0,00084	0,1376					
UHE Salto Caxias (CX)	-25,542018	-52,113721	22	Lfm03, Lfm05	2	0,00191	0,3117	27	Lfm03, Lfm05	2	0,00084	0,1425
UHE Salto Santiago	-25.650000	-52.616667	-									
UHE Salto Segredo	-25.783333	-52.133333	-									
UHE Foz do Areia	-26.083333	-51.65000	-									
Porto Amazonas	-25.558611	-49.943056	-									
Represa Piraquara II	-25.488757	-49.008275	-									

Amplificação e Sequenciamento de mtDNA

A extração de DNA dos espécimes de *L. fortunei* coletados foi realizada utilizando o kit de extração EZ-DNA (Biosystems, Brazil) seguindo o protocolo do fabricante. A partir do extrato, Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) foram realizadas para amplificar o gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) do mtDNA, utilizando os *primers* LCO1490 e HCO2198 (Folmer *et al.* 1994). As reações foram realizadas em volume total de 25 μ l, contendo 2 nM de $MgCl_2$, 0.4 mM de dNTP, 1X (*buffer*) tampão, 1.25 U de AmpliTaq DNA polimerase e 0.5 nM de cada primer. As seguintes condições de reação foram utilizadas: Desnaturação inicial à 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de 30 segundos à 92°C, 30 segundos à 51°C, 30 segundos à 72°C, e a extensão final à 72°C por dois minutos. Para confirmar a amplificação do fragmento-alvo, os produtos das PCRs foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados em brometo de etídio e visualizados em luz-ultravioleta no equipamento VilberLourmat®.

Subseqüentemente, os produtos da PCR foram purificados com PEG (PolyethyleneGlycol Molecular Biology) seguindo o seguinte protocolo: adição de 50 μ l de PEG (PEG 8000 20%, NaCl 2,5M) ao produto de cada PCR; incubação à 37°C por 30 minutos; centrifugação à velocidade de 15.000 rpm por 20 minutos e descarte do sobrenadante; adição de 125 μ l de etanol 80% gelado e descarte do sobrenadante novamente (passo repetido duas vezes); evaporação do etanol e diluição da amostra em 10 μ l de água ultra pura. O produto foi utilizado nas reações de sequenciamento com os mesmos *primers* das PCRs. As reações de sequenciamento foram realizadas com o kit Big DyeTerminator v3 (AppliedBiosystems®) e purificadas com Sephadex™ G-50 medium (GE HealthcareBio-Sciences AB). As amostras foram sequenciadas nas direções senso e anti-senso (forward and reverse) em um Sequenciador ABI 3130 do Laboratório de Ecologia Molecular e Parasitologia Evolutiva.

Análise de Dados

As seqüências foram processadas e alinhadas utilizando Geneious v6, e editadas manualmente. Em seguida, cada seqüência obtida foi conferida na ferramenta BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) para confirmar que pertenciam a *L. fortunei* e identificar seus respectivos haplótipos.

O número de haplótipos (n), diversidade haplotípica (h), e a diversidade nucleotídica (π) foram estimados utilizando DNAsp 5.0. A diferenciação genética entre as populações amostradas foram determinadas por Análise de Variância Molecular (AMOVA) implementada no software ARLEQUIM v3.5.1.2 (Schneider *et al.* 2000) e utilizando o teste de Kruskal-Wallis[W1] utilizando o programa Excel 2003 com o suplemento Action 2.6, para testar a diferença entre as frequências de haplótipos das populações amostradas. Ambos os testes foram realizados comparando dois grupos: grupo 1 – PQA, CXA e OSA; grupo 2 – Os três anteriores mais IT. Posteriormente, a estrutura genética foi avaliada através de valores pareados de G_{st} e D de Jost, calculados usando R (R Development CoreTeam 2005), com os pacotes *seqinr* (Charif & Lobry 2007), *APE* (Paradis *et al.* 2004) e *fields* (Furrer *et al.* 2009) utilizando o script disponível em <http://pleunipennings.wordpress.com/2012/10/23/r-code-for-calculating-jost-d-for-mtdna-sequences>, ver também Pennings *et al.* (2011). Correções de Bonferroni foram aplicadas para corrigir o nível de significância para múltiplas comparações. O teste t pareado foi utilizado ainda para verificar a diferenciação genética entre populações de adultos e larvas de *L. fortunei* nos pontos IT, PQ e CX, utilizando o programa Excel 2003.

Uma rede de haplótipos foi construída para facilitar a visualização do relacionamento entre os haplótipos em adultos e larvas através do programa NETWORK v4.6.1.1. Os testes D de Tajima e F de Fu, implementados no software DNAsp, foram utilizados para verificar se o fragmento COI encontra-se sob seleção ou deriva.

Resultados

De todos os pontos amostrados, apenas quatro apresentaram ocorrência de adultos e larvas em densidade suficiente para a realização do estudo (IT, PQ, CX e OS), sendo que três destes pontos (IT, PQ e CX) foram escolhidos para a realização de análises utilizando larvas. Para as UHE's Salto Santiago, Salto Segredo, e Foz do Areia, não foram encontrados adultos, apenas larvas em baixíssimas densidades através de detecção molecular. Em Porto Amazonas e na Represa Piraquara II existe o registro bibliográfico de larvas e adultos, respectivamente (Pestana *et al.* 2010, Takeda *et al.* 2003), porém, a espécie não foi detectada neste estudo.

O alinhamento das seqüências de 490 pb do gene COI obtidas de 186 indivíduos, resultou em 11 sítios polimórficos e quatro haplótipos (GenBank HQ843795 - HQ843798). A diversidade haplotípica variou de 0,1376 a 0,6833 e a diversidade nucleotídica variou de 0,00084 a 0,00506 (Tabela 3). O mapa de frequências haplotípicas (Figura 4) sugere estruturação geográfica. O haplótipo Lfm03 foi o mais freqüente em todas as populações, seguido de Lfm05, que não esteve presente apenas na população de larvas de PQ. O haplótipo Lfm02 foi encontrado apenas para IT e para a população de larvas de PQ. Já Lfm04 foi exclusivo de IT (Figura 4).

As redes de haplótipos baseadas no gene COI para populações tanto de adultos de *L. fortunei* (Figura 5) quanto de larvas (Figura 6) mostram o haplótipo Lfm03 comum à todos os indivíduos, ligado aos demais por passos de mutações. Observa-se que, representados pelos círculos brancos, demais haplótipos de *L. fortunei* (Genbank), não identificados neste trabalho, estão entre Lfm03 e Lfm05, e Lfm03 e Lfm04.

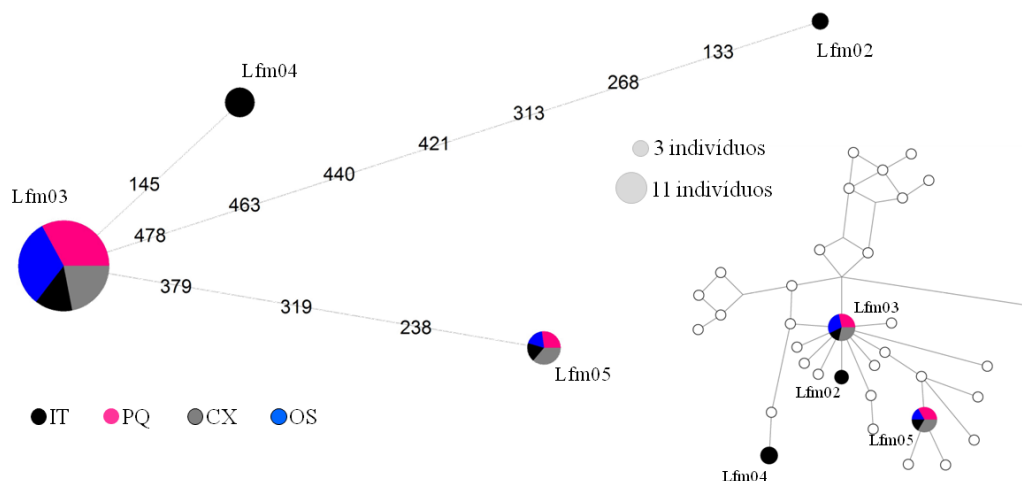


Figura 5. Rede de haplótipos baseada no gene COI para populações adultas de *L. fortunei* no Rio Iguaçu e em um ponto à jusante de sua foz (à esquerda). Círculos indicam os diferentes haplótipos encontrados e a proporção com que ocorrem em cada ponto. Números correspondem a mutações que separam haplótipos nas respectivas posições. A posição desses haplótipos na rede de todos os haplótipos conhecidos está apresentada à direita da figura. Círculos brancos representam haplótipos não detectados nesse estudo, portanto, sem valores de freqüência. Siglas conforme Tabela 1.

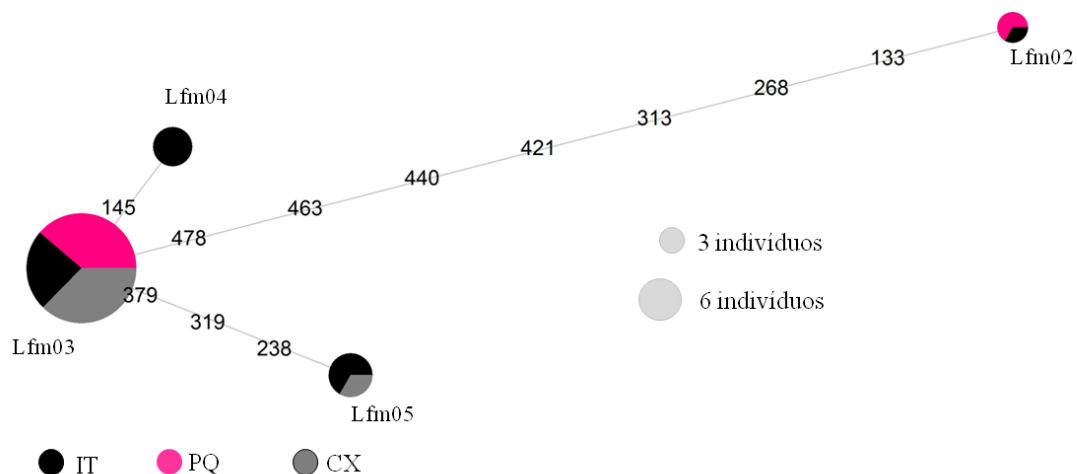


Figura 6. Rede de haplótipos baseada no gene COI para larvas de *L. fortunei* no Rio Iguaçu e em um ponto à jusante de sua foz. Círculos indicam os diferentes haplótipos encontrados e a proporção com que ocorrem em cada ponto. Números correspondem a mutações que separam haplótipos nas respectivas posições. Siglas conforme Tabela 1.

Ambos os testes de neutralidade, D de Tajima e F de Fu, resultaram em valores não significativos para todas as populações. Para adultos, a população do ponto IT apresentou diferenciação genética significativa quando comparado à PQ, CX e OS (Tabela 4, Tabela 6) (Apêndice C, Apêndice D). Os valores de Fst para adultos sugerem estruturação moderada (Tabela 4). Padrão semelhante foi observado para as populações de larvas, exceto para a AMOVA que apresentou valor de Fst (0.03835) não significativo devido a um valor de “p” ligeiramente maior do que 0.05 ($p = 0,06155$) (Tabela 5, Tabela 7, Apêndice E, Apêndice F). Itaipu é, de fato, a população com maiores valores de diversidade dentre as amostradas (Tabela 3). Tanto para larvas (CX, PQ) como para adultos (PQ, CX e OS), as populações dos pontos do Rio Iguaçu não apresentaram diferenciação genética significativa entre si (valores significativos para $p < 0,016$ e $p < 0,008$ após correção de Bonferroni, respectivamente) para valores de Gst e D de Jost (Tabela 6, Tabela 7).

Tabela 4. Estimativas de diferenciação na frequência de haplótipos em populações de adultos com base no gene mitocondrial COI para populações de *L. fortunei*. Números em negrito apresentam significância estatística ($p < 0,05$).

Grupos de populações de adultos	AMOVA	Kruskal Wallis
1. PQ x CX x OS	-0,00858 ($p = 0,51275$)	$p = 0,458628$
2. PQ x CX x OS x IT	0,07477 ($p = 0,00269$)	$p = 0,000004$

Tabela 5. Estimativas de diferenciação na frequência de haplótipos em larvas com base no gene mitocondrial COI para populações de *L. fortunei*. Números em negrito apresentam significância estatística ($p < 0,05$).

Grupos de populações de larvas	AMOVA	Kruskal Wallis
1. PQ x CX	0.03674 ($p = 0.18491$)	$p = 0,97017$
2. PQ x CX x IT	0.03835 ($p = 0.06155$)	$p = 0,00327$

Tabela 6. Estimativas de diferenciação genética populacional para adultos de *L. fortunei* com base no gene mitocondrial COI. Números em negrito apresentam significância estatística após correção de Bonferroni ($p < 0,008$). Valores de G_{st} abaixo da diagonal e D de Jost acima da diagonal.

	IT(A)	PQ(A)	CX(A)	OS(A)
IT(A)		0.28633 (p = 0.00145)	0,25383 (p = 0.00130)	0.29648 (p = 0,00002)
PQ(A)	0.15738 (p = 0.00145)		0,00000 (p = 1,00000)	0,00000 (p = 0,69802)
CX(A)	0.11341 (p = 0.00130)	0,00000 (p = 1,00000)		0.00292 (p = 1,00000)
OS(A)	0.17434 (p = 0,00002)	0,00000 (p = 0,69802)	0.00495 (p = 1,00000)	

Tabela 7. Estimativas de diferenciação genética populacional para larvas de *L. fortunei* com base no gene mitocondrial COI. Números em negrito apresentam significância estatística após correção de Bonferroni ($p < 0,016$). Números sublinhados não apresentam significância devido à valor de “p” ligeiramente superior ao calculado após correção. Valores de G_{st} abaixo da diagonal e D de Jost acima da diagonal.

	IT(L)	PQ(L)	CX(L)
IT(L)		<u>0.10509 (p = 0.01915)</u>	0.08927 (p = 0.01575)
PQ(L)	<u>0.08652 (p = 0.01915)</u>		0.00024 (p = 0.51075)
CX(L)	0.07298 (p = 0.01575)	0.00076 (p = 0.51075)	

A comparação pareada entre adultos e larvas de um mesmo ponto pelo teste t indica que não sejam significativamente diferentes ($P < 0,016$ após correção de Bonferroni) (Tabela 8). Todavia, apesar de quantitativamente as diferenças não serem distintas, qualitativamente existe uma diferença conspícua para a população PQ. Enquanto tanto adultos como larvas apresentam o mesmo haplótipo dominante (Lfm03), o haplótipo com menor frequência da população de larvas é o Lfm02 com o haplótipo Lfm05 ausente enquanto nos adultos, o haplótipo de menor frequência é o Lfm05 e o haplótipo Lfm02 é o ausente.

Tabela 8. Estimativas de diferenciação na frequência de haplótipos em populações de adultos (A) e larvas (L) com base no gene mitocondrial COI para *L. fortunei*. Não foi observada significância estatística após correção de Bonferroni ($p < 0,016$) para o teste t.

	PQ(A)	IT(A)	CX(A)
PQ(L)	0,47653		
IT(L)		0,09089	
CX(L)			0,28185

Discussão

Padrões de invasão

O número de haplótipos encontrados para a UHE Itaipu (Lfm02-05) diferem do encontrado por Zhan *et al.* (2012) e Paolucci *et al.* (2014) no mesmo local. Esses autores registraram seis haplótipos (Lfm01-06). Essa diferença na riqueza e composição de haplótipos entre esses estudos e o presente não parece ser consequência de problema amostral. Enquanto nesse estudo amostramos, entre adultos e larvas, 53 indivíduos, os trabalhos de amostral dos trabalhos anteriores foi bem menor, 32 indivíduos. A origem da diferença, portanto, não é evidente.

A diferenciação genética encontrada entre a UHE Itaipu e os demais pontos amostrados deve-se possivelmente à barreira geográfica formada pelas Cataratas do Iguaçu. Os pontos amostrados à montante das

Cataratas compartilham haplótipos com a UHE Itaipu, indicando a possibilidade de que as populações de mexilhão dourado estabelecidas no Rio Iguaçu sejam originárias de populações no Rio Paraná. Esse resultado corrobora com as sugestões de Pestana *et al.* (2008) e Belz *et al.*(2012), os quais afirmam que a presença de extração de areia no Rio Paraná poderia ser uma fonte de propágulos de *L. fortunei* à montante das Cataratas do Iguaçu, no Rio Iguaçu.

A ocorrência de apenas três dos haplótipos encontrados na UHE Itaipu, nos pontos do Rio Iguaçu, e com baixa frequência, podem ser decorrência de efeito fundador associado com uma baixa pressão de propágulos nas áreas de introdução. Como as análises sugerem que não existe estruturação genética ou diferença estatística na composição de haplótipos entre as populações amostradas do Rio Iguaçu, a introdução do mexilhão dourado no Rio Iguaçu parece ser resultado de um número limitado de eventos de introdução, provavelmente apenas um. A homogeneidade haplotípica das populações amostradas sugere fortemente que de um único ponto de introdução, *L. fortunei* dispersou para os demais trechos desse mesmo rio.

O primeiro registro de ocorrência de populações estáveis do mexilhão dourado no Rio Iguaçu foi na UHE Salto Caxias, em 2006 (Belz *et al.* 2012), e apenas em 2011 houve registro para o Parque Nacional do Iguaçu, à jusante, e para a UHE Salto Osório, à montante. Desta forma, a invasão do mexilhão dourado no Rio Iguaçu pode ter ocorrido através da UHE Salto Caxias, por ação antrópica, provavelmente associada ao transporte de areia ou atividade de piscicultura como sugerido por Belz (2006) ou por embarcações, como sugerido por Zhan *et al.* (2012). Esse cenário é suportado fortemente pela detecção de baixas densidades de larvas em reservatórios a montante, no trecho médio do Rio Iguaçu, sugerindo a existência de populações pequenas de adultos, as quais não foram detectadas visualmente e podem representar estágios prematuros de dispersão. Esse cenário também suporta a conclusão de Zhan *et al.* (2012) de que na América do Sul a principal forma de propagação do mexilhão dourado é por “saltos”, mediada pela ação humana. Todavia, os resultados positivos para a presença do mexilhão dourado no baixo Rio Iguaçu e a grande similaridade da composição haplotípica dessas populações evidenciam que a dispersão no sentido montante-jusante não deve ser ignorada em sistemas lóticos.

A única evidência contrária ao padrão observado e discutido acima é a presença do haplótipo Lfm02 apenas na população de larvas amostradas na região do Parque Nacional do Iguaçu. O mesmo haplótipo, apesar de presente em Itaipu, não foi detectado em larvas ou adultos oriundos dos demais pontos estudados no Rio Iguaçu. Esse resultado pode refletir um processo recente de invasão, provavelmente a montante do Parque Nacional. A amostragem do plâncton realizada nesse ambiente provavelmente reflete a população de adultos a montante, por esse local representar um ambiente lótico e esse haplótipo não ter sido detectado na população adulta local. Curiosamente, entre a UHE Salto Caxias e o Parque Nacional um novo empreendimento encontra-se em construção, a Usina Hidrelétrica do Baixo Iguaçu. Esse empreendimento, portanto, deve ser alvo de avaliação de novas introduções no sistema do Rio Iguaçu. Por se tratar de uma grande obra de engenharia civil, o transporte de areia proveniente do Rio Paraná deve ser avaliado como o vetor de maior potencial. Essas ações devem ser efetivadas com urgência para que medidas de mitigação e prevenção possam ser aplicadas o mais rapidamente possível.

Larvas como proxy da genética populacional

Uma vez que, em geral, não houve diferenciação genética significativa entre populações de adultos e larvas com base no gene COI para o mexilhão dourado, a proposta de utilização de larvas para estudo do perfil

genético de populações de *L. fortunei* é válida. Entretanto, o caso do Parque Nacional do Iguaçu deixa evidente que esse protocolo não pode ser aplicado de forma irrestrita. Neste ponto, apesar de não haver diferenciação genética significativa entre adultos e larvas, foi detectada uma diferença qualitativa clara entre os haplótipos encontrados nesses dois compartimentos ambientais (Figura 4; Tabela 3). O Parque Nacional é o único ponto amostrado cujo ambiente é lótico, com grande velocidade do fluxo unidirecional. Portanto, como comentado acima, as larvas coletadas no plâncton no local muito provavelmente refletem a reprodução de populações de *L. fortunei* adultas localizadas a montante. Assim, o uso de larvas como proxy da estrutura genética da população adulta local deve considerar essa falta de sincronia espacial e temporal quando a amostragem é realizada em ambientes lóticos. Adicionalmente, pequenas diferenças nas conclusões sobre a estruturação genética das populações analisadas não necessariamente atestam contra o uso de larvas como proxy da população local de adultos de *L. fortunei*. Idealmente, amostras de adultos e larvas devem ser utilizadas simultaneamente em estudos genéticos. Larvas são especialmente importantes por representar uma amostragem mais adequada das populações locais, especialmente quando bancos de adultos se encontram submersos a grandes profundidades ou durante períodos de cheia. Como recomendação e para evitar a amostragem de uma única nuvem de larvas, portanto associadas a um banco específico de adultos, a amostragem de larvas deve ser realizada através de arrastos diagonais, incorporando a maior extensão possível considerando profundidade e distância. A caracterização genética por larvas pode, ainda, representar um protocolo fundamental para avaliar os processos de dispersão da espécie, especialmente em ambientes recém-invadidos nos quais as populações de adultos podem ser de difícil detecção e amostragem. Essa metodologia pode representar uma estratégia igualmente útil para estudar também outras espécies, nativas ou invasoras, cujas larvas são dispersas pelo plâncton.

Agradecimentos

À Companhia Paranaense de Energia – COPEL e à Tractebel Energia, Concessionárias de Energia com as quais foram realizados serviços e projetos de P&D regulamentados pela Agência Nacional de Energia Elétrica – ANEEL e que forneceram dados para o desenvolvimento desta pesquisa. À Itaipu Binacional pelo fornecimento de amostras. À Sanepar pela autorização do estudo na Represa Piraquara II e pelo apoio em campo.

Referências

- Angonesi LG, Rosa NG, Bemvenuti CE (2008) Tolerance to salinities shocks of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* under experimental conditions. *Iheringia, Sér. Zool.*, Porto Alegre, 98(1):66-69.
- Belz CE (2006) Análise de risco de bioinvasão por *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857): um modelo para a bacia do rio Iguçu, Paraná. UFPR, 2006. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Zoologia. Universidade Federal do Paraná.
- Belz CE, Darrigran G, Netto OSM, Boeger WA, Junior PJR (2012) Analysis of four dispersion vectors in Inland Waters: the case of the invading bivalves in South America. *Journal of Shellfish Research* 31: 777–784, <http://dx.doi.org/10.2983/035.031.0322>
- Boeger W, Pie MR, Falleiros RM, Ostrensky A, Darrigran G, Dreher Mansur MC, Belz CE (2007) Testing a molecular protocol to monitor the presence of golden mussel larvae (*Limnoperna fortunei*) in plankton samples. *Journal of Plankton Research* 29(11): 1015-1019.
- Boltovskoy D, Correa N, Cataldo D, Sylvester F (2006). Dispersion and ecological impact of the invasive freshwater bivalve *Limnoperna fortunei* in the Rio de la Plata watershed and beyond. *Biological Invasions*, vol 8, p. 947–963.
- Cataldo D & Boltovskoy D (2000) Yearly reproductive activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as inferred from the occurrence of its larvae in the plankton of the lower Paraná River and the Río de la Plata estuary (Argentina). *Aquatic Ecology* 34: 307–317.
- Cataldo D, Boltovskoy D, Hermosa JL, Canzi C (2005) Temperature-dependent rates of larval development in *Limnoperna fortunei* (bivalvia: mytilidae). *J. Moll. Stud.* (71) 41–46. , <http://dx.doi.org/10.1093/mollus/eyi005>.
- Charif D, Lobry JR (2007) SeqinR 1.0-2: a contributed package to the R project for statistical computing devoted to biological sequences retrieval and analysis. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-35306-5_10.
- Claxton WT, Boulding EG (1998) A new molecular technique for identifying field collections of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and quagga mussel (*Dreissena bugensis*) veliger larvae applied to eastern Lake Erie, Lake Ontario, and Lake Simcoe. *Can. J. Zool.* 76: 194-198.
- Darrigran G (2002) Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland fresh water environments. *Biological Invasions* 4: 145–156, <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020521811416>
- Darrigran G, Damborenea C (2005) A South American bioinvasion case history: *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857), the golden mussel. *Amer. Malac. Bull.*, 20, 105-112.
- Darrigran G, Dreher Mansur MC (2009) Introdução e dispersão do *Limnoperna fortunei*. In “Introdução a Biologia das Invasões. O Mexilhão Dourado na América do Sul: biologia, dispersão, impacto, prevenção e controle” Ed. G Darrigran, C Damborenea, Cubo Editora, São Carlos, pp 89–110.
- Darrigran G, Damborenea C, Greco N (2007) Freshwater invasive bivalves in man-made environments: A case study of larvae biology of *Limnoperna fortunei* in a Hydroelectric Power Plant in South America. *Ambio* 36: 575–579.

- Darrigran GI, Boeger W, Damborenea CI, Maroñas MI (2009) Evaluation of sampling and analysis techniques for early detection of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in limit areas of its distribution. *Brazilian Journal of Biology* 69(3): 979-980. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842009000400029>
- Drake J, Bossenbroek J (2004) The potential distribution of zebra mussels in the United States. *BioScience* 54: 931-941. [http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054%5B0931:TPDOZM%5D2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054%5B0931:TPDOZM%5D2.0.CO;2).
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 5: 294-299.
- Furrer R., Nychka D, Sain S (2009) Fields: tools for spatial data. R package version 6.01. <http://CRAN.R-project.org/package=fields>.
- Gazulha V, Mansur MCD, Cybis LF, Azevedo SMFO (2012) Grazing impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on single-celled, colonial and filamentous cyanobacteria. *Braz. J. Biol.* 72(1): 33-39.
- Ludwig S, Tschá MK, Patella R, Oliveira AJ, Boeger WA (2014) Looking for a needle in a haystack: molecular detection of larvae of invasive *Corbicula* clams. *Management of Biological Invasions* 5(3).
- Mansur MCD, Richinitti LMZ, Santos CP (1999) *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857), invasive bivalve, Guaíba Bay, Rio Grande do Sul, Brazil. *Biociencias* 7 (2): 147-150.
- Mansur MCD, Santos CP, Darrigran G, Heydrich I, Callil CT, Cardoso FR (2003) Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (DUNKER), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia* 20 (1): 75-84.
- Mills EL, Leach JH, Carlton JT, Secor CL (1993) Exotic Species in the Great Lakes: A History of Biotic Crises and Anthropogenic Introductions. *J. Great Lakes Res.* 19(1): 1-54. [http://dx.doi.org/10.1016/S0380-1330\(93\)71197-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0380-1330(93)71197-1)
- Oliveira MD (2003) Ocorrência e impactos do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*, DUNKER 1857) no Pantanal Mato-Grossense. Circular Técnica, 38, EMBRAPA.
- Paolucci EM, Sardin P, Sylvester F, Perepelizin PV, Zhan A, Ghabooli S, Cristescu ME, Oliveira MD, MacIsaac HJ (2014) Morphological and genetic variability in an alien invasive mussel across an environmental gradient in South America. *Limnol. Oceanogr* 59(2): 400-412.
- Paradis E, Claude J, Strimmer K (2004) APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20:289-290.
- Pennings PS, Achenbach A & Foitzik S (2011) Similar evolutionary potentials in an obligate ant parasite and its two host species. *J. Evol. Biol.* 24: 871-886. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02223.x>
- Perepelizin PV, Boltovskoy D (2011) Thermal tolerance of *Limnoperna fortunei* to gradual temperature increase and its applications for biofouling control in industrial and power plants. *Biofouling* 27 (6): 667-674. <http://dx.doi.org/10.1080/08927014.2011.594504>.
- Pestana D, Pie MR, Ostrensky A, Boeger WA, Andreoli C, Franceschi F, Lagos P (2008) Seasonal variation in larval density of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) in the Iguaçú and Paraná Rivers, in the region of Foz do Iguaçú, Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51 (3): 607-612.
- Pestana D, Ostrensky A, Tschá MK, Boeger WA (2010) Prospecção do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) nos principais corpos hídricos do estado do Paraná, Brasil. *Pap. Avulsos Zool.* (São Paulo) 50 (34): 553-559.

- Pie, MR, Boeger WA, Patella L, *et al.* (2006) A fast and accurate molecular method for the detection of larvae of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Mollusca: Mytilidae) in plankton samples. *J. Mollus. Stud* 72: 218– 219.
- Santos CP, Würdig NL, Mansur MCD (2005) Fases larvais do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae), na bacia do lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22 (3): 702-708.
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) Arlequin ver. 2000: a software for population data analysis. Switzerland, University of Geneva, Genetic and Biometry Laboratory.
- Takeda AM, Mansur MCD, Fujita DS, Bibian JPR (2003) Ocorrência da espécie invasora de Mexilhão Dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) em dois pequenos reservatórios próximos a Curitiba, PR. *Acta Biológica Leopoldensia* 25(2).
- Vidigal T, Coscarelli D, Montresor LC (2013) Molecular studies in Brazilian malacology: Tools, trends and perspectives. *Lundiana* 11(1/2):47-63.
- Zanella O, Marenda LD (2002) Ocorrência de *Limnoperna fortunei* na Central Hidrelétrica de Itaipu. In: 5 Congresso Latinoamericano de Malacologia, São Paulo. Resumos. Instituto Butantan/Instituto de Biociências, USP, São Paulo, p. 41.
- Zhan A, Perepelizin PV, Ghabooli S, Paolucci E, Sylvester F, Sardiña P, Cristescu ME, MacIsaac HJ (2012) Scale-dependent post-establishment spread and genetic diversity in an invading mollusc in South America. *Diversity and Distributions* 18: 1042–1055. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-4642.2012.00894.x>

Apêndices

Apêndice C. Teste comparativo de AMOVA para adultos de *L. fortunei* entre PQ, CX e OS. Siglas conforme Tabela 1.

 AMOVA design and results :

Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984.
Excoffier, L., Smouse, P., and Quattro, J. 1992.
Weir, B. S., 1996.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among populations	2	0.473	-0.00259 Va	-0.86
Within populations	77	23.490	0.30506 Vb	100.86
Total	79	23.962	0.30247	
Fixation Index	FST :	-0.00858		

Significance tests (16002 permutations)

P-value = 0.51275+-0.00400

Apêndice D. Teste comparativo de AMOVA para adultos de *L. fortunei* entre IT, PQ, CX e OS. Siglas conforme Tabela 1.

 AMOVA design and results :

Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984.
Excoffier, L., Smouse, P., and Quattro, J. 1992.
Weir, B. S., 1996.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among populations	3	4.922	0.04260 Va	7.48
Within populations	101	53.250	0.52722 Vb	92.52
Total	104	58.171	0.56983	
Fixation Index	FST :	0.07477		

Significance tests (16002 permutations)

P-value = 0.00269+-0.00044

Apêndice E. Teste comparativo de AMOVA para larvas de *L. fortunei* entre IT, PQ e CX. Siglas conforme Tabela 1.

```

-----
AMOVA design and results :
-----

    Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984.
    Excoffier, L., Smouse, P., and Quattro, J. 1992.
    Weir, B. S., 1996.
-----

```

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among populations	2	2.102	0.02018 Va	3.83
Within populations	78	39.479	0.50614 Vb	96.17
Total	80	41.580	0.52632	
Fixation Index	FST :	0.03835		

```

-----
Significance tests (16002 permutations)
-----
P-value = 0.06155+-0.00168
-----

```

Apêndice F. Teste comparativo de AMOVA para larvas de *L. fortunei* entre PQ e CX. Siglas conforme Tabela 1.

```

-----
AMOVA design and results :
-----

    Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984.
    Excoffier, L., Smouse, P., and Quattro, J. 1992.
    Weir, B. S., 1996.
-----

```

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among populations	1	0.717	0.01335 Va	3.67
Within populations	53	18.556	0.35010 Vb	96.33
Total	54	19.273	0.36346	
Fixation Index	FST :	0.03674		

```

-----
Significance tests (16002 permutations)
-----
P-value = 0.18491+-0.00291
-----

```

EPÍLOGO

Este estudo fornece informações sobre os impactos expressivos que o mexilhão dourado vem causando ao setor elétrico brasileiro, e alerta para os prejuízos futuros a este e outros setores industriais. Além disto, fica evidente a vulnerabilidade da Região Amazônica à invasão de *Limnoperna fortunei*, fato que trará impactos ambientais irreparáveis. Desta forma, programas de prevenção precisam ser desenvolvidos de modo a evitar, ou retardar a chegada da espécie nesta e em outras regiões ainda livres do problema. Através de intensos programas de divulgação e educação ambiental, aliados ao conhecimento da espécie e dos vetores de dispersão em cada região, é possível retardar o processo de introdução e invasão do mexilhão dourado, prevenindo impactos e reduzindo custos com limpeza de sistemas de resfriamento, mão de obra, desgaste de materiais devido à abertura excessiva de equipamentos para manutenção e evitando o risco de indisponibilidade de geração de fornecimento de energia elétrica. Neste sentido, as ferramentas moleculares e a utilização de larvas nos estudos de genética de populações podem auxiliar no entendimento dos processos de dispersão da espécie.

Nas regiões com iminência de invasão, o monitoramento é fundamental, e pode ser inserido em programas de monitoramento de qualidade da água e ictiofauna em reservatórios. A detecção precoce da ocorrência de *L. fortunei* permite o desenvolvimento de ações para prevenir os sistemas industriais dos impactos de sua incrustação. É importante salientar que a eficiência de se prevenir a incrustação é muito maior do que controlá-la após atingir elevadas densidades.

Ainda, em usinas hidrelétricas, a implantação do sistema fechado deve ser levada em consideração em novos projetos, principalmente as que serão construídas em áreas de ocorrência ou próximas a elas.

REFERÊNCIAS

- Agudo-Padrón AI, Porto Filho E (2013) The Asiatic Golden Mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), in the Upper Uruguay River Basin, Southern Brazil: Current Situation to one year of its Regional Discovery. *Ellipsaria* 15(2): 31-35.
- Aneel (2014) BIG - Banco de Informações de Geração. <http://www.aneel.gov.br/aplicacoes/capacidadebrasil/capacidadebrasil.cfm>.
- Angonesi LG, Rosa NG, Bemvenuti CE (2008) Tolerance to salinities shocks of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* under experimental conditions. *Iheringia, Sér. Zool.*, Porto Alegre, 98(1):66-69.
- Avelar WEP, Martim SL, Vianna MP (2004) A new occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1856) (Bivalvia, Mytilidae) in the State of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Biol.* 64(4): 739-742.
- Belz CE (2006) Análise de risco de bioinvasão por *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857): um modelo para a bacia do rio Iguaçu, Paraná. UFPR, 2006. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Zoologia. Universidade Federal do Paraná.
- Belz CE, Darrigran G, Netto OSM, Boeger WA, Junior PJR (2012) Analysis of four dispersion vectors in Inland Waters: the case of the invading bivalves in South America. *Journal of Shellfish Research* 31: 777-784, <http://dx.doi.org/10.2983/035.031.0322>
- Boeger W, Pie MR, Falleiros RM, Ostrensky A, Darrigran G, Dreher Mansur MC, Belz CE (2007) Testing a molecular protocol to monitor the presence of golden mussel larvae (*Limnoperna fortunei*) in plankton samples. *Journal of Plankton Research* 29(11): 1015-1019.
- Boltovskoy D, Correa N, Cataldo D, Sylvester F (2006). Dispersion and ecological impact of the invasive freshwater bivalve *Limnoperna fortunei* in the Rio de la Plata watershed and beyond. *Biological Invasions*, vol 8, p. 947-963.
- Brugnoli E, Clemente J, Boccardi L, Borthagaray A, Scarabino F (2005) Golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) distribution in the main hydrographical basins of Uruguay: updates and predictions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 77(2): 235-244.
- Brugnoli E, Clemente JM (2002) Los moluscos exóticos en la Cuenca del Plata: su potencial impacto ambiental y económico. Sección Limnología. Facultad de Ciencias. Universidad de la República Oriental del Uruguay.
- Burlakova LE, Karatayev AY, Padilla DK (2000) The impact of *Dreissena polymorpha* (PALLAS) invasion on unionid bivalves. *International Review of Hydrobiology* 85(5-6): 529-541. [http://dx.doi.org/10.1002/1522-2632\(200011\)85:5/6<529::AID-IROH529>3.0.CO;2-O](http://dx.doi.org/10.1002/1522-2632(200011)85:5/6<529::AID-IROH529>3.0.CO;2-O).
- Burns MDM, Geraldi RM, Garcia AM, Bemvenuti CE, Capitoli RR, Vieira JP (2006) Primeiro registro de ocorrência do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* na Bacia de Drenagem da Lagoa Mirim, RS, Brasil. *Biociências* 14(1): 83-84.
- Caprari J (2006) Pinturas antiincrustantes. In: Darrigran G, Damborenea C (Eds.), 1ª ed, Bio-Invasión del mejillón dorado en el Continente Americano, Universidade Nacional de La Plata, 2006, pp181-211.
- Cataldo D & Boltovskoy D (2000) Yearly reproductive activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as inferred from the occurrence of its larvae in the plankton of the lower Paraná River and the Río de la Plata estuary (Argentina). *Aquatic Ecology* 34: 307-317.
- Cataldo D, Boltovskoy D, Hermosa JL, Canzi C (2005) Temperature-dependent rates of larval development in *Limnoperna fortunei* (bivalvia: mytilidae). *J. Moll. Stud.* (71) 41-46. <http://dx.doi.org/10.1093/mollus/eyi005>.

- Cataldo D, Boltovskoy D, Pose M (2002) Control del molusco incrustante *Limnoperna fortunei* mediante el agregado de moluscicidas al agua. In: Tercera jornada sobre conservación de la fauna íctica en el río Uruguay, Paysandu, Uruguay.
- Charif D, Lobry JR (2007) SeqinR 1.0-2: a contributed package to the R project for statistical computing devoted to biological sequences retrieval and analysis. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-35306-5_10.
- Claudi R (1995) Zebra mussel mitigation; Overview. In: Proceedings of the Fifth International Zebra Mussel and Other Aquatic Nuisance Organisms Conference, Toronto, Canada. pp. 47-55.
- Claxton WT, Boulding EG (1998) A new molecular technique for identifying field collections of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and quagga mussel (*Dreissena bugensis*) veliger larvae applied to eastern Lake Erie, Lake Ontario, and Lake Simcoe. *Can. J. Zool.* 76: 194-198.
- Clemente J, Brugnoli E (2002) First record of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in continental waters of Uruguay (Río Negro and Río Yí Rivers). *Bol Soc Zool Uruguay* 13: 29-33.
- Darrigran G (2002) Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland fresh water environments. *Biological Invasions* 4: 145–156, <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020521811416>
- Darrigran G, Boeger W, Damborenea CI, Maroñas MI (2009) Evaluation of sampling and analysis techniques for early detection of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in limit areas of its distribution. *Brazilian Journal of Biology* 69(3): 979-980. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842009000400029>.
- Darrigran G, Damborenea C (2005) A South American bioinvasion case history: *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857), the golden mussel. *Amer. Malac. Bull.*, 20, 105-112.
- Darrigran G, Damborenea C (2009) Características da espécie. In: Introdução a Biologia das Invasões. O mexilhão-dourado na América do Sul: biologia, dispersão, impacto, prevenção e controle, São Carlos, Cubo Editora, 246 pp.
- Darrigran G, Damborenea C (2011) Ecosystem engineering impacts of *Limnoperna fortunei* in South America. *Zoolog. Sci* 28:1–7.
- Darrigran G, Damborenea C, Drago EC, Ezcurra de Drago I, Paira A, Archuby F (2012) Invasion process of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae): the case of Uruguay River and emissaries of the Esteros del Iberá Wetland, Argentina. *Zoologia (Curitiba)* 29(6): 531-539, <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-46702012000600004>.
- Darrigran G, Damborenea C, Greco N (2007) Freshwater invasive bivalves in man-made environments: A case study of larvae biology of *Limnoperna fortunei* in a Hydroelectric Power Plant in South America. *Ambio* 36: 575–579.
- Darrigran G, Dreher Mansur MC (2009) Introdução e dispersão do *Limnoperna fortunei*. In “Introdução a Biologia das Invasões. O Mexilhão Dourado na América do Sul: biologia, dispersão, impacto, prevenção e controle” Ed. G Darrigran, C Damborenea, Cubo Editora, São Carlos, pp 89–110.
- Darrigran G, Ezcurra de Drago I (2000) Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. *The Nautilus* 114(2): 69-73.
- Darrigran G, Pastorino G (1995) The recent introduction of a freshwater asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South América. *The Veliger* 38(2): 171-175.
- Darrigran G, Vilches A & Legarralde T (2008) Desinterés del Pasado, Decisiones del Futuro: Educación para prevenir las invasiones biológicas. *Revista Educación en Biología*, 11(1):39-52.
- Darrigran GI, Boeger W, Damborenea CI, Maroñas MI (2009) Evaluation of sampling and analysis techniques for early detection of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in limit areas of its distribution. *Brazilian Journal of Biology* 69(3): 979-980. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842009000400029>

- Di Persia DH, Bonetto AA (1997) Nuevas citas de *Limnoperna fortunei* para la cuenca del río Paraná, Argentina. *Neotropica* 43(109-110): 119-120.
- Drake J, Bossenbroek J (2004) The potential distribution of zebra mussels in the United States. *BioScience* 54: 931-941. [http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054%5B0931:TPDOZM%5D2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054%5B0931:TPDOZM%5D2.0.CO;2).
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 5: 294–299.
- Furrer R., Nychka D, Sain S (2009) Fields: tools for spatial data. R package version 6.01. <http://CRAN.R-project.org/package=fields>.
- Garcia DAZ, Orsi ML, Casimiro ACR, Kurcheski G (2009) Registro de ocorrência de *Limnoperna fortunei* no médio e baixo Paranapanema: uma ameaça as suas águas. Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil, 13 a 17 de Setembro de 2009, São Lourenço – MG.
- Gazulha V, Mansur MCD, Cybis LF, Azevedo SMFO (2012) Grazing impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on single-celled, colonial and filamentous cyanobacteria. *Braz. J. Biol.* 72(1): 33-39.
- Giordani S, Neves OS, Andreoli CV (2005) *Limnoperna fortunei* ou mexilhão dourado: impactos causados, métodos de controle passíveis de serem utilizados e a importância do controle de sua disseminação. 23º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental. Mato Grosso do Sul, Brasil.
- Higgins SI, Richardson DM (1996) A review of models of alien plant spread. *Ecological Modelling*, 87: 249-265. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-3800\(95\)00022-4](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3800(95)00022-4).
- Ituarte CF (1997) *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) em la costa uruguaya del Río de la Plata. *Neotropica* 43(109-110): 117-118.
- IUCN (2000) Guidelines for the prevention of biodiversity loss caused by alien invasive species. In: 51st Meeting of the IUCN Council, Gland Switzerland.
- Karatayev AY, Boltovskoy D, Padilla DK, Burlakova LE (2007) The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts. *Journal of Shellfish Research* 26(1): 205–213.
- Kerley B, Brodie G, Helton B (2000) Hydro plant interim zebra mussel control strategy. Public Power Institute Study Closure Report 97026, Tennessee Valley Authority. Knoxville, Tennessee.
- Kimura T (1994) The earliest record of *Limnoperna fortunei* (DUNKER) from Japan. *Chiribotan* 25(2): 34–35.
- Kowalski EL, Kowalski SC (2008) Revisão sobre métodos de controle do mexilhão dourado em tubulações. Revista Produção on-line, 8(2). <http://dx.doi.org/10.14488/1676-1901.v8i2.119>.
- Langone JA (2005) Notas Sobre El Mejillón Dorado *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857) (BIVALVIA, MYTILIDAE) en Uruguay. Publ. Extra mus. Nac. Hist. Nat. Antropol. (Montev., En Línea) Número 1.
- Lima LL, Querol E, Oliveira EV (2008) Ocorrência de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Mytilidae) No Rio Quaraí, município de Barra do Quaraí, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biodiversidade Pampeana* 6(1): 50-52.
- Ludwig S, Tschá MK, Patella R, Oliveira AJ, Boeger WA (2014) Looking for a needle in a haystack: molecular detection of larvae of invasive *Corbicula* clams. *Management of Biological Invasions* 5(3).
- Mack RN (1995) Understanding the processes of weed invasions: the influence of environmental stochasticity. In: Stirton C, editor. Weeds in a changing world. British Crop Protection Council, Symposium Proceedings, n. 64. p. 65-74. Brighton, UK.

- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA (2000) Biotic Invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences and Control. *Ecological Applications* 10(3): 689-710. [http://dx.doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010%5B0689:BICEGC%5D2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010%5B0689:BICEGC%5D2.0.CO;2).
- Mäder Netto OS (2011) Controle da incrustação de organismos invasores em materiais de sistemas de resfriamento de usinas hidrelétricas. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais – PIPE.
- Mansur MCD, Pereira D (2006) Bivalves límnicos da bacia do rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Unionoidea, Veneroidea e Mytiloidea). *Revista Brasileira de Zoologia* 23 (4) 1123-1147.
- Mansur MCD, Richinitti LMZ, Santos CP (1999) *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857), invasive bivalve, Guaíba Bay, Rio Grande do Sul, Brazil. *Biociências* 7 (2): 147-150.
- Mansur MCD, Santos CP, Darrigran G, Heydrich I, Callil CT, Cardoso FR (2003) Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (DUNKER), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia* 20 (1): 75-84.
- Mansur MCD, Santos CP, Darrigran G, Heydrich I, Callil CT, Cardoso FR (2003) Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (DUNKER), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia* 20 (1): 75-84.
- Matsui Y, Nagaya K, Funahashi G, Goto Y, Yuasa A, Yamamoto H, Ohkawa K, Magara Y (2002) Effectiveness of antifouling coatings and water flow in controlling attachment of the nuisance mussel *Limnoperna fortunei*. *Biofouling* 18(2): 137-148. <http://dx.doi.org/10.1080/08927010290032395>.
- Mills EL, Leach JH, Carlton JT, Secor CL (1993) Exotic Species in the Great Lakes: A History of Biotic Crises and Anthropogenic Introductions. *J. Great Lakes Res.* 19(1): 1-54. [http://dx.doi.org/10.1016/S0380-1330\(93\)71197-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0380-1330(93)71197-1).
- Morton B (1977) The biology and functional morphology of *Modiolus metcalfei* (Bivalvia: Mytilacea) from the Singapore mangrove. *Malacologia* 16: 501-517.
- Morton B (1996) The aquatic nuisance species problem: a global perspective and review. In: Zebra mussels and aquatic nuisance species, capítulo 1, páginas 1 a 54. (Ed) F. Dimitri. Ann Arbor Press, Chelsea, Michigan. EUA.
- Nakano D, Kobayashi T, Sakaguchi I (2010) Differences in larval dynamics of golden mussel *Limnoperna fortunei* between dam reservoirs with and without an aeration system. *Landscape Ecol Eng* 6: 53-60. <http://dx.doi.org/10.1007/s11355-009-0082-7>.
- Oliveira M (2003) Ocorrência e Impactos do Mexilhão Dourado (*Limnoperna fortunei*, Dunker 1857) no Pantanal Mato-Grossense. Circular Técnica, 38, EMBRAPA.
- Oliveira MD, Hamilton SK, Jacobi CM (2010) Forecasting the expansion of the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei* in Brazilian and North American rivers based on its occurrence in the Paraguay River and Pantanal wetland of Brazil. *Aquat Invasions* 5: 59-73. <http://dx.doi.org/10.3391/ai.2010.5.1.8>.
- Oliveira MD, Pellegrin LA, Barreto RR, Santos CL, Xavier IG (2004) Área de Ocorrência do Mexilhão Dourado (*Limnoperna fortunei*) na Bacia do Alto Paraguai, entre os anos de 1998 e 2004. Documento 64, EMBRAPA.
- Oliveira MD, Takeda AM, Barros LF (2006) Invasion by *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) of the Pantanal wetland, Brazil. *Biological Invasions* 8: 97-104. <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-005-0331-0>.

- Paolucci EM, Sardin P, Sylvester F, Perepelizin PV, Zhan A, Ghabooli S, Cristescu ME, Oliveira MD, MacIsaac HJ (2014) Morphological and genetic variability in an alien invasive mussel across an environmental gradient in South America. *Limnol. Oceanogr* 59(2): 400–412.
- Paradis E, Claude J, Strimmer K (2004) APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20:289–290.
- Pareschi DC, Matsumura-Tundisi T, Medeiros GR, Luzia AP, Tundisi JG (2008) First occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) in the Rio Tietê watershed (São Paulo State, Brazil). *Brazilian Journal of Biology* 68(4): 1107-1114. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842008000500017>.
- Pastorino G, Darrigran G, Martin SM & Lunaschi L, 1993. *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857) (Mytilidae), a new bivalve invading the waters of Rio de La Plata. *Neotropica La Plata*, 39: 101-102.
- Pennings PS, Achenbach A & Foitzik S (2011) Similar evolutionary potentials in an obligate ant parasite and its two host species. *J. Evol. Biol.* 24: 871–886. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02223.x>
- Perepelizin PV, Boltovskoy D (2011) Thermal tolerance of *Limnoperna fortunei* to gradual temperature increase and its applications for biofouling control in industrial and power plants. *Biofouling* 27 (6): 667–674. <http://dx.doi.org/10.1080/08927014.2011.594504>.
- Pereyra PJ, Bulus Rossini G and Darrigran G (2011) Toxicity of three commercial tannins to the nuisance invasive species *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): implications for control. *Fres Env Bull* 20: 1432-1437.
- Pestana D, Ostrensky A, Tschá MK, Boeger WA (2010) Prospecção do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) nos principais corpos hídricos do estado do Paraná, Brasil. *Pap. Avulsos Zool.* (São Paulo) 50 (34): 553-559.
- Pestana D, Pie MR, Ostrensky A, Boeger WA, Andreoli C, Franceschi F, Lagos P (2008) Seasonal Variation in Larval Density of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) in the Iguaçú and Paraná Rivers, in the Region of Foz do Iguaçú, Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51 (3): 607-612.
- Pie, MR, Boeger WA, Patella L, *et al.* (2006) A fast and accurate molecular method for the detection of larvae of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Mollusca: Mytilidae) in plankton samples. *J. Mollus. Stud* 72: 218– 219.
- Pimentel D, Zuniga R, Morrison D (2005) Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* 52: 273–288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2004.10.002>.
- Ricciardi A (1998) Global range expansion of the asian mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): another fouling threat to freshwater systems. *Biofouling* 13(2): 97-106.
- Ricciardi A, MacIsaac MJ (2000) Recent Mass Invasion of the North American Great Lakes by Ponto-Caspian species. *TREE* vol. 15. 62-65.
- Roman J, Darling JA (2007) Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 454–464.
- Ruiz GM, Fofonoff PW, Carlton JT, Wonham MJ, Hines AH (2000) Invasion of coastal marine communities in North America: apparent patterns, processes, and biases. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 481–531. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.481>.
- Ruppert EE, Barnes RD (1996) *Zoologia dos Invertebrados*. Ed. Roca. São Paulo, SP: pp. 412-413.

- Santos CP (2011) Desenvolvimento de metodologia para controle das larvas de *Limnoperna fortunei* com o uso de radiação ultravioleta e seus impactos sobre *Microcystis aeruginosa* potencialmente presentes na água superficial. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ecologia.
- Santos CP, Würdig NL, Mansur MCD (2005) Fases larvais do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae), na bacia do lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22 (3): 702-708.
- Scarabino F, Verde M (1994) *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) em la costa Uruguaya del rio de La Plata (Bivalvia; Mytilidae). *Com. Soc. Malac. Urug* 7(66-67): 374-375.
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) Arlequin ver. 2000: a software for population data analysis. Switzerland, University of Geneva, Genetic and Biometry Laboratory.
- Silva JSV, Souza RL (2004) Água de Lastro e Bioinvasão. Editora Interciência. Rio de Janeiro, RJ.
- Takeda AM, Mansur MCD, Fujita DS, Bibian JPR (2003) Ocorrência da espécie invasora de Mexilhão Dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) em dois pequenos reservatórios próximos a Curitiba, PR. *Acta Biológica Leopoldensia* 25(2).
- Uliano-Silva M, Fernandes FFCF, Holanda IBB, Rebelo MF (2013) Invasive species as a threat to biodiversity: The golden mussel *Limnoperna fortunei* approaching the Amazon River basin. In: “Exploring Themes on Aquatic Toxicology” Ed. Allodi S, Research Signpost, Kerala, India.
- Vidigal T, Coscarelli D, Montresor LC (2013) Molecular studies in Brazilian malacology: Tools, trends and perspectives. *Lundiana* 11(1/2):47-63.
- Villar C, Mercado L, Capítulo AR, Bonetto C (1997) Presencia del molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia; Mytilidae) em el bajo Paraná. *Gayana Zool.* 61(2): 87-96.
- Von Rückert GB, Campos MCS, Rolla ME (2004) Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de Cyanobacteria. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 26 (4): 421-429. <http://dx.doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v26i4.1523>.
- Walther GR, Roques A, Hulme PE, Sykes MT, Pysek P, Kühn I, Zobel M, Bacher S, Botta-Dukát Z, Bugmann H, Czúcz B, Dauber J, Hickler T, Jarosík V, Kenis M, Klotz S, Minchin D, Moora M, Nentwig W, Ott J, Panov VE, Reineking B, Robinet C, Semchenko V, Solarz W, Thuiller W, Vilà M, Vohland K, Settele J (2009) Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends Ecol. Evol.* 24: 686-693. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.008>.
- Walther, G. R. et al. 2009 Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends Ecol. Evol.* 24, 686 – 693. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.008>.
- Zanatta DT, Mackie GL, Metcalfe-Smith JL, Woolnough DA (2002) A refuge for native freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) from impacts of the exotic zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Lake St. Clair. *Journal of Great Lakes Research* 28(3) 479–489. [http://dx.doi.org/10.1016/S0380-1330\(02\)70599-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0380-1330(02)70599-6).
- Zanella O, Marenda LD (2002) Ocorrência de *Limnoperna fortunei* na Central Hidrelétrica de Itaipu. In: 5 Congresso Latinoamericano de Malacologia, São Paulo. Resumos. Instituto Butantan/Instituto de Biociências, USP, São Paulo, p. 41.
- Zhan A, Perepelizin PV, Ghabooli S, Paolucci E, Sylvester F, Sardiña P, Cristescu ME, MacIsaac HJ (2012) Scale-dependent post-establishment spread and genetic diversity in an invading mollusc in South America. *Diversity and Distributions* 18: 1042–1055. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-4642.2012.00894.x>