

Carlos Andrés Santana Vergara¹, Natalie Swan²

¹ TEMA LITOCLEAN SAC, Av. J, Av. José Galvez Barrenechea 566, San Isidro, Lima, Perú (carlos.santana16@gmail.com)

² Nature Metrics, 1 Occam Court, Surrey Research Park, Guildford GU2 7HJ, United Kingdom (natalie.swan@naturemetrics.co.uk)

RESUMEN

La ejecución de programas de monitoreo biológico es un desafío para la gestión ambiental de proyectos mineros, principalmente por la alta demanda de recursos y tiempo que requiere y la poca certeza sobre sus resultados. Por ello, se presenta el uso del ADN ambiental como una alternativa de calidad y probada eficiencia. La aplicación de análisis de ADN ambiental en un programa de monitoreo implica tener en cuenta aspectos sobre la ecología del ADN ambiental, las etapas requeridas para su análisis y el estado de desarrollo de las distintas aplicaciones existentes. Estando en pleno desarrollo, es muy importante considerar su aplicación con el objetivo de optimizar los programas de monitoreo para que estos se conviertan en verdaderas herramientas de gestión y soporte para la toma de decisiones en los proyectos mineros.

1. Introducción

Cuando la tripulación de *Star Trek*, llegaba a un planeta desconocido, utilizaba el *Tricorder* para determinar las formas de vida existentes en él de forma rápida y segura. Esta información era vital para el equipo de viajeros, pues permitía tomar muchas decisiones sobre su aventura. A estas formas de vida las conocemos como especies, y conocer la diversidad de especies de un lugar nos ayuda no solo a tener una referencia del sitio, sino que es la base y sustento de cualquier proyecto de desarrollo sostenible.

Perú es un país megadiverso, donde el conocimiento sobre las especies biológicas existentes está en constante crecimiento (MINAM, 2019). Nuestro país alberga 84 de las 117 zonas de vida del mundo (MINAM, 2010) y destaca en diversidad de especies para varios grupos como plantas (20533), aves (1857), anfibios (622), reptiles (469), mamíferos (559) y artrópodos (30547), entre otros (MINAM, 2019). Además, muchas de estas especies se encuentran

amenazadas, solo se registran en determinados sitios o son altamente valoradas por comunidades locales, por lo que su correcta identificación e inclusión en la gestión ambiental es obligatoria para cualquier proyecto de desarrollo.

La protección y conservación de la biodiversidad, el mantenimiento de los servicios ecosistémicos y el manejo sostenible de los recursos naturales vivos son aspectos fundamentales para el desarrollo sostenible. En ese sentido, el proceso de identificación de los riesgos e impactos, considera los impactos directos e indirectos del proyecto minero sobre la biodiversidad, con especial atención en situaciones como la destrucción del hábitat, degradación y fragmentación, especies exóticas invasivas, sobreexplotación, cambios hidrológicos, carga de nutrientes y contaminación. Por ello, uno de los componentes más desafiantes para la gestión ambiental de un proyecto minero, sobre todo en países megadiversos como Perú, son los monitoreos biológicos.

Cada vez son más las tecnologías que buscan optimizar (en tiempo y calidad) la ejecución de las evaluaciones biológicas. En particular, existen recientes y rápidos avances respecto al uso del ADN ambiental (eDNA), es decir, el análisis del material genético recolectado de muestras ambientales como suelo, agua o aire (Taberlet et al. 2012, Yu, 2012; Hebert et al. 2003; Hollingsworth et al. 2009; Creer et al. 2010; Medinger et al. 2010; Yao et al. 2010; Bruce, 2018). En el presente artículo se explica de que trata el ADN ambiental y como puede utilizarse para optimizar los monitoreos biológicos, un aspecto transcendental de la gestión ambiental en los proyectos mineros.

La importancia de este artículo está en presentar detalles fundamentales de esta tecnología para cualquier aplicación de la misma, incluidos aquellos aspectos a tener bajo control para una adecuada interpretación de los resultados.

2. Tecnología del ADN ambiental

2.1. ADN ambiental

ADN son las siglas de ácido desoxirribonucleico, conocido como la molécula de la vida y que lleva codificada la información genética característica de todos los organismos vivos y algunos virus, siendo también responsable de la transmisión hereditaria de esta información (Marínez-Frías, 2010). Se encuentra en todo el organismo y al leerlo (como un código de barras), se puede identificar patrones exclusivos de una especie, independientemente del género, edad o condición.

Desde hace mucho tiempo se conoce que el ambiente es un gran reservorio de ADN proveniente de diversos organismos (Bohmann et al 2014). Aunque no parezca, muchos espacios terrestres y acuáticos contienen ADN. Las moléculas de ADN son liberadas desde la piel, mucosa, saliva, esperma, secreciones, óvulos, heces, orina, sangre, raíces, hojas, frutos, polen e incluso cuerpos podridos (Taberlet et al., 2012; Bohmann et al., 2014; Barnes & Turner, 2016). A estas moléculas de ADN, presentes en el ambiente fuera de los organismos vivos, se les conoce como ADN ambiental y a lo largo del tiempo, se han desarrollado varios métodos para colectarlas, preservarlas, analizarlas e identificarlas.

Es muy importante entender algunos aspectos sobre la ecología del ADN ambiental, los cuales se presentan de manera resumida en la Figura N° 1:

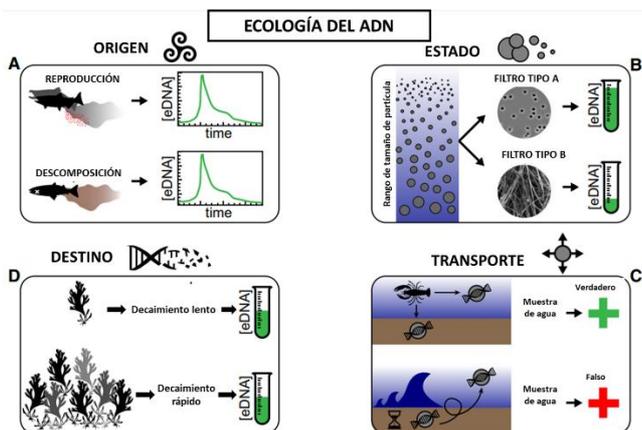


Figura N° 1: Aspectos que componen la ecología del ADN ambiental. Fuente: Traducido de Barnes & Turner, 2016.

2.2.1. Origen

Existen muchas fuentes de liberación de ADN al ambiente; sin embargo, la cantidad de ADN liberada es variable. Se conoce que muchos factores (como el tamaño del organismo, la edad o la temperatura, entre otros) pueden influir en la cantidad de material

genético liberado por los organismos hacia el ambiente (Pilliod et al 2014; Maruyama et al 2014; Klymus et al 2014; Poté et al 2009). El hecho de que el ADN de los organismos superiores pueda ser colectado del ambiente, donde puede ser muestreado, extraído y analizado, representa un gran avance tecnológico y científico en la última década (Thomsem P.F y Willersley E., 2015).

Este aspecto es importante a considerar en las estrategias de colecta de ADN y los diseños de muestreo, además de los procedimientos de almacenamiento.

2.2.2. Estado

Asimismo, se ha investigado mucho el estado en que se encuentra el ADN en el ambiente. (Levy-Booth et al 2007; Turner, 2014; Deiner et al, 2015), lo que incluye el tamaño de las partículas, dinámicas de agregación y transporte. Este aspecto es muy importante pues determina los métodos de colecta y filtrado, entre otros.

2.2.3. Transporte

Una vez liberado al medio desde el organismo, el ADN ambiental se mueve a través de su entorno, lo que influye sobre cualquier inferencia que se haga al analizar los resultados de un muestreo de ADN ambiental. Se han hecho muchas investigaciones sobre este aspecto, incluyendo la transferencia acuática-terrestre (Douville et al. 2007), el movimiento aguas abajo en un curso de agua (Foppen et al, 2011), en aguas subterráneas (Pote et al. 2009) y el transporte vertical en la columna de agua (Turner et al. 2015) y muchos más. Como indican Barnes & Turnes (2016) *“comprender el transporte es esencial para inferir relaciones sobre el ADN ambiental detectado con la presencia de especies tanto en el espacio (es decir, qué tan cerca estaba una especie del sitio de detección de ADN ambiental) como en el tiempo (es decir, qué tan recientemente estuvo presente la especie detectada)”*. Este es un aspecto fundamental para los programas de monitoreo biológico, pues se debe relacionar los registros de especies con los impactos previstos y las medidas de mitigación aplicadas. En general, es fundamenta poder ser capaz de conectar una detección positiva de ADN ambiental dentro de límites espaciales y temporales específicos.

2.2.4. Destino

Si bien se ha detectado ADN ambiental muy antiguo en ambientes terrestres (Willerslev et al. 2003; Lydolph et al. 2005; Haile et al. 2009) y acuáticos (Matisoo-Smith et al. 2008; Anderson-Carpenter et al. 2011; Pedersen et al. 2013); el ADN posee una estabilidad

química limitada (Lindahl, 1993); por lo que, en la mayoría de los casos, tan pronto como se libera desde un organismo, comienza a degradarse.

Los factores que influyen en la persistencia del ADN ambiental se dividen en tres grandes categorías: A) características del ADN (conformación, longitud y asociación con otros componentes celulares), B) el ambiente abiótico (luz, oxígeno, pH, salinidad y tipos de sustrato) y C) el entorno biótico (composición y actividad de la comunidad microbiana y las enzimas extracelulares) (Barnes & Turner, 2016). Entender estos aspectos es muy importante para la capacidad de análisis sobre los resultados de la detección de ADN ambiental y las interacciones con su entorno.

Estos aspectos son clave para planificar adecuadamente una estrategia de muestreo y colecta de ADN ambiental que responda de forma óptima a los objetivos de una gestión ambiental.

2.2. Secuenciamiento

Una vez colectado el ADN ambiental, el siguiente paso es "leerlo". Si imaginamos a la molécula de ADN como un libro, la información contenida en el ADN se halla en forma de palabras formadas por letras. Pero en este caso las letras se encuentran mezcladas y el objetivo del secuenciamiento es ordenar estas letras para formar palabras y frases con sentido y que, además, sean distintivas de una determinada especie. Porque existen partes del ADN distintivas de especies, pues son fracciones del mismo que ayudan a identificar una especie y a distinguir a todos los especímenes pertenecientes a su categoría. A este proceso de lectura del ADN ambiental se le conoce como secuenciamiento.

La continua aplicación de técnicas basadas en ADN ambiental ha sido facilitada por el increíble desarrollo de las tecnologías de secuenciación (Shokralla et al. 2012). Actualmente, se ha generado mucha experiencia en el uso de las tecnologías de secuenciamiento y se ha logrado identificar aquellas que funcionan mejor según el enfoque de la investigación. Tecnologías de secuenciación como la de Roche serie GS, serie Illumina Genome Analyzer y serie IonTorrent, pueden trabajar en paralelo el proceso de secuenciación de varias muestras, produciendo de miles a miles de millones de secuencias de ADN y lecturas.

El potencial para utilizar la secuenciación de ADN ambiental como un medio para obtener medidas de abundancia a través de grandes escalas y varios taxones simultáneamente ofrece la promesa de detectar relaciones cooperativas y competitivas a través de pruebas sólidas de co-ocurrencia. Dentro de

los próximos años, se puede prever una red mundial coordinada de actividades de vigilancia y monitoreo de ADN ambiental.

La aplicabilidad de estos datos proporcionará un marco potencial para la predicción de redes mundiales de ecosistemas y permitiría el desarrollo de modelos dinámicos a nivel de todo el ecosistema. Tales análisis permitirán, por ejemplo, explorar cuestiones de larga data relacionadas con la naturaleza y la dinámica de los cambios en la asamblea comunitaria

2.3. Base de datos

Una vez generada cada secuencia, como se desconoce a que especie pertenece, se le denomina OTU "*Operative Taxonomic Unit*" o unidad taxonómica operativa de manera provisional. Los métodos más comunes emplean la similitud de secuencia como criterio para identificar un OTU como una especie determinada. Estas secuencias de referencia se encuentran en bases de datos como *Gene Bank* y otras. Sin embargo, cuando se trata de especies poco frecuentes, sitios poco estudiados o muy raros, es difícil encontrar una base de datos referencial. Por ello es importante conocer la disponibilidad de bases de datos del encargado de ejecutar la interpretación de los resultados de ADN ambiental. Otra alternativa es construir una librería del sitio antes de ejecutar el monitoreo.

Trabajar con bibliotecas de referencia incompletas y la presencia de secuencias derivadas de especímenes mal identificados generan que el origen de la especie de muchos registros de ADN ambiental siga siendo incierto. Como resultado, una gran parte de la diversidad fácilmente detectable permanece sin clasificar y, por lo tanto, no podrá ser utilizada en la gestión ambiental. Algo similar a lo que ocurre cuando el resultado de un monitoreo biológico tradicional son muchas especies "no identificadas" o solo identificadas a niveles taxonómicos tan altos y generales que no permiten concluir al respecto.

Utilizar bases de datos de referencia reconocidas y específicas para un grupo objetivo de organismos puede mejorar en gran medida las identificaciones taxonómicas (Harris, 2003) y aumentan sustancialmente su resolución (Valentini et al, 2016) al mismo tiempo que reduce drásticamente el tiempo para obtener resultados.

Para muchos proyectos, trabajar con bibliotecas de referencia locales es particularmente importante, por ejemplo, en estudios taxonómicos amplios que se enfocan en especies raras (Chain et al. 2016). Además, es importante revisar que las bases de datos de

referencia estén actualizadas y contengan entradas para las especies de interés. Finalmente, la correcta identificación taxonómica es la clave para detectar organismos con roles ecológicos específicos (Creer et al. 2016, Ratnasingham & Hebert 2007) y desarrollar indicadores biológicos de calidad para la gestión ambiental.

3. Aplicación en monitoreo biológico

Actualmente, las evaluaciones biológicas utilizan el método morfológico tradicional basado en el registro de especies (o evidencias) y su identificación mediante claves taxonómicas morfológicas.

Existe un acuerdo común entre los expertos sobre el mayor valor de evaluaciones reales comparadas con aquellas estimadas a partir de evidencias (Lindenmayer & Likens, 2010; Mcroberts et al., 2012). Sin embargo, las evaluaciones directas de los niveles de biodiversidad no son sencillas, pues la biodiversidad es de carácter amplio, multidimensional y multiescalar, por lo que es muy difícil monitorear los cambios en el espacio y el tiempo (Puumalainen et al. 2003). Por ello, censar la biodiversidad completamente, incluso en las escalas espaciales y temporales más pequeñas, es a menudo una tarea prohibitivamente costosa y difícil

A nivel internacional, la calidad de los programas de monitoreo ha sido criticada por no traducirse claramente en una mejor toma de decisiones ambientales (Prado Filho & Souza, 2004), principalmente de los programas de monitoreo ecológico y de biodiversidad que deben tener hipótesis bien formuladas, metodología consistentes y rigor estadístico (Legg & Nagy, 2006). Sin rigor científico, los datos recopilados pueden no tener valor para la toma de decisiones, lo que representa una debilidad para cualquier programa de monitoreo. Existen otras limitaciones importantes de la metodología tradicional:

- Alta incertidumbre en las determinaciones taxonómicas: La identificación taxonómica mediante el método tradicional morfológico demanda tiempo y experiencia (Bienert et al, 2012; Querner & Bruckner, 2010), ya que la diversidad es a menudo difícil de caracterizar debido, entre otros, a su ambigüedad morfológica y su diversidad críptica (Smith et al, 2008; Yu et al, 2012). Por ello, las identificaciones son realizadas por expertos en los grupos taxonómicos de interés; lo que genera dependencia del nivel de *expertise* del identificador, de la capacidad de identificación (si existen claves de identificación) para la especie y, además, en muchos casos, no se cuenta con una evidencia de la identificación, solo la observación del evaluador.

Además, existen sesgos conocidos en los métodos comúnmente utilizados para la colecta de organismos y la eficiencia de extracción varía para diferentes taxones a través de los tipos de matriz ambiental y bajo diferentes condiciones de colecta.

Estas situaciones generan indicadores biológicos sesgados (Kelly et al. 2014; Yu et al 2012) y nula trazabilidad de las observaciones. Como consecuencia, se ejecutan programas de monitoreo poco eficientes en el uso de recursos, sub interpretados y que no poseen gran utilidad como herramientas de gestión ambiental (Favreau et al. 2006; Lewandowski et al, 2010).

- Complejidad de las evaluaciones. Debido a las diversas características de las especies de flora y fauna de interés, los métodos de evaluación son muy diversos para cada grupo taxonómico. Esto implica que sean necesarios muchos materiales, equipos, días de muestreo y personal.

Esta demanda intensa en el uso de recursos humanos, en sitios remotos y de difícil acceso generan grandes complejidades para la aplicación de evaluaciones biológicas que muchas veces condicionan la ejecución de las mismas a las facilidades operativas disponibles en el lugar.

Los programas de monitoreo biológico, mediante el método tradicional son muy importantes para evaluar la efectividad de medidas de gestión ambiental en los proyectos mineros, sirven como alerta temprana ante cambios en las dinámicas de las especies, contribuyen al aseguramiento de la sostenibilidad ambiental y forman parte de las buenas prácticas del desarrollo sostenible. Por ello, requieren optimizarse y herramientas como la aplicación del ADN ambiental son cruciales para lograrlo.

4. Aplicación del ADN ambiental en los programas de monitoreo biológico

Existen dos enfoques para el estudio del eDNA:

- El primer enfoque (qPCR) tiene como objetivo detectar la presencia de una especie única (por ejemplo, una plaga o especie parte de un compromiso ambiental). Estas especies objetivo generalmente se seleccionan en función de su importancia ecológica o amenaza de bioseguridad (específicamente especies exóticas invasoras no nativas).

- Al segundo enfoque se le conoce como metabarcoding. Este enfoque se utiliza para detectar simultáneamente varias especies en un sitio, incluidas especies de varios grupos taxonómicos diferentes. Así como un láser lee el código de barras de un objeto y lo identifica, mediante metabarcoding “leemos” las moléculas de ADN ambiental de interés, identificando varias especies de forma simultánea. De esta manera, se puede conocer, para un espacio y tiempo determinado, que especies se encuentran en una muestra de agua, suelo u otra matriz ambiental.

Entre las muchas ventajas que ofrece esta herramienta en comparación al método tradicional encontramos:

- Menor tiempo para la obtención de resultados: Se requiere de una fracción del tiempo que toman los métodos tradicionales para determinar la presencia de una especie en particular y además, el tiempo requerido para las evaluaciones en campo se pueden reducir significativamente.
- Uso más eficiente de recursos económicos: Requiere una menor inversión de recursos en campo, tanto para personal como materiales y equipos, así como el asociado a la logística requerida por los esfuerzos en campo del monitoreo biológico tradicional.
- Mayor seguridad: Reduce la necesidad de manipular especímenes (bioseguridad) y/o la movilización de grandes grupos de personas en campo. En un contexto de riesgos sanitarios y distanciamiento social, esta es una gran oportunidad para el desarrollo de trabajos en campo.
- Mayor certeza sobre los resultados. El proceso entero es trazable y auditable. La identificación mediante ADN ambiental es objetiva, independiente del especialista que la realice. Con millones de moléculas de ADN ambiental desprendidas de un solo organismo, es mucho más probable encontrar su ADN en el ambiente que al organismo mismo que lo dejó allí.
- Otro beneficio se relaciona con la capacidad de estos métodos para revelar la presencia de

organismos que de otra manera no podrían ser muestreados (especies raras o efímeras) o reconocidos (especies crípticas, etapas larvales, especímenes degradados) (Caesar et al. 2006, Jerde et al. 2011). Especies que difícilmente podrían ser detectadas con el método tradicional y resultan fundamental incluir en la gestión ambiental.

- Otra de las principales ventajas es la relativa facilidad con la que se pueden recolectar muestras de ADN ambiental, permitiendo analizar la dinámica de la diversidad de la comunidad a través del tiempo. En lugar de observar instantáneas estáticas que están limitadas por la dificultad de la observación del método tradicional, se pueden realizar muestreos de especies en un área tan a menudo como lo permita su geografía, creando lo que podría imaginarse como un "video de ADN ambiental *stop-motion*" (Bohmann et al, 2014). Esto significa que se pueden analizar indicadores biológicos certeros a través del tiempo, un análisis muy complicado de hacer en programa de monitoreo biológico tradicional.

A pesar de las habilidades especializadas y el equipo de laboratorio necesarios para el análisis, la recolección de muestras es muy simple, lo suficiente como para que cualquier persona con una rápida capacitación pueda recolectar muestras de calidad. Esto ofrece oportunidades para involucrar, por ejemplo, a las comunidades locales y otras partes interesadas en programas de monitoreo participativo a largo plazo.

Por lo anteriormente expuesto, la aplicación de ADN ambiental en un programa de monitoreo biológico requiere especial atención en todas sus etapas (Figura N° 2), sobre todo en el Planeamiento, pues será la etapa donde se defina la estrategia de muestreo a ejecutar según los objetivos y alcances del estudio.

Para nuestro país, es importante considerar también los permisos requeridos según normativa nacional, específicamente según el DS N° 019-2021 MINAM, norma que regula el “Acceso a recursos genéticos” a nivel nacional, el cual se debe tramitar ante SERFOR (para el caso de la fauna y flora) y ante PRODUCE en el caso de recursos hidrobiológicos.

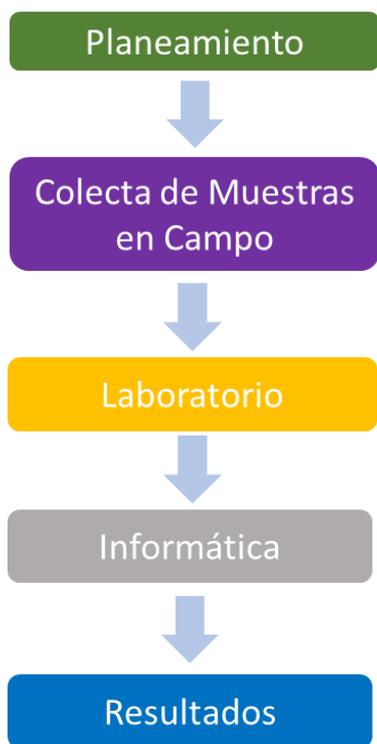


Figura N° 2: Etapas en el proceso de análisis de ADN ambiental. Fuente: Elaboración propia.

Cuando se combina la aplicación de ADN ambiental con tecnología para la transmisión de datos en vivo, drones y equipos como el MinION™ desarrollado por Oxford Nanopore Technologies para muestrear y analizar ADN ambiental in situ, las posibilidades de desarrollo son muy alentadoras.

En general, la ubicuidad de algunas muestras de ADN ambiental, como aquellas provenientes de muestras de agua, convierten al muestreo de ADN ambiental en una tecnología susceptible de automatización; por lo que abundan los emprendimientos que buscan integrar la recopilación y el análisis de datos genómicos con otras tecnologías de detección remota (como cámaras trampa, sensores remotos, acústicos u otros). Estas mismas características también pueden abrir la puerta a los esfuerzos de conservación e investigación a escalas geográficas sin precedentes al involucrar a científicos ciudadanos para que ayuden con la recolección de muestras ambientales (Biggs et al. 2015). Las posibilidades tecnológicas son muchas y el rápido avance de las ciencias computacionales aseguran su aplicabilidad.

Algunas aplicaciones del análisis de ADN ambiental están aún en desarrollo, como la estimación de abundancia relativa. El análisis cuantitativo del ADN ambiental busca ir más allá de las medidas de presencia de una especie, estimando su abundancia relativa en sistemas naturales (Jerde et al, 2011; Minamoto et al,

2012). No obstante, estas estimaciones de abundancia son indirectas, pues se basan en el supuesto que la magnitud de liberación de ADN ambiental al medio, está correlacionada con la abundancia o biomasa de los individuos respectivos. Aún se están desarrollando investigaciones para demostrar este supuesto y establecer protocolos que corrijan imprecisiones en la estimación. Las imprecisiones están relacionadas a la tasa de degradación del ADN, como afecta el entorno a las concentraciones de ADN y posibles errores en el proceso de extracción y secuenciamiento del ADN.

Otra aplicación en desarrollo trata de la detección de especies invasoras y monitoreo. Utilizar el análisis de ADN ambiental como un sistema de alerta temprana para la detección de especies invasoras y patógenos, en cualquier momento, y mediante muestreo de sustratos variados (agua de lastre de los barcos, hábitats de alto riesgo, etc.). El objetivo es contar con una herramienta para alertar sobre el inicio de procesos de invasión de especies exóticas antes de su establecimiento.

Finalmente, también se explora la aplicación del ADN ambiental para el seguimiento de especies a través de análisis de dieta. Tradicionalmente, estos análisis se realizan observando directamente lo que come un animal o recolectando sus heces y examinando fragmentos de sus presas en un microscopio. Para algunos animales, sin embargo, estos enfoques son inviables, como es el caso de murciélagos insectívoros, que cazan aéreamente en la oscuridad y mastican o anulan los fragmentos de presa más grandes. Utilizar ADN ambiental ha proporcionado un enfoque complementario, identificando a las presas a partir de las heces de estas especies, permitiendo el desarrollo de programa de conservación más eficientes y rentables, que generan información sobre dietas a gran escala (Bohmann et al, 2011; Deagle et al, 2009; Pegard et al 2009). Sin embargo, aún se están desarrollando los protocolos y procedimientos específicos para determinados organismos y situaciones.

4. Experiencias en proyectos mineros

A la fecha, se han desarrollado múltiples experiencias en proyectos mineros en el mundo aplicando el ADN ambiental.

Algunas minas de Canadá y Estados Unidos ya utilizan al ADN ambiental en sus programas monitoreo biológico, enfocándose en especies indicadoras muy sensibles a los cambios ambientales. En Australia, uno de los proyectos iniciales de la alianza entre la compañía minera BHP y la Universidad de Curtin involucra cinco estudios de investigación que utilizarán ADN ambiental para ayudar a la preservación de

especies y la conservación de características marinas importantes.

En Brasil, se ha utilizado el monitoreo de ADN ambiental en sedimentos para evaluar los impactos sobre la biodiversidad ocasionados por accidentes con relaves mineros. Asimismo, se ha utilizado para evaluar la calidad ambiental de aguas subterráneas y en el monitoreo en procesos de restauración.

5. Conclusiones

El camino hacia la utilización del “tricorder” de Star trek tiene al ADN ambiental como principal protagonista. El enfoque ecosistémico en la gestión ambiental considera la biodiversidad de manera integral y, en ese sentido, utilizar al ADN ambiental constituye una gran oportunidad para optimizar la gestión ambiental

Sin embargo, hay mucho trabajo por hacer para continuar cerrando la brecha entre investigación y gestión considerando la aplicación e interpretación de métodos genéticos, incluidas las aplicaciones de ADN ambiental (Darling 2015), y la presente revisión proporciona un marco general para orientar la aplicación del ADN ambiental en los programas de monitoreo biológico de proyectos mineros.

La aplicación de ADN ambiental en los programas de monitoreo biológico está cobrando impulso. Sin embargo, aún se están desarrollando estándares para los protocolos para matrices menos estudiadas como los sedimentos. Los límites físicos y ecológicos del uso de ADN ambiental requieren ser considerados en el planteamiento de cualquier estrategia. Para algunos aspectos tratados en el artículo (como las estimaciones de abundancia relativa y dieta) es necesario un esfuerzo coordinado, no solo para los métodos de evaluación comparativa, sino también para integrar los resultados del análisis de ADN ambiental con los enfoques tradicionales. (datos taxonómicos y ecológicos)

Asimismo, es muy importante el enriquecimiento de bases de datos sobre especies peruanas de forma rigurosa y constante. Como se indicó líneas arriba, poseer una base de datos particular para un sitio es un gran soporte para el análisis de los resultados de un monitoreo biológico desarrollado mediante ADN ambiental

El monitoreo biológico mediante ADN ambiental es una oportunidad para la optimización de los programas de monitoreo biológico, generando datos que servirán para una adecuada gestión ambiental de los proyectos mineros, mediante una herramienta eficiente que generará información objetiva, sustentada y auditable,

para la toma de decisiones y el desarrollo sostenible de un proyecto minero.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración y constante apoyo del equipo TEMA LITOCLEAN para el desarrollo del presente artículo, así como a todo el equipo Nature Metrics. Ambas empresas apuestan por la aplicación de esta tecnología en proyectos de inversión y en la divulgación de esa tecnología.

Referencias

- Anderson-Carpenter, L.L., McLachlan, J.S., Jackson, S.T. (2011) Ancient DNA from lake sediments: bridging the gap between paleoecology and genetics. *BMC Evol Biol* 11:30. doi:10.1186/1471-2148-11-30.
- Barnes, M.A. & Turner, C.R. (2016). The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conserv Genet* (2016) 17:1–17.
- Bienert, F., De Danieli, S., Miquel, C. (2012) Tracking earthworm communities from soil DNA. *Mol Ecol* 21:2017–2030. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05407.x.
- Biggs, J., Ewald, N., Valentini, A., Gaboriaud, C., Dejean, T. (2015). Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring program for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biol. Conserv.* 183:19–28.
- Bohmann, K., Evans, A., Thomas, P., Carvalho, G., Creer, S., Knapp, M., Yu, D., De Bruyn, M. (2014). Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, June 2014, Vol. 29, No. 6. Elsevier. 358-367.
- Bohmann, K., Monadjem, A., Lemkuhl, C., Rasmussen, M., Zeale, M., Clare, E., Jones, G., Willerslev, E., Gilbert, M. (2011) Molecular diet analysis of two African free tailed bats (*Molossidae*) using high throughput sequencing. *PLoS ONE* 6, e21441.
- Bruce, K. (2018) DNA Metabarcoding of invertebrates to evaluate outcomes of ecological restoration. *Inpractice – Bulletin of the chartered Institute of Ecology and Environmental Management*. CIEEM, Issue 99: 13 – 17.
- Caesar, R.M., Sorensson, M., Cognato, A.I. (2006). Integrating DNA data and traditional taxonomy to streamline biodiversity assessment: an example from edaphic beetles in the Klamath ecoregion, California, USA. *Divers. Distrib.* 12:483–89.
- Chain, F.J.J., Brown, E.A., MacIsaac, H.J., Cristescu, M.E. (2016). Metabarcoding reveals strong spatial structure and temporal turnover of zooplankton communities

- among marine and freshwater ports. *Divers. Distrib.* 22:493–504.
- Creer, S., Deiner, K., Frey, S., Porazinska, D., Taberlet, P., Thomas, W.K. (2016). The ecologist's field guide to sequence-based identification of biodiversity. *Methods Ecol. Evol.* 7:1008–18.
- Creer, S. (2010) Second-generation sequencing derived insights into the temporal biodiversity dynamics of freshwater protists. *Molecular Ecology*, 19, 2829–2831.
- Deagle, B.E., Chirardia, A., McInnes, J., Jarman, S. (2010) Pyrosequencing faecal DNA to determine diet of little penguins: is what goes in what comes out? *Conserv. Genet.* 11, 2039–2048.
- Deiner, K., Walser, J., Machler, E., Altermatt, F. (2015) Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA. *Biol Conserv* 183:53–63. doi:10.1016/j.biocon.2014.11.018.
- Douville, M., Gagne, F., Blaise, C., Andre, C. (2007) Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. *Ecotoxicol Environ Saf* 66:195–203. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.01.002.
- Favreau, J.M., Drew, C.A., Hess, G.R., Rubino, M.J., Koch, F.H. & Eschelbach, K.A. (2006) Recommendations for assessing the effectiveness of surrogate species approaches. *Biodiversity and Conservation*, 15, 3949–3969.
- Foppen, J.W., Orup, C., Adell, R. et al (2011) Using multiple artificial DNA tracers in hydrology. *Hydrol Process* 25:3101–3106. doi:10.1002/hyp.8159.
- Haile, J., Froese, D.G., MacPhee, R.D.E. (2009) Ancient DNA reveals late survival of mammoth and horse in interior Alaska. *Proc Natl Acad Sci* 106:22363–22368.
- Harris, J.D. (2003). Can you bank on GenBank? *Trends Ecol. Evol.* 18:317–19.
- Hebert, P., Cywinska, A., Ball, S. & Dewaard, J. (2003) Biological identification through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 270, 313–321.
- Hollingsworth, P.M., Forrest, L.L., Spouge, J.L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., van der Bank, M., Chase, M.W., Cowan, R.S., Erickson, D.L., Fazekas, A.J., Graham, S.W., James, K.E., Kim, K.-J., Kress, W.J., Schneider, H., van AlphenStahl, J., Barrett, S.C.H., van den Berg, C., Bogarin, D., Burgess, K.S., Cameron, K.M., Carine, M., Chacón, J., Clark, A., Clarkson, J.J., Conrad, F., Devey, D.S., Ford, C.S., Hedderson, T.A.J., Hollingsworth, M.L., Husband, B.C., Kelly, L.J., Kesanakurti, P.R., Kim, J.S., Kim, Y.-D., Lahaye, R., Lee, H.-L., Long, D.G., Madrinan, S., Maurin, O., Meusnier, I., Newmaster, S.G., Park, C.-W., Percy, D.M., Petersen, G., Richardson, J.E., Salazar, G.A., Savolainen, V., Seberg, O., Wilkinson, M.J., Yi, D.-K. & Little, D.P. (2009) A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 12794–12797.
- Jerde, C.L., Mahon, A.R., Chadderton, W.L., Lodge, D.M. (2011). "Sight-unseen" detection of rare aquatic species using environmental DNA. *Conserv. Lett.* 4:150–57.
- Kelly, R.P., Port, J.A., Yamahara, K.M., Martone, R.G., Lowell, N. (2014). Harnessing DNA to improve environmental management. *Science* 344:1455–56.
- Klymus, K.E., Richter, C.A., Chapman, D.C., Paukert, C. (2014) Quantification of eDNA shedding rates from invasive bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* and silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*. *Biol Conserv* 183:77–84. doi:10.1016/j.biocon.2014.11.020.
- Legg, C., Nagy, L. (2006) Why most conservation monitoring is, but need not be, a waste of time. *J Environ Manage* 78 (2): 194 – 9. doi:10.1016/j.jenvman.2005.04.016.
- Levy-Booth, D., Campbell, R., Gulden, R. (2007) Cycling of extracellular DNA in the soil environment. *Soil Biol Biochem* 39:2977–2991. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.020.
- Lewandowski, A.S., Noss, R.F. & Parsons, D.R. (2010) The effectiveness of surrogate taxa for the representation of biodiversity. *Conservation Biology*, 24, 1367–1377.
- Lindahl, T. (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362:709–715.
- Lindenmayer, D. B., Likens, G.E. (2010) The science and application of ecological monitoring. *Biological Conservation*. Volume 143, Issue 6: 1317-1328.
- Lydolph, M.C., Jacobsen, J., Arctander, P. (2005) Beringian paleoecology inferred from permafrost-preserved fungal DNA. *Appl Environ Microbiol* 71:1012–1017. doi:10.1128/AEM.71.2.1012.
- Martínez-Frías, M.L. (2010) Estructura y función del ADN y de los genes. I Tipos de alteraciones de la función del gen por mutaciones. *Medicina de Familia SEMERGEN* Vol. 36. Núm. 5: 273 – 277.
- Maruyama, A., Nakamura, K., Yamanaka, H. (2014) The release rate of environmental DNA from juvenile and adult fish. *PLoS ONE* 9:e114639. doi:10.1371/journal.pone.0114639.

- Matisoo-Smith, E., Roberts, K., Welikala, N. (2008) Recovery of DNA and pollen from New Zealand Lake sediments. *Quat Int* 184:139–149. doi:10.1016/j.quaint.2007.09.013.
- Mcrobets, E. R., Winther, S., Chirici, G., LaPoint, E. (2012) Assessing Forest Naturalness. *Forest Science* 58(3):294-309. DOI:10.5849/forsci.10-075.
- Medinger, R., Nolte, V., Pandey, R.V., Jost, S., Ottenwälder, B., Schlötterer, C. & Boenigk, J. (2010) Diversity in a hidden world: potential and limitation of next-generation sequencing for surveys of molecular diversity of eukaryotic microorganisms. *Molecular Ecology*, 19, 32–40.
- MINAM (2019), Sexto informe nacional sobre diversidad biológica: la biodiversidad en cifras, Lima – Perú.
- MINAM (2015), Guía de inventario de la fauna silvestre / Ministerio del Ambiente, Dirección General de Evaluación, Valoración y Financiamiento del Patrimonio Natural. – Lima.
- Minamoto, T., Yamanaka, H., Takahara T., Honjo, M., Kawabata, Z. (2012) Surveillance of fish species composition using environmental DNA. *Limnology* 13, 193–197.
- Pedersen, M.W., Ginolhac, A., Orlando, L. (2013) A comparative study of ancient environmental DNA to pollen and macrofossils from lake sediments reveals taxonomic overlap and additional plant taxa. *Quat Sci Rev* 75:161–168. doi:10.1016/j.quascirev. 2013.06.006.
- Pegard A., Miquel, C., Valentini, A., Coissac, E., Bouvier, F., Francois, D., Taberlet, P., Engel, P., Pompanon, F. (2009) Universal DNA-based methods for assessing the diet of grazing livestock and wildlife from feces. *J. Agric. Food Chem.* 57, 5700–5706.
- Pilliod, D.S., Goldberg, C.S., Arkle, R.S., Waits, L.P. (2013) Estimating occupancy and abundance of stream amphibians using environmental DNA from filtered water samples. *Can J Fish Aquat Sci* 1130:1123–1130.
- Poté, J., Ackermann, R., Wildi, W. (2009) Plant leaf mass loss and DNA release in freshwater sediments. *Ecotoxicol Environ Saf* 72:1378–1383. doi:10.1016/j.ecoenv.2009.04.010.
- Poté, J., Mavingui, P., Navarro, E. (2009) Extracellular plant DNA in Geneva groundwater and traditional artesian drinking water fountains. *Chemosphere* 75:498–504. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.12.048.
- Prado, J. F., Pereira, M. (2004) Mining environmental licensing in the Quadrilátero Ferrífero of Minas Gerais State – Analysis of the implementation of environmental control measures indicated in EIAs/RIMAs. *Eng. Sanit. Ambient.* Vol 9 – N° 4: 343 – 349.
- Puumalainen, J., Kennedy, P., Folving, S. (2003) Monitoring Forest biodiversity: a European perspective with reference to temperate and boreal forest zone. *Journal of Environmental Management.* Volume 67, Issue 1: 5-14.
- Querner, P., Bruckner, A. (2010). Combining pitfall traps and soil samples to collect Collembola for site scale biodiversity assessments. *Applied Soil Ecology*, Volume 45, Issue 3: 293-297. doi: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.05.005
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D.N. (2007). BOLD: the Barcode of Life Data System. *Mol. Ecol. Res.* 7:355–64.
- Shokralla, S., Spall, J.L., Gibson, J.F., Hajibabaei, M. (2012) Next generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol Ecol* 21:1794–1805. doi:10.1111/j.1365-294X. 2012.05538.x.
- Smith, A.J.E. (2004). *The Moss Flora of Britain and Ireland*, 2nd ed. Cambridge University Press.
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M., Rieseberg, L.H. (2012) Environmental DNA. *Mol Ecol* 21:1789–1793. doi:10.1111/j.1365- 294X.2012.05542.x
- Thomsen, P.F., Willerslev, E. (2015) Environmental DNA—an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biol Conserv* 183:4–18. doi:10.1016/j.biocon.2014.11.019.
- Turner, C.R., Barnes, M.A., Xu, C.C.Y (2014) Particle size distribution and optimal capture of aqueous microbial eDNA. *Methods Ecol Evol* 5:676–684. doi:10.1111/2041-210X.12206.
- Turner, C.R., Uy, K.L., Everhart, R.C. (2015) Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. *Biol Conserv* 183:93–102. doi:10.1016/j.biocon.2014.11.017.
- Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J. (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 25:929–42.
- Willerslev, E., Hansen, A.J., Binladen, J. et al (2003) Diverse plant and animal genetic records from holocene and pleistocene sediments. *Science* 300:791–795.
- Yao, H., Song, J., Liu, C., Luo, K., Han, J. & Hansson, B. (2010) Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals. *PLoS ONE*, 5, 370–375.
- Yu, D.W., Ji, Y., Emerson, B.C., Wang, X., Ye, C., Yang, C., Ding, Z. (2012). Biodiversity soup: metabarcoding of

arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution* (2): 613 – 623.

Perfil profesional

Biólogo con especialidad en Ecología con más de 11 años de experiencia en evaluaciones ambientales, estudios de línea base biológica y síntesis ecológica, todas para actividades del sector minero y energético. Ha desarrollado proyectos en ecosistemas variados, evaluando impactos y proponiendo estrategias de mitigación y compensación. Es Coordinador de Biodiversidad e Innovación, donde lidera equipos multidisciplinarios para la evaluación de sitios contaminados, planes de compensación ambiental, monitoreo biológico, monitoreo de revegetación y evaluación del riesgo ecológico.

Nombre del autor: Carlos Andrés Santana Vergara
Cargo: Coordinador de Biodiversidad e Innovación
Empresa: TEMA LITOCLEAN
Correo electrónico: carlos.santana16@gmail.com
Teléfono / Celular: +51 940283533
Dirección: Av. J, Av. José Galvez Barrenechea 566, San Isidro, Lima, Perú.

Bióloga conservacionista experimentada, con un enfoque notable en la Amazonía peruana y América Latina. Natalie participa activamente en el desarrollo nuevas oportunidades, organizando talleres para las partes interesadas y brindando capacitación sobre cómo las herramientas basadas en el ADN pueden integrarse en la biodiversidad estrategias de monitoreo.

Nombre del autor: Dr. Natalie Swan
Cargo: Gerente de proyectos de Conservación
Empresa: NATURE METRICS
Correo electrónico: natalie.swan@naturemetrics.co.uk
Teléfono / Celular: +51 940283533
Dirección: 1 Occam Court, Surrey Research Park, Guildford GU2 7HJ, United Kingdom ()