

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/11/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual -
Campus de São José do Rio Preto

THALÍSSA RIBEIRO

ANÁLISE VIRÔMICA EM *SOTALIA GUIANENSIS*

São José do Rio Preto
2025

THALÍSSA RIBEIRO

ANÁLISE VIRÔMICA EM *SOTALIA GUIANENSIS*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual - Campus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestra em Biociências.

Área de Concentração: Genética,
Evolução e Biodiversidade

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Marília de
Freitas Calmon

Coorientador(a): Prof^a. Dr^a Paula Rahal

São José do Rio Preto

2025

R484a Ribeiro, Thalíssa
Análise virômica em Sotalia guianensis / Thalíssa Ribeiro. -- ,
2025
68 p. : tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas,
São José do Rio Preto,
Orientadora: Marília de Freitas Calmon
Coorientadora: Paula Rahal

1. Virologia. 2. Mamíferos marinhos. 3. Metagenomics. 4.
Cetáceos. 5. Golfinhos. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A presente pesquisa amplia significativamente a compreensão sobre os agentes patogênicos em circulação entre populações de *Sotalia guianensis*, popularmente conhecidos como boto-cinza. Dessa forma, preenche lacunas importantes no conhecimento referente à saúde desses animais. Além de auxiliar no fomento de medidas de conservação para esses pequenos cetáceos, atualmente classificados como espécie quase ameaçada, a identificação de vírus em *S. guianensis* pode evidenciar patógenos de potencial risco de transbordamento para outras espécies. Isso inclui o risco zoonótico para a espécie humana, como observado com a Influenza aviária, caracterizada inicialmente por infectar aves, mas que foi identificada causando infecções em mamíferos marinhos e, mais recentemente, em humanos.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research significantly expands understanding of the pathogens circulating among populations of *Sotalia guianensis*, popularly known as the Guiana dolphin, thereby filling important gaps in knowledge regarding the health of these animals. Beyond promoting conservation measures for these small cetaceans, currently classified as a near-threatened species, the identification of viruses in *S. guianensis* may highlight pathogens with a potential spillover risk to other species, including a zoonotic risk to humans, as observed with avian influenza, initially known to infect birds but subsequently identified in marine mammals and, more recently, in humans.

THALÍSSA RIBEIRO

ANÁLISE VIRÔMICA EM *SOTALIA GUIANENSIS*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual - Campus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestra em Biociências.

Área de Concentração: Genética, Evolução e Biodiversidade

Data da qualificação: 27/11/2025

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Marília de Freitas Calmon

UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade
Estadual - Campus de São José do Rio Preto

Prof^a Dr. Fábio Sossai Possebon

UNESP- Câmpus de Botucatu

Prof. Dr. Guilherme Rodrigues Fernandes Campos

FAMERP- São José do Rio Preto

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Meus mais sinceros agradecimentos à minha família, que permaneceu ao meu lado ao longo de todo o meu processo de formação. Em especial, expresso minha profunda gratidão à minha tia e mãe do coração, pelo constante incentivo e incondicional crença em meu potencial; ao meu pai, pelo apoio e presença; e ao meu avô, que sempre se fez presente na minha vida. Igualmente, agradeço ao meu noivo por todo companheirismo e apoio inestimável, tanto nas conquistas quanto nos desafios enfrentados.

Sou imensamente grata pelas lindas amizades construídas ao longo destes anos, por todo apoio, carinho e por tornarem os meus dias mais leves e felizes. Um agradecimento especial a Anne, Camila e Yullia, minhas companheiras de trajetória, por me escutarem, apoiarem e sempre se fazerem presente na minha vida.

À minha orientadora Professora Dr^a. Marília Calmon e a co-orientadora Dr^a. Paula Rahal, minha profunda gratidão por toda orientação, auxílio e ensinamento dedicado ao desenvolvimento deste trabalho. Agradeço também aos meus amigos de laboratório, pela paciência, cuidado e dedicação em me ensinarem as práticas essenciais para a realização da pesquisa, e por enriquecerem meu desenvolvimento profissional e pessoal; em particular à Dayla e à Yasmin, cujo apoio direto foi fundamental para superar os desafios encontrados.

Estendo meus agradecimentos ao Laboratório de Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Paraná pela parceria e concessão das amostras para análise. Ao Instituto de Biotecnologia (IBTEC) - UNESP, Câmpus de Botucatu, pela essencial colaboração na realização do sequenciamento e especialmente a Dr^a Amanda Haisi, que com paciência e gentileza me acompanhou ao longo dos experimentos realizados no instituto. Agradeço ainda aos colaboradores da Universidade Federal do Pará (UFPA) pelo processamento dos dados biológicos, que foi crucial para o alcance dos objetivos propostos.

Por fim, agradeço ao Ibilce/ UNESP pela oportunidade de acesso a um ensino público de excelência e por todas as iniciativas de desenvolvimento profissional e ações afirmativas que promoveram a minha permanência na Universidade. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Cidades são aldeias mortas, desafio
nonsense

Competição em vão, que ninguém vence

Pense num formigueiro, vai mal

Quando pessoas viram coisas, cabeças
viram degraus

No pé que as coisas vão, jão, doideira

Daqui a pouco resta madeira nem pro
caixão

Era neblina, hoje é poluição

Asfalto quente queima os pé no chão

Carros em profusão, confusão

Água em escassez, bem na nossa vez

Assim não resta nem as barata (é memo)

Injustos fazem leis e o que resta procês?

Escolher qual veneno te mata”

(Emicida, 2015)

RESUMO

Diante do crescente desequilíbrio na interação entre o homem e o meio ambiente, os impactos antrópicos afetam de modo intenso os ecossistemas. Esses impactos são multifacetados, comprometem a biodiversidade e atuam como impulsionadores para o surgimento e ressurgimento de patógenos. Somado a isso, o comprometimento da resposta imunológica de cetáceos, acarretado por fatores ecológicos e biológicos, eleva o risco de mortalidade desses animais. Neste contexto, os *Sotalia guianensis*, assim como tantas outras espécies de cetáceos, são classificados como "quase ameaçados de extinção". A contaminação destes animais por patógenos virais, como os *morbillivirus*, representa uma grande ameaça à manutenção da espécie. Portanto, a compreensão dos agentes virais circulantes entre as populações de *S. guianensis* é crucial. Essa informação pode fornecer uma ferramenta valiosa para a busca por medidas efetivas de conservação, para a previsão de novos surtos epidemiológicos e para a avaliação de potenciais riscos de transbordamento e zoonótico. Assim, o presente trabalho propôs a análise de viromas em amostras de pulmão e cérebro de *S. guianensis* que foram a óbito por causas não determinadas. A análise foi realizada tanto por meio da técnica de metagenômica (para uma abordagem mais ampla), quanto por meio da detecção direcionada de *morbillivirus* por RT-PCR. Os resultados oriundos da análise de 12 bibliotecas, constituídas cada uma por um indivíduo, por meio da metagenômica, sugerem similaridade com diferentes famílias virais. Dentre elas, as famílias *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Retroviridae*, *Coronaviridae*, *Astroviridae* e *Togaviridae* apresentam maior relevância. Adicionalmente, a técnica RT-PCR permitiu a detecção de GD-CeMV em seis dos 25 indivíduos submetidos a essa técnica, evidenciando a circulação de *morbillivirus* em *S. guianensis*. Nossos dados de metagenômica sugerem a circulação desses vírus, porém outros ensaios, como RT-PCR direcionadas pra cada família viral ou isolamento viral, são necessários para confirmar esse indício.

Palavras-chave: *sotalia guianensis*; vírus; cetáceos; mamíferos marinhos; metagenômica;

ABSTRACT

Given the growing imbalance in the interaction between humans and the environment, anthropogenic impacts have a profound effect on ecosystems. These impacts are multifaceted, compromising biodiversity and acting as drivers for the emergence and resurgence of pathogens. In addition, the compromised immune response of cetaceans, caused by ecological and biological factors, increases the risk of mortality for these animals. In this context, *Sotalia guianensis*, like so many other cetacean species, is classified as "near threatened." Contamination of these animals by viral pathogens, such as morbilliviruses, represents a major threat to the species' survival. Therefore, understanding the viral agents circulating among the *S. guianensis* population is crucial. This information can serve as an advanced tool for identifying effective conservation measures, predicting new epidemiological outbreaks, and assessing potential spillover and zoonotic risks. Thus, the present work proposed an analysis of viromes in release and brain samples of *S. guianensis* that died from undetermined causes. The analysis was performed using both metagenomic techniques (for a broader approach) and targeted detection of *morbillivirus* by RT-PCR. The results from the metagenomic analysis of 12 libraries, each consisting of one individual, suggest similarity with different viral families. Among these, the *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Retroviridae*, *Coronaviridae*, *Astroviridae*, and *Togaviridae* families are most relevant. Additionally, RT-PCR allowed the detection of GD-CeMV in six of the 25 individuals subjected to this technique, evidencing the circulation of morbillivirus in *S. guianensis*. Our metagenomic data suggest the circulation of these viruses, but further assays, such as RT-PCR targeted to each viral family or viral isolation, are needed to confirm this indication.

Keywords: *sotalia guianensis*; vírus ; cetacean; marine mammals; metagenomics

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de distribuição e coleta de amostras

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Amostras utilizadas para a construção das bibliotecas genômicas

Tabela 2 – Famílias virais encontradas nas bibliotecas sequenciadas.

Tabela 3 - Lista de amostras de botos-cinza mortos encalhados no litoral do Paraná, no sul do Brasil, utilizadas para investigar doenças infecciosas.

Tabela 4. Positividade para CeMV por RT-PCR quantitativa em relação ao sexo, tipo de amostra e faixa etária.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cDNA	DNA complementar
CeMV	<i>Morbillivirus</i> de cetáceos
CT	Ciclo de limiar
DEPC	Dietil-pirocarbonato
dNTP	Desoxirribonucleotídeos trifosfatos
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GD-CeMV	<i>Morbillivírus</i> do boto-cinza
GD-F	<i>Guiana dolphin - forward primer</i>
GD-R	<i>Guiana dolphin - reverse primer</i>
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IUCN	União Internacional para a Conservação da Natureza
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PMV	<i>Morbillivírus</i> de Toninha
POPs	Poluentes orgânicos persistentes
PWMV	<i>Morbillivirus</i> da baleia-piloto
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real
RNA	Ácido ribonucleico
RT buffer	Tampão de transcrição reversa
ssRNA	Vírus de RNA fita simples de sentido negativo

UFPR

Universidade Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

Kg Quilograma

m Metro

°C Celsius

g Grama

μL Microlitro

x g Força g

mL Mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Ação antrópica e impactos ambientais	15
1.2 Sotalia guianensis	16
1.3 Doenças virais	19
1.4 Metagenômica	21
2. OBJETIVOS	23
2.1. Objetivo Geral	23
2.2. Objetivo Específico	23
3. REFERÊNCIAS	28
4. VIROMIC ANALYSIS IN SOTALIA GUIANENSIS	29
5. MORBILLIVIRUS IN SOTALIA GUIANENSIS FOUND STRANDED ALONG THE PARANÁ COAST, SOUTHERN BRAZIL	49
6. CONCLUSÃO	65

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

1.1 Ação antrópica e impactos ambientais

A biodiversidade pode ser definida como a diversidade de vida e as interações que ocorrem entre os seres vivos em todos os níveis do ambiente terrestre, aquático e aéreo, abrangendo tanto a diversidade genética quanto de populações, espécies e ecossistemas (WWF, 2022). Nesse sentido, compreender a diversidade biológica existente, assim como as relações bióticas e abióticas, propicia a compreensão de como as relações são estabelecidas dentro dos ecossistemas e como a existência de uma espécie, muitas vezes, está intrinsecamente relacionada à de outras espécies.

Consequentemente, a extinção de uma espécie não ocorre isoladamente, de tal modo que a perda de populações em uma comunidade ecológica desencadeia consequências que se estendem para além das espécies em declínio, afetando predadores, presas e até mesmo parceiros mutualísticos dessa espécie. Tais alterações, por sua vez, podem acarretar extinções secundárias, afetando os processos ecossistêmicos (Cain et al., 2018).

Diante do crescente desequilíbrio existente entre a interação homem e meio ambiente, os impactos decorrentes de ações antrópicas tornam-se cada vez mais evidentes, afetando tanto os ecossistemas quanto a saúde humana. Esses impactos multifacetados incluem as mudanças climáticas, o desmatamento, o tráfico e consumo de animais selvagens, bem como a intensificação de atividades agrícolas insustentáveis. Além de comprometerem a biodiversidade de modo direto, esses fatores atuam como impulsionadores para o surgimento ou ainda o ressurgimento de patógenos (Tazerji et al., 2022 ; Marie et al., 2023).

Somado a este contexto preocupante, dados da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) divulgados ao final do ano de 2022 revelaram que, das mais de 150 mil espécies analisadas, cerca de 28% se encontram atualmente ameaçadas de extinção. Para as espécies marinhas, dos 17.903 animais e plantas avaliados, mais de 8,65% foram classificados como ameaçados de extinção. Esses dados alarmantes salientam a urgência no desenvolvimento de estratégias de preservação, as quais devem ser desenvolvidas, em associação, pelas instituições

de pesquisa, órgãos públicos, instituições empresariais, sociedade civil e povos tradicionais (Magris, 2022). Sendo possível por meio do desenvolvimento destas estratégias a promoção da preservação das espécies em risco de extinção assim como implementação de ações eficazes que impeçam que outras espécies integrem a lista vermelha.

Ao que se refere ao ambiente marinho, a crise ambiental no Brasil tem se agravado, resultando na intensificação da supressão de habitats e, consequentemente, na perda da biodiversidade marinha e costeira, com impactos negativos nos serviços ecossistêmicos, como a ciclagem de nutrientes e o sequestro de carbono (Seixas et al., 2023). Os impactos nesse ambiente podem decorrer de atividades distintas, como captura acidental (redes de emalhe), degradação de habitats críticos por meio da poluição sonora, química e física, além de prospecção sísmica, exploração de óleo e gás, atividades portuárias, obras costeiras e a diminuição da disponibilidade de presas (ICMBio, 2021).

Ademais, estudos têm associado a perda da biodiversidade, nos últimos anos, ao aumento da transmissão de patógenos e a incidência de doenças em diversos ecossistemas (Da Silva Lima et al., 2021), elevando o risco de transbordamento de patógenos, que pode culminar em surtos epidêmicos ou ainda pandêmicos. Consequentemente, o risco de um transbordamento zoonótico é cada vez maior, impulsionado pela intensificação das interações entre humanos e animais selvagens, que são reservatórios de uma grande variedade de patógenos, em decorrência da degradação ambiental (Lemos, Silva et al., 2023).

1.2 *Sotalia guianensis*

O golfinho da espécie *Sotalia guianensis* (Van Bénédén, 1864), popularmente conhecido como boto-cinza, é um mamífero marinho da subordem *Odontoceti*. Este cetáceo pertence à família *Delphinidae* e está inserido no gênero *Sotalia* (Gray, 1866) caracterizado por ter duas espécies: *Sotalia fluviatilis* (espécie de água doce) e o *Sotalia guianensis* (espécie marinha) (Caballero et al., 2007; Jefferson, 2024).

O boto-cinza exibe hábitos costeiros e estuarinos, sendo comumente encontrado em águas rasas. No entanto, a sua presença também é registrada a até 70 km da costa, em regiões onde a profundidade não excede 40 metros (m) (Borobia et al. 1991). A distribuição geográfica destes animais estende-se ao longo da costa do

Atlântico Ocidental, nas regiões da América do Sul que vão desde o Sul do Brasil (27 ° 35'S, 48 ° 35'W) até possivelmente a região de Honduras (15 ° 58'N, 79 ° 54'W) (Flores, 2002).

Estes cetáceos podem atingir até 2,22 metros de comprimento e pesar até 121 Kg, sendo a longevidade estimada para a espécie de até 33 anos. A maturidade sexual é observada aos 7 anos nos machos e 6 anos nas fêmeas, sendo o período de gestação de 12 meses, com a prole geralmente consistindo em um único indivíduo (PAN, 2021).

No que se refere a aspectos sobre a ecologia dos *S. guianensis*, observa-se ainda uma lacuna significativa na pesquisa, havendo apenas alguns estudos pontuais, sendo os estudos sobre o uso espacial e de habitat, restritos, a uma escala local (Azevedo et al. 2007; Dias et al. 2009; Godoy et al. 2015). Deste modo o desenvolvimento de pesquisas cujo objetivo seja compreender as relações de habitat destes animais em uma escala espacial mais ampla, é essencial para a melhor compreensão sobre as relações ecológicas (De Jesus et al. 2021).

Apesar dessa limitação, alguns aspectos como o papel ecológico desses pequenos cetáceos é bem definido. Eles atuam como predadores de topo, uma característica compartilhada com outros cetáceos (Moura, 2009), exercendo, portanto, uma função crucial para a manutenção da estabilidade e da integridade dos ecossistemas em que estão inseridos (Vital et al., 2024). Além disso, são considerados bioindicadores, sendo utilizados para monitorar a qualidade da água, dada a sensibilidade desses animais às alterações ambientais, além da sua capacidade de refletir a saúde de outros organismos que os antecedem na cadeia trófica (Moura, 2009).

A dieta dos *S. guianensis* é predominantemente composta por peixes, cefalópodes e crustáceos, com diversas espécies distintas já identificadas na alimentação desses animais ao longo da costa brasileira (Vital et al., 2024). A alimentação pode variar ao longo da vida do animal, bem como nas diferentes estações do ano, em função da disponibilidade e facilidade de captura de presas, além das necessidades nutricionais específicas (Barros E Clarke, 2008, Berta et al., 2015).

Em virtude da crescente intensificação das atividades antrópicas de forma não sustentável, observa-se o comprometimento da estabilidade dos sistemas ambientais (Albuquerque; Lima; Sousa, 2023), sendo a degradação dos

ecossistemas naturais, fragmentação de habitats e a perda da biodiversidade, consequências diretas das atividades humanas insustentáveis, que também contribuem para o aumento de surtos de doenças infecciosas (Alaina, 2024). Por habitarem regiões costeiras, os botos-cinzas são afetados de modo ainda mais intenso pelas atividades humanas.

A poluição por plástico, dejetos industriais, fertilizantes agrícolas e esgoto, assim como a superexploração dos recursos marinhos e má gestão da pesca, também representam ameaças à saúde e ao bem-estar dos *S. guianensis*, contribuindo para o aumento do número de espécies ameaçadas de extinção (Vargas et al., 2022; Nova, 2023). Ademais, esses animais sofrem com a pesca comercial, capturados intencionalmente, com o objetivo da comercialização de partes do seu corpo, como genitália, olhos e dentes e o consumo da carne e gordura do animal, sendo essa uma prática recorrente no Norte do Brasil (PAN, 2021).

Estudos sugerem que o sistema imunológico de cetáceos pode ser modulado no ambiente natural por fatores biológicos e ecológicos, sendo necessário considerar também impactos decorrentes da poluição ambiental (Marsili, 2019). De acordo com Fair et al. 2017, as respostas imunológicas dos golfinhos podem ser moduladas mediante variações nas condições ambientais, como temperatura, nutrição e exposição a contaminantes e patógenos, o que impacta diretamente na resposta imune diante da contaminação por patógenos.

Nesse sentido, diante da relação intrínseca existente entre as alterações ambientais provocadas pela ação humana, a perda da biodiversidade, o surgimento de novos patógenos (Alaina et al., 2024), e a supressão do sistema imunológico de cetáceos, decorrentes dessas mudanças ambientais, ampliam-se as probabilidades de mortalidade por patógenos para os quais estes animais não possuam uma resposta imune adaptativa ou cuja imunidade inata esteja comprometida. Isso, por sua vez, eleva o risco de redução populacional da espécie. Para o *S. guianensis*, essa preocupação é ainda mais pertinente, visto que esta espécie já se encontra classificada como quase ameaçada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio, 2021).

Além do aumento da mortalidade destes animais, observa-se uma redução populacional significativa da espécie, sendo sua recuperação lenta e difícil. Esse cenário, aliado aos impactos ambientais que afetam os habitats destes animais e a escassez de informações científicas sobre a história de vida, distribuição e

abundância, resultam na falta de conhecimento sobre o estado de conservação destes pequenos cetáceos (PAN,2021). Diante dessa realidade torna-se imprescindível a realização de estudos aprofundados sobre a espécie, visando fomentar o desenvolvimento de políticas públicas voltadas à sua conservação.

1.3 Doenças virais

Embora seja um fenômeno complexo e multifatorial, a emergência e reemergência de vírus, na maioria, é desencadeada por atividades humanas que alteram o equilíbrio do meio ambiente (Lemos, Silva et al.,2023). Nos últimos anos, com o aumento de patógenos, dos quais os vírus representam aproximadamente 45%, observa-se uma elevação no potencial de ocorrência de endemias ou ainda pandemias, promovendo um grande problema à saúde pública (Lemos, Silva et al.,2023).

Os vírus, de modo geral, apresentam alta taxa evolutiva, que se relaciona tanto a altas taxas de mutações, quanto ao tempo curto de geração e aos grandes tamanhos populacionais (Mattenberger, 2021). As mutações virais se dão a partir de erros cometidos durante o processo de replicação do genoma viral, sendo os vírus de RNA os que apresentam geralmente uma maior taxa de mutação, uma vez que a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) não possui atividade de revisão, não corrigindo deste modo os erros que ocorrem durante o processo de replicação (Peck, 2018). Por conseguinte, o tratamento e prevenção de infecções ocasionadas por vírus de RNA é um desafio, uma vez que estes agentes infecciosos possuem a capacidade de subverter o sistema imunológico, adquirir resistência a medicamentos antivirais e “saltar” para novos hospedeiros (Mattenberger, 2021).

Os ambientes aquáticos influenciam de forma direta na saúde animal e humana, sendo a água uma importante rota para diferentes patógenos (Hunter, 2003). Nos oceanos, os vírus representam a entidade biológica mais abundante e são responsáveis por promover infecções em diferentes tipos de organismos, como bactérias, arqueas e eucariotos (Vincent, 2023).

Diversas infecções em mamíferos marinhos têm sido associadas a vírus patogênicos, como meningite, broncopneumonia, ocasionando doenças de pele e alterações no sistema reprodutivo (Reckendorf et al., 2023), comprometendo tanto a saúde das espécies hospedeiras, quanto a integridade e estabilidade dos

ecossistemas. A disseminação viral em mamíferos marinhos pode ocorrer tanto por meio do compartilhamento de ambientes quanto contato direto (Vigil, 2024).

Os vírus de RNA têm sido associados a surtos com elevada mortalidade em mamíferos marinhos. Entre eles, destaca-se o *morbillivirus* de cetáceos, responsável por um evento incomum de mortalidade em massa (UME) que resultou na morte de mais de 260 espécimes de *S. guianensis* (Groch, 2020). Mais recentemente, o vírus da Influenza aviária A (H5N1), que acarretou a morte de leões marinhos (Gamarra, 2023) e golfinhos (Leguia, 2023). Além desses episódios epidêmicos, outras famílias virais, como *Picornaviridae*, *Astroviridae*, *Coronaviridae* e *Togaviridae*, também têm sido identificadas em mamíferos marinhos (Wang et al., 2021; Vernygora et al., 2024; Roach e Langlois, 2021; Lair et al., 2024; Murawski et al., 2024; Legnardi et al., 2024; Rodrigues et al., 2021). Entretanto, a baixa frequência de detecção e as lacunas sobre a patogenicidade de muitas dessas famílias reforça a necessidade de investigações adicionais.

Além disso, alguns agentes virais podem ter importância médica para humanos, visto que 60% das doenças emergentes e reemergentes têm origem zoonótica, de modo que a transmissão de um patógeno pode ocorrer por um evento de propagação de um animal a um ser humano devido a um contato próximo, atuação de um vetor ou ainda em decorrência da evolução viral (Lemos, Silva et al., 2023).

Deste modo, a crescente interação entre humanos e animais selvagens impulsionadas pelas ações antrópicas, resulta em uma maior exposição a patógenos de origem zoonótica. Consequentemente, a infecção de humanos a partir de doenças que tiveram origem em outros animais, tem sido cada vez mais documentada. Um exemplo notável é a pandemia acarretada pelo SARS-COV-2, vírus emergente que causou milhões de mortes (Steiner, 2024). Mais recentemente o vírus da Influenza A, que tem como reservatório aves aquáticas, tem sido identificado em uma grande variedade de mamíferos aquáticos e terrestres, ocasionando a morte de inúmeros animais (Charostad et al., 2023), sendo identificado também a sua circulação em humanos (Garg et al., 2024).

1.4 Metagenômica

A metagenômica é uma metodologia que possibilita a análise de um metagenoma, termo cunhado pela primeira vez em 1998 por Handelsman et al. para nomear um conjunto de genomas de uma comunidade de microrganismos. Este material genético pode ser obtido diretamente de um ambiente ou ainda de uma amostra clínica (Wooley; Godzik; Friedberg, 2010). A metagenômica surgiu a partir da necessidade de se analisar microrganismos não cultiváveis por meio da análise de ácido desoxirribonucleico (DNA) extraído de amostras ambientais (Handelsman, et al 1998).

Desde que a técnica metagenômica começou a ser aplicada, um grande número de dados passou a ser publicado, impulsionado, em parte pelo desenvolvimento de técnicas de sequenciamento de alto rendimento (Next-Generation Sequencing- NGS) e de ferramentas de bioinformática que possibilitam a montagem dos dados obtidos a partir do sequenciamento (Wooley; Godzik; Friedberg, 2010).

A metagenômica pode ser subdivida em duas abordagens distintas: metataxonômica e a metagenômica de *shotgun*. A metataxonômica é uma estratégia de alto padrão utilizada para caracterizar a microbiota e construir árvores filogenéticas a partir das sequências obtidas (Marchesi, 2015). Essa análise é realizada por meio da amplificação de amplicons direcionados, onde regiões genéticas específicas, como o gene do RNA ribossômico 16S (rRNA), são amplificadas por PCR, para a identificação de diferentes bactérias e fungos (Pérez et al., 2022). Por outro lado, a metagenômica de *shotgun* é uma abordagem de sequenciamento de alto rendimento (HTS) que não depende da amplificação por PCR de um único gene do genoma. Sendo possível a partir desta abordagem, o sequenciamento direto de material genético isolado de toda uma comunidade microbiana ou ainda da microbiota, tanto de procariotos, quanto eucariotos e vírus (Pérez et al., 2022).

O protocolo da metagenômica *shotgun*, compreende um fluxo de trabalho constituído em seis etapas principais: (1) Desintegração das amostras, que tem por objetivo a liberação do material genético; (2) Extração do ácido nucleico de interesse (RNA ou DNA), etapa essencial para a obtenção de um material genético de alta qualidade; (3) Preparo das bibliotecas, etapa que precede o sequenciamento e

promove a otimização do material genético; (4) Sequenciamento, etapa que permite a obtenção de dados de sequência; (5) Análise bioinformática, etapa que propicia a interpretação dos dados obtidos e (6) Interpretação de resultados, que resulta na geração de conclusões (Wylezich, 2018). Protocolos específicos, que podem variar em função das especificidades das amostras e da tecnologia de sequenciamento utilizada, podem ser necessários para haver sucesso nas análises a serem realizadas.

Atualmente, a metagenômica é amplamente utilizada no âmbito científico, seja para a análise dos microrganismos presentes em regiões ambientais distintas, como solo (Huaraca-meza, F. et al 2021; Zhao, Jinfeng et al. 2024), ambientes aquáticos (Wang, Fan et al., 2024; Rossi, Manuela et al., 2025) ou ainda para aspectos que se relacionam a saúde animal (Wang, Zhen et al.2024; Blomström, 2025) e a saúde humana (Armour, 2019; Napit, 2025) sendo importante para a detecção de novos patógenos (Bolatti et al., 2022).

Na virologia, a aplicação da metagenômica tem transformado a compreensão da amplitude e diversidade da virosfera, evidenciando que esta é muito maior, mais rica e complexa do que se imaginava (Zhang, et al., 2018). Essa metodologia tem se mostrado crucial para a expansão do conhecimento existente, sendo de extrema importância tanto para a vigilância epidemiológica de patógenos quanto na descoberta de novos agentes virais. Além disso, a metagenômica tem possibilitado a melhor compreensão acerca das interações vírus-hospedeiro e da biologia evolutiva, transformando assim, rapidamente a compreensão existente sobre a virosfera (Delwart, 2007; Zhang, et al., 2018).

Especificamente no que concerne aos vírus de RNA, a metagenômica desempenha um importante papel para expansão do conhecimento. Essa metodologia tem evidenciando importantes aspectos evolutivos e possibilitado a descrição de uma vasta gama de novos vírus de RNA. De modo que, tal avanço tem sido essencial para a definição de novos táxons virais, incluindo espécies, gêneros, famílias e ordens, de modo regular (Shi, 2016; Zhang, et al., 2018). Apesar dos significativos avanços já alcançados até aqui, ainda existem lacunas consideráveis acerca da diversidade viral e das relações existentes entre vírus, bem como entre vírus e hospedeiro, o que ressalta a necessidade contínua de novas pesquisas para ampliar o conhecimento existente.

3. REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, E. M.; LIMA, E. R. V.; SOUSA, M. F. B. Proposal for mapping and geospatial analysis of the tourist heritage of the Immediate Geographic Region of Princesa Isabel-PB. *Geography Notebook*, v. 33, n. 74, p. 880-880, 2023.
- ARMOUR, C. R. et al. A metagenomic meta-analysis reveals functional signatures of health and disease in the human gut microbiome. *mSystems*, v. 4, n. 4, p. e00332-18, 2019.
- AZEVEDO, A. F. et al. Habitat use by marine tucuxis (*Sotalia guianensis*) (Cetacea: Delphinidae) in Guanabara Bay, south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 87, n. 1, p. 201-205, 2007.
- BARROS, N. B.; CLARKE, M. R. Dieta. In: *Enciclopédia de Mamíferos Marinhos*. Londres: Academic Press, 2009. p. 311–316.
- BERTA, A.; SUMICH, J. L.; KOVACS, K. M. Marine mammals: evolutionary biology. 3. ed. London: Academic Press, 2015.
- BLOMSTRÖM, A.-L.; KÄLLSE, A.; RIIHIMÄKI, M. Detection and genetic characterization of equine viruses in Sweden using viral metagenomics. *BMC Veterinary Research*, v. 21, n. 1, p. 119, 2025.
- BOLATTI, E. M. et al. Viral metagenomic data analyses of five new world bat species from Argentina: identification of 35 novel DNA viruses. *Microorganisms*, v. 10, n. 2, p. 266, 2022.
- BOROBIA, M. et al. Distribution of the South American dolphin *Sotalia fluviatilis*. *Canadian Journal of Zoology*, v. 69, n. 4, p. 1025-1039, 1991.
- CABALLERO, S. et al. Taxonomic status of the genus *Sotalia*: species level ranking for “tucuxi” (*Sotalia fluviatilis*) and “costero” (*Sotalia guianensis*) dolphins. *Marine Mammal Science*, v. 23, n. 2, p. 358–386, 2007.
- CAIN, M. L.; BOWMAN, W. D.; HACKER, S. D. Ecologia. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.
- CHAROSTAD, J. et al. A comprehensive review of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1: an imminent threat at doorstep. *Travel Medicine and Infectious Disease*, v. 55, p. 102638, 2023.
- DA SILVA LIMA, T. F. et al. Climate variations and their relationship with infectious diseases: an integrative review. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 2, p. e7910212126, 2021.
- DE GODOY, D. F.; ANDRIOLO, A.; DE FATIMA FILLA, G. The influence of environmental variables on estuarine dolphins (*Sotalia guianensis*) spatial distribution and habitat used in the Estuarine Lagunar Complex of Cananéia, southeastern Brazil. *Ocean & Coastal Management*, v. 106, p. 68–76, 2015.

DE JESUS LOBO, A. et al. Potential distribution of Guiana dolphin (*Sotalia guianensis*): a coastal-estuarine and tropical habitat specialist. *Journal of Mammalogy*, v. 102, n. 1, p. 308–318, 2021.

DE MOURA, Jailson Fulgencio et al. Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) as marine ecosystem sentinels: ecotoxicology and emerging diseases. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 228, p. 1–29, 2013.

DELWART, E. L. Viral metagenomics. *Reviews in Medical Virology*, v. 17, p. 115–131, 2007.

DIAS, L. A.; HERZING, D.; FLACH, L. Aggregations of Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) in Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, south-eastern Brazil: distribution patterns and ecological characteristics. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 89, n. 5, p. 967–973, 2009.

FAIR, P. A. et al. O ambiente como fator determinante das respostas imunológicas e endócrinas em golfinhos (*Tursiops truncatus*). *PLoS One*, v. 12, n. 5, p. e0176202, 2017.

FLORES, P. A. C.; PERRIN, W. F.; WURSIG, B.; THEWISSEN, J. Encyclopedia of Marine Mammals. 2002.

GAMARRA-TOLEDO, V. et al. Mass mortality of sea lions caused by highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus. *Emerging Infectious Diseases*, v. 29, n. 12, p. 2553, 2023.

GARG, S. et al. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus infections in humans. *New England Journal of Medicine*, v. 392, n. 9, p. 843–854, 2025.

GROCH, K. R. et al. The pathology of cetacean morbillivirus infection and comorbidities in Guiana dolphins during an unusual mortality event (Brazil, 2017–2018). *Veterinary Pathology*, v. 57, n. 6, p. 845–857, 2020.

HANDELSMAN, J. et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry & Biology*, v. 5, n. 10, p. R245–R249, 1998.

HUARACA-MEZA, F. et al. Diversidade bacteriana em solos de pastagens andinas perturbadas com culturas de *Lepidium meyenii* avaliada por metagenômica. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 82, p. e240184, 2021.

HUNTER, P. R. Climate change and waterborne and vector-borne disease. *Journal of Applied Microbiology*, v. 94, n. s1, p. 37–46, 2003.

HUMAN Activity Devastating Marine Species from Mammals to Corals - IUCN Red List. 9 dez. 2022. Disponível em: <https://www.iucn.org/press-release/202212/human-activity-devastating-marine-species-mammals-corals-iucn-red-list>.

ICMBio – Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade. Portaria nº 554, de 25 de maio de 2020... Brasília, jun. 2021.

JEFFERSON, T. A. Coastal dolphins and porpoises: Ridgway and Harrison's Handbook of Marine Mammals, Volume 1. Amsterdam: Elsevier, 2024.

LEGUIA, M. et al. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) in marine mammals and seabirds in Peru. *Nature Communications*, v. 14, n. 1, p. 5489, 2023.

LEMOS, E. R. S. de et al. Topics in virology. Bio Collection | Fiocruz Publisher, 2023.

MARCHESI, J. R.; RAVEL, J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*, v. 3, n. 1, p. 31, 2015.

MARIE, V.; GORDON, M. L. The (re-)emergence and spread of viral zoonotic disease: a perfect storm of human ingenuity and stupidity. *Viruses*, v. 15, n. 8, p. 1638, 2023.

MARSILI, L. et al. Insights sobre a imunologia dos cetáceos: fatores ecológicos e biológicos fazem a diferença? *Frontiers in Immunology*, v. 10, p. 1219, 2019.

MATTENBERGER, F.; VILA-NISTAL, M.; GELLER, R. Increased RNA virus population diversity improves adaptability. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 6824, 2021.

MOURA, J. O boto-cinza... Dissertação (Mestrado) — ENSP/Fiocruz, 2009.

NAPIT, R. et al. Metagenomic analysis of human, animal, and environmental samples... *Scientific Reports*, v. 15, n. 1, p. 12156, 2025.

NOVA, F. V. P. V.; DA SILVA, A. C. G. Poluição histórica e conservação da biodiversidade costeira... *INEST-UFF*, p. 197, 2023.

PECK, K. M.; LAURING, A. S. Complexities of viral mutation rates. *Journal of Virology*, v. 92, n. 14, p. e01031-17, 2018.

PÉREZ-LOSADA, M. et al. Comparative analysis of metagenomics and metataxonomics... *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 854423, 2022.

PFENNING-BUTTERWORTH, A. et al. Interconnecting global threats: climate change, biodiversity loss, and infectious diseases. *The Lancet Planetary Health*, v. 8, n. 4, p. e270–e283, 2024.

RECKENDORF, A. et al. Chemical pollution and diseases of marine mammals. In: *Marine Mammals: a deep dive into the world of science*. Cham: Springer, 2023. p. 63–78.

ROSSI, M. et al. Microplastics, microfibers and associated microbiota... *Journal of Hazardous Materials*, v. 488, p. 137468, 2025.

SEIXAS, C. S. et al. Sumário para Tomadores de Decisão... *BPBES*. Editora Cubo, 2023.

SHI, M. et al. Redefining the invertebrate RNA virosphere. *Nature*, v. 540, n. 7634, p. 539–543, 2016.

STEINER, S. et al. SARS-CoV-2 biology and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, v. 22, n. 4, p. 206–225, 2024.

TAZERJI, S. S. et al. An overview of anthropogenic actions... *Pathogens*, v. 11, n. 11, p. 1376, 2022.

Van BENEDEN, P. J. Sur un dauphin nouveau... *Mémoires... de Belgique*, v. 16, p. 1–21, 1864.

VARGAS, J. G. M. et al. Microplásticos... *Química Nova*, v. 45, n. 6, p. 705–711, 2022.

VIGIL, K.; WU, H.; AW, T. G. A systematic review on global zoonotic virus-associated mortality events in marine mammals. *One Health*, v. 19, p. 100872, 2024.

VINCENT, F.; VARDI, A. Viral infection in the ocean — a journey across scales. *PLoS Biology*, v. 21, n. 1, p. e3001966, 2023.

VITAL, N. et al. Feeding habits of the Guiana dolphin... *Regional Studies in Marine Science*, v. 73, p. 103446, 2024.

WANG, F. et al. Selective enrichment of high-risk antibiotic resistance genes... *Journal of Hazardous Materials*, v. 480, p. 135901, 2024.

WANG, Z. et al. Metagenomic insights into the differences... *Marine Biology*, v. 171, n. 3, p. 73, 2024.

WOOLEY, J. C.; GODZIK, A.; FRIEDBERG, I. A primer on metagenomics. *PLoS Computational Biology*, v. 6, n. 2, p. e1000667, 2010.

WWF. Relatório Planeta Vivo 2022... WWF, Gland, Suíça, 2022.

WYLEZICH, C. et al. A versatile sample processing workflow for metagenomic pathogen detection. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 13108, 2018.

ZHANG, Y.-Z.; SHI, M.; HOLMES, E. C. Using metagenomics to characterize an expanding virosphere. *Cell*, v. 172, n. 6, p. 1168–1172, 2018.

ZHAO, J. et al. Metagenomics analysis of the impact... *Agronomy*, v. 14, n. 8, p. 1675, 2024.

6. CONCLUSÃO

No presente estudo, amostras de cérebro e pulmão de indivíduos de *S. guianensis* provenientes da região litorânea do Paraná foram analisadas com o objetivo de identificar a possível circulação de vírus de RNA. Para isso, empregou-se uma abordagem metagenômica, a qual permitiu a identificação de similaridade com uma grande diversidade de famílias virais. Paralelamente, utilizou-se a técnica de RT-qPCR para uma investigação direcionada de vírus do gênero *Morbillivirus*, dada a ampla documentação de sua ocorrência em cetáceos e o seu reconhecimento potencial de causar eventos de mortalidade em massa.

A análise metagenômica revelou sequências similares com diferentes famílias virais, entre elas, *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Retroviridae*, *Coronaviridae*, *Astroviridae* e *Togaviridae*, todas previamente associadas a infecções em mamíferos marinhos. Contudo, a baixa representatividade de reads atribuídas a essas famílias impede a confirmação conclusiva da presença dessas famílias nas amostras analisadas. Ainda assim, a observação de sinais clínicos compatíveis com infecções virais em alguns dos espécimes analisados reforça a necessidade de análises complementares.

Complementarmente à metagenômica, o RT-qPCR direcionado à detecção de *Morbillivirus*, identificou a circulação de GD-CeMV (*morbillivirus* golfinho da guiana) em sete amostras, pertencentes a seis dos 25 indivíduos testados. Esse resultado demonstra que o patógeno está circulante nesses animais, evidenciando a relevância epidemiológica na espécie e a necessidade de vigilância contínua, considerando o impacto significativo desse vírus sobre a saúde de cetáceos.

Em conjunto, os achados deste estudo, a ampla similaridade das sequências encontradas com diferentes famílias virais detectada pela metagenômica e a confirmação da circulação de GD-CeMV pela RT-qPCR, reforçam a urgência da ampliação de investigações direcionadas a detecção e caracterização de agentes virais potencialmente patogênicos em *S. guianensis*. Tais estudos são fundamentais tanto para subsidiar estratégias de conservação da espécie quanto para aprofundar a compreensão das relações entre hospedeiro e patógeno, dos riscos de transmissão interespecífica e das potenciais implicações zoonóticas.