



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ-UFOPA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DAS ÁGUAS-ICTA**

ELIZIANE FIGUEIRA DE VASCONCELOS

**A MICROBIOTA DO RIO ITUQUI A PARTIR DO DNA AMBIENTAL: Saberes e
costumes tradicionais aliados à Ciência.**

SANTARÉM – PA

2023

ELIZIANE FIGUEIRA DE VASCONCELOS

A MICROBIOTA DO RIO ITUQUI A PARTIR DO DNA AMBIENTAL: Saberes e costumes tradicionais aliados à Ciência.

Trabalho de Conclusão para obtenção grau de Bacharel em Ciências biológicas; Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho.

Coorientadora: Msc. Luciana Pimentel

SANTARÉM – PA

2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- V331m Vasconcelos, Eliziane Figueira de
A microbiota do Rio Ituqui a partir do DNA ambiental: saberes e costumes tradicionais aliados à ciência./ Eliziane Figueira de Vasconcelos. – Santarém, 2023.
31 p. : il.
Inclui bibliografias.
- Orientador: Gabriel Iketani Coelho.
Coorientadora: Luciana Pimentel.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Tecnologia e Ciências das Águas, Bacharelado em Ciências Biológicas.
1. Água. 2. Qualidade ambiental. 3. eDNA. I. Coelho, Gabriel Iketani, *orient.* II. Pimentel, Luciana, *coorient.* III. Título.

CDD: 23 ed. 551.480981

ELIZIANE FIGUEIRA DEVASCONCELOS


A MICROBIOTA DO RIO ITUQUI A PARTIR DO DNA AMBIENTAL: Saberes e costumes tradicionais aliados à Ciência.

Trabalho de Conclusão para obtenção grau de Bacharel em Ciências biológicas; Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas. Orientador: Prof. Dr. Gabriel Iketani Coelho.


Conceito: **7,8 APROVADA**

Coorientadora: Msc. Luciana Pimentel


Data de Aprovação: 20/01/2023

Documento assinado digitalmente
 **GABRIEL IKETANI COELHO**
Data: 28/01/2023 18:16:01-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>


Professor Dr. Gabriel Iketani (Orientador)
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANA PIMENTEL DA SILVA**
Data: 30/01/2023 14:20:14-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professora Msc. Luciana Pimentel da Silva (Coorientadora)
Laboratório de Educação e Evolução Horacio Schneider - LEDEVO

Documento assinado digitalmente
 **EVELEISE SAMIRA MARTINS CANTO**
Data: 28/01/2023 20:39:36-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professora Dra Eveleise Samira Martins Canto (Avaliador)
Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA

Documento assinado digitalmente
 **IVANA BARBOSA VENEZA**
Data: 28/01/2023 19:01:07-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professora Dra. Ivana Barbosa Veneza (Avaliador)
Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA

SANTARÉM – PA

2023

*Dedico este trabalho a minha mãe,
meu pai, marido e filhos, pela
motivação, apoio e companheirismo,
amo-os.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Gabriel Iketani, pela oportunidade, apoio, incentivo e compreensão ao longo do meu trajeto acadêmico.

À professora Luciana Pimentel pelo apoio, suporte e direcionamento deste trabalho, sua ajuda foi fundamental.

Às lideranças Quilombolas de Santarém e da comunidade Nova Vista do Ituqui, pelo apoio e suporte.

Aos meus colegas de laboratório do LEDEVO e BCB2016, pela boa convivência durante o processo.

A minha família, filhos, mãe, pai, irmã, e tia e primas, minha sustentação e motivação para conquistar e realizar meus sonhos.

A minha tia Val e sua família, que foram meus grandes apoiadores para a conquista do diploma.

Ao meu marido, Watanabi Cardoso, por ser um grande companheiro, por incentivar, acreditar e torcer por mim.

A todos que ajudaram direta e indiretamente para que este trabalho fosse realizado, obrigada!

RESUMO

Durante muito tempo os microrganismos, em diferentes análises, eram associados somente a aspectos negativos. Mas, atualmente já se sabe que muitos microrganismos produzem substâncias que são benéficas e acabam contribuindo com a melhora e qualidade do ecossistema. O objetivo da pesquisa é analisar a qualidade socioambiental da água considerando os seus diferentes usos pela comunidade quilombola do Ituqui, através da identificação taxonômica por meio de técnica de DNA ambiental (eDNA). Para isso, a metodologia tem como a base o uso do DNA ambiental, que é uma técnica não invasiva, que detecta o DNA das espécies em amostras, permitindo identificar espécies sem a captura das mesmas, isso, em conjunto a percepção da comunidade quilombola, através do trabalho de campo, entrevistas e aplicações de questionários. As amostras de água foram coletadas e filtradas e, a partir dos filtros foi obtido o eDNA que foi sequenciado através da técnica de Sequenciamento de Nova Geração. As análises dos dados obtidos mostraram que a água do Rio Ituqui é segura para o consumo dos comunitários, pois não foram identificados microrganismos patogênicos. Todavia é preciso voltar a comunidade no período da cheia para fazer uma nova avaliação comparando com os dados desta pesquisa para podermos afirmar se realmente o uso da água do rio é seguro.

Palavras-chave: Água. Qualidade Ambiental. eDNA. Comunidade Quilombola.

ABSTRACT

For a long time microorganisms, in different analyses, were associated only with negative aspects. However, it is now known that many microorganisms produce substances that are beneficial and end up contributing to the improvement and quality of the ecosystem. The objective of the research is to analyze the socio-environmental quality of the water under consideration with its different uses by the quilombola community of Ituqui through taxonomic identification using environmental DNA (eDNA) techniques. For this, the methodology is based on the use of environmental DNA, which is a non-invasive technique that detects the DNA of species in samples, allowing the identification of species without capturing them, this, together with the perception of the quilombola community, through field work, interviews and questionnaire applications. The water samples were collected and filtered, and eDNA was obtained from the filters, which was sequenced using the Next Generation Sequencing technique. The analysis of the data obtained showed that the water from the Ituqui River is safe for consumption by the community, as pathogenic microorganisms were not identified. However, it is necessary to return to the community during the flood period to carry out a new assessment, comparing it with the data from this research, so that we can confirm whether the use of river water is really safe.

Keywords: Water. Environmental Quality. eDNA. Quilombola Community.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa que indica a localização das Comunidades Quilombolas do Município de Santarém	16
Figura 2 - Frasco de amostragens já devidamente isolado e acrescido de sílica para a conservação da amostra.	19
Figura 3 - Procedimentos no Laboratório: (A) Fracionamento da Amostra; (B) Preparação para a Extração; (C) Sequenciamento	20
Figura 4 - Percepções e Realidades: Visita a Comunidade Nova Vista do Ituqui, roda de conversa com os líderes sobre as perspectivas da comunidade sobre a pesquisa.	23
Figura 5 - Porcentagem determinando o tempo de atuação profissional como pescador.	25
Figura 6 - Abundância relativa das Classes identificadas no rio Ituquí a partir de eDNA	27
Figura 7 - Abundância relativa das Famílias identificadas no rio Ituquí a partir de eDNA.....	28
Figura 8 - Diversidade alfa observada nas amostras coletadas no rio Ituquí, a partir de eDNA.	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Perfil das (os) que responderam os questionários.....	24
---	----

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

IBGE: O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LEDEVO: Laboratrio de Educao e Evoluo

UFOPA: Universidade Federal do Oeste do Pará

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 ENFOQUE DA TÉCNICA METABARCODING PARA DNA AMBIENTAL.....	14
1.2 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DA PESQUISA	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. MATERIAS E MÉTODOS	17
3.1 COLETA DE AMOSTRAS E DE DADOS	18
3.2 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.2 IDENTIFICAÇÃO DA BIODIVERSIDADE	26
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS	31
ANEXOS	Erro! Indicador não definido.

1. INTRODUÇÃO

A bacia hidrográfica amazônica possui uma área total de 6.110.000 Km², segundo agência Nacional de Águas (ANA), 63% do total está no território brasileiro, sendo internacionalmente conhecida por sua grande biodiversidade, com inúmeras espécies aquáticas e uma riqueza de nutrientes e de diferentes substratos. O Amazonas, seu rio principal, foi classificado por Harald Sioli (1956) como um rio de “água branca”, baseado na observação da cor das águas e em parâmetros físicos e químicos. Diante da grande biodiversidade do sistema hidrográfico do rio Amazonas, se apresenta a importância de investigar e aprofundar sobre os microrganismos presentes na água e sua qualidade socioambiental, como estratégia de preservar e resistir no quilombo (ANA, 2016; SIOLI, 1956).

Tratar dos microrganismos é de suma importância na perspectiva da qualidade socioambiental, desmistificando as abordagens onde são considerados apenas nocivos à saúde humana. A microbiologia estuda a atuação dos microrganismos relacionados com a sociedade, assim, aborda os malefícios e possíveis benefícios para humanidade e meio ambiente. Outrossim, é a qualidade da água que se tornou um desafio para muitas comunidades da Amazônia. (STAINK, 2013). (MADIGAN, et al., 2016).

Os ecossistemas aquáticos abrigam uma grande diversidade de seres, conquanto ainda pouco estudado e catalogado, estimasse que apenas “10% dos microrganismos existentes no planeta tenham sido caracterizados” (COSTA, et al., 2019). A respeito da verificação da qualidade da água e o estudo dos microrganismos assumem uma grande importância, já que dentre os seres vivos possuem alta atuação na depuração de despejos, contribuindo na limpeza do ecossistema.

Á vista de o rio Amazonas e muitos dos seus afluentes, serem “rios de águas brancas” com grande carga de sedimentos em suspensão, obtemos o reforço da hipótese da pesquisa, onde águas enriquecidas com matéria orgânica podem apresentar demasiadas populações de bactérias que os protozoários se alimentam, despoluindo o ambiente aquático. (CURDS, 1992).

Por isso, a água e seus usos devem ser analisados, debatidos e divulgados, grandes são os desafios no acesso a água com qualidade na Amazônia para as populações tradicionais, que

tem no rio sua base cultural e sobrevivência, como é o caso da comunidade quilombola Nova Vista do Ituqui. (BECKER, 2005).

Além do mais, quando falamos de água na Amazônia temos uma visão de abundância e quase nunca olhamos a qualidade e disponibilidade dessa água. A captação de água para consumo é feita diretamente do rio, conseqüentemente essas famílias são socioambientalmente essas vulneráveis (TEIXEIRA et al., 2017).

Grande são as adversidades em realizar uma pesquisa em escala regional, seja na aquisição de dados, bem como nos custos. Assim, a escolha do material e métodos são essenciais. Nesse contexto, atualmente uma técnica não invasiva está sendo aplicada para o reconhecimento da fauna aquática - é a detecção de DNA das espécies em amostras ambientais (eDNA), que consiste em utilizar o DNA presente em água, solos, ou sedimentos, permitindo identificar as espécies em um ambiente, sem a necessidade da captura. Está em progressão esta técnica e a criação de banco de dados, que traz, entre outras vantagens, a possibilidade de tornar as pesquisas mais econômicas, fundamentadas e seguras (CORLETT, 2017; VAFEIADOU, 2019).

As pesquisas nos rios brasileiros que utilizam o DNA ambiental ainda são recentes, porém, muito eficientes. Com o aumento do banco de dados de referência e as tecnologias mais acessíveis, essa abordagem é promissora no sentido de um olhar para futuros debates. Dessa forma, é evidente que a microbiologia é capaz de auxiliar a detecção de microrganismos como os protozoários, fungos e outros presentes nos rios. (CÂNDIDO, et al., 2015).

1.1 ENFOQUE DA TÉCNICA METABARCODING PARA DNA AMBIENTAL

Uma nova técnica que visa a caracterização e reconhecimento de espécies em larga escala vêm sendo muito usada e debatida, o DNA *metabarcoding*, cujo uso e aprimoramento cresceu nos últimos anos. Esse método tem como base o sequenciamento do DNA ambiental, utilizando sequências iniciadoras (*primers*) universais (CRISTESCU, 2014; FAHNER et al., 2016).

Estudos mostram que a liberação e permanência de determinado eDNA no ambiente pode variar de acordo com a estação do ano, possuindo taxas de degradação (baixa ou elevada) que mudam também conforme as características do clima, como a temperatura, a salinidade, os próprios microrganismos do ambiente (STRICKLER et al., 2015; (PILLIOD et al., 2014),

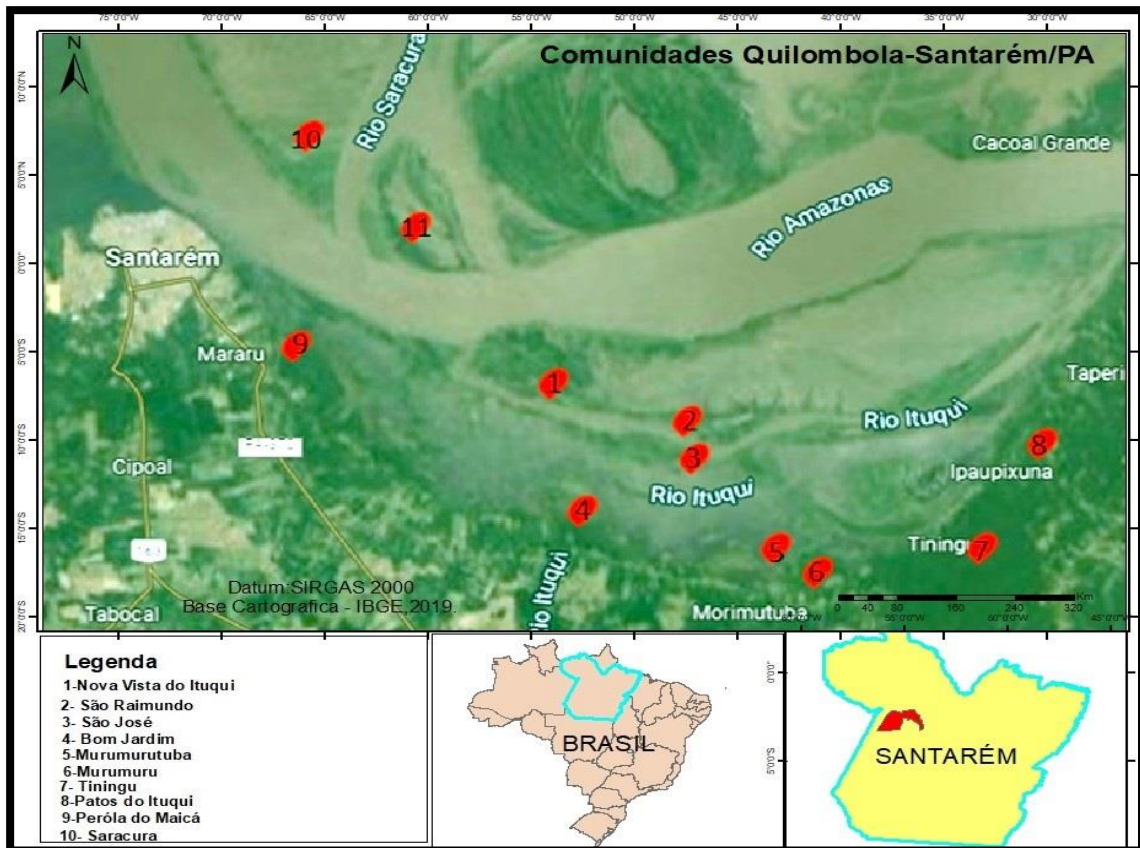
Portanto, a abordagem de *metabarcoding* identifica organismos em vários grupos taxonômicos, nesse caso são utilizados *primers* universais que são capazes de determinar múltiplas espécies no ambiente, várias sequências são avaliadas ao mesmo tempo, sendo identificados em uma única análise milhares de espécies (COSTA, 2010) permitindo, assim, o monitoramento da biodiversidade de forma rápida, inclusive em análises de qualidade ambiental (BAIRD e HAJIBABAEI, 2012).

1.2 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DA PESQUISA

De acordo com o último levantamento do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (Incra), existem 12 comunidades quilombolas no território Santareno (Figura 1), são elas: Nova Vista do Ituqui, Arapemã, Bom Jardim, Murumuru, Murumurutuba, Patos do Ituqui, Pérola do Maicá, Saracura, São José do Ituqui, São Raimundo do Ituqui, Surubiú-Açú e Tiningú.

O quilombo Nova Vista do Ituqui (*locus da pesquisa*), foi certificado em 2005 pela Fundação Palmares, está inserida ao território Maria Valentina, situada à margem direita do rio Amazonas, um braço de rio denominado Ituqui, no município de Santarém, situada na área de várzea, onde há 104 famílias e suas principais atividades produtivas são a agricultura (milho e mandioca), praticada no período de vazante do rio e a pesca.

Figura 1 - Mapa que indica a localização das Comunidades Quilombolas do Município de Santarém



Fonte: Autora (2023).

Muitos pesquisadores, em diferentes áreas do conhecimento, compreendem a bacia do Rio Amazonas como uma região tática para o campo científico e político, logo muitos são os empreendimentos e grandes projetos nesta região, que exercem nos diferentes ecossistemas grande pressão e estresse. A incerteza é nessa relação ecossistemas – comunidades tradicionais – inseridas numa perspectiva do capital global. (FREITAS; NOVO, 2005; COPATTI et al., 2009).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a qualidade socioambiental da água, a partir do DNA ambiental, considerando os diferentes usos pela comunidade quilombola do Ituqui.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fazer um levantamento da biodiversidade aquática, visando a identificação de microrganismos;
- Avaliar se ocorre táxons prejudiciais à saúde humana nos ambientes aquáticos amostrados;
- Apresentar à Comunidade Quilombola o panorama da qualidade microbiológica da água que utilizam, sob os aspectos científicos, resultantes da integração das comunidades tradicionais com a Universidade.

3. MATERIAS E MÉTODOS

Partindo do pressuposto de que há uma grande biodiversidade aquática na região de estudo, a hipótese é que a biodiversidade está sofrendo uma baixa e/ou ocorrendo alterações em sua dinâmica ambiental, isso diante das diferentes transformações na paisagem e realidade local, pois a introdução de novas técnicas e finalidades de pesca, afetam a vida aquática e de toda comunidade quilombola. Segundo Guerra e Marçal (2006), as alterações antropogênicas na paisagem resultam na modificação da natureza, mediante a inserção de novos elementos.

Com isso, o primeiro passo foi verificar o estado da arte a respeito de pesquisas que utilizam o DNA ambiental no Brasil, para possíveis comparativos e questionamentos. O uso

dessa técnica tem como objetivo a identificação de espécies a partir do “rastros” de DNA deixado através da urina, fezes ou tecido presentes na água, solo, ou em neve, assim é uma técnica não invasiva, pois não precisa capturar a espécie em si, para se obter informações, apenas uma amostra por onde a espécie esteve, seja da água ou solo (TABERLET et al, 2012).

Dessa maneira, no ano de 2003 foi proposto utilizar uma parte do gene mitocondrial como ferramenta de identificação das espécies aquáticas, já que este fragmento é único, Herbert e colaboradores (2003), utilizou um fragmento de 648 pb do gene mitocondrial para identificação, estipulando uma espécie de “código de barras” universal para identificar as espécies animais. Com isso esse método vem sendo bastante utilizado para identificação de espécie de peixes, como visto no quadro 02 (HEBERT et al., 2003).

3.1 COLETA DE AMOSTRAS E DE DADOS

A coleta das amostras foi realizada no dia 22 de outubro de 2022, no rio Ituqui, onde está localizada a comunidade quilombola, e contou com uma equipe de cinco pesquisadores. Algumas etapas são essenciais, como a escolha dos pontos de coleta e evitar a contaminação das amostras com uso de luvas e mãos limpas. Com recipientes estéreis, foram coletadas amostras de água de cada ponto amostral, que foi filtrado no local com auxílio de bomba d’água acionada por parafusadeira. A filtração foi realizada com funis de filtro Nalgene, que tem no interior *membrana de mistura de Ésteres de 37 mm e poros de 0,45 µm*, que retém os vestígios de DNA para análise posterior. Foram obtidas 06 amostras nos pontos indicados na Figura 02. De cada ponto foram filtrados cerca de 100mL de água. Após a filtração, foi adicionado sílica gel em cada funil de filtro até cobrir toda a membrana.

Outra etapa do trabalho de campo, foi a aplicação dos questionários, aos membros da comunidade quilombola Nova Vista do Ituqui. Assim, aplicamos seis questionários, para compreender a cultura, o olhar e a voz da comunidade.

Figura 2 - Frasco de amostragens já devidamente isolado e acrescido de sílica para a conservação da amostra.



Fonte: Autora (2023).

3.2 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

As amostras (figura 3) foram encaminhadas para o laboratório de Educação e Evolução Prof. Horacio Schneider (LEDEVO), da Universidade Federal do Oeste do Pará, no qual foram armazenados em freezer a -21°C até a extração do DNA.

As extrações do eDNA da água (filtros) foram realizadas com o kit *MN NucleoSpin Tissue* (Macherey-Nagel, PA, EUA), seguindo um protocolo modificado de LeBlanc et al. (2020). Em cada extração foi utilizado metade do papel filtro e a outra metade foi armazenada como reserva. Nessa extração também foi incluído um controle negativo da extração dos filtros (CNEF).

Como forma de evitar possíveis contaminações, foram tomadas medidas de descontaminação dos espaços. Antes de cada procedimento laboratorial, as bancadas foram limpas com água sanitária 10% e álcool 70%, além disso o espaço foi submetido a luz UV por 15 minutos. Todos os equipamentos foram descontaminados de forma semelhante. As extrações de DNA foram realizadas em câmara asséptica em espaço separado do laboratório. Para a

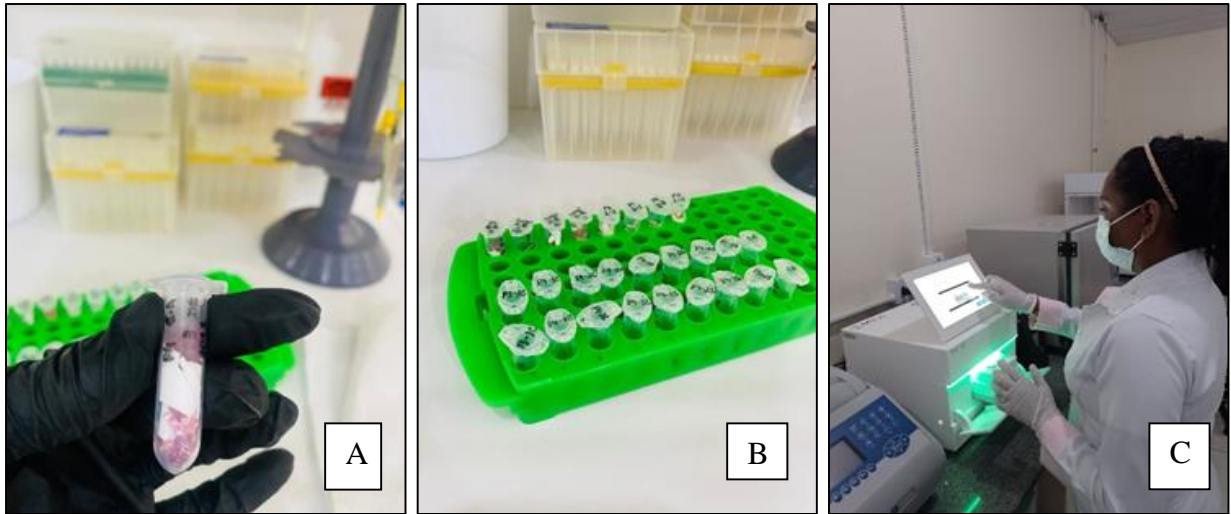
reação em cadeia da Polimerase (PCR), o preparo dos reagentes foi realizado em uma área e a adição do DNA em outra, com os espaços descontaminados como indicado acima.

Ainda para PCR, foi empregada uma abordagem em duas etapas (duas reações independentes). Para a primeira PCR foi utilizando os *primers* 18S rRNA, conhecidos como EUKA2; *primer forward* 5'-TTTGTCTGSTTAATTSCG-3', *reverse* 5'-TCACAGACCTGTTATTGC-3'(GUARDIOLA et al., 2015). Ambos os primers possuem “cauda” que contém a sequência específica dos adaptadores Illumina, necessários para inserção dos índices de sequenciamento. As PCRs foram realizadas com o Kit KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Roche) com volume de 25µL. O programa de ciclagem aplicado foi o seguinte: 1 ciclo de 95°C por 10 minutos, 30 ciclos de 95°C por 30, 55°C por 30 segundos, 72° C por 30 segundos, uma extensão final de 72°C por 7 minutos e, em seguida mantidos a 4°C. Para esta primeira PCR, foram realizadas três reações independentes de cada amostras. As três reações foram posteriormente misturadas e purificadas com *beads* magnéticas. O produto purificado foi, então, submetido a uma segunda PCR. A segunda PCR configura-se com a construção da biblioteca, com a adição dos adaptadores (índices) para o sequenciamento e posteriormente também foi purificada com *beads* magnéticas. As purificações foram realizadas com o kit *Pró-Nex* da Promega seguindo protocolo do fabricante. Cada biblioteca purificada, produto amplificado na segunda PCR, foi quantificada com o fluorímetro *Quantus* (PROMEGA).

Para o sequenciamento, as bibliotecas foram diluídas para 1µM. Por fim, foi estabelecido o *pool* de bibliotecas a concentração de 120pM, para obtenção dos arquivos *fastq* na plataforma Illumina iseq 100, no modo *paired-end* 150pb, usando procedimento padrão com adição de 10% de *phyX*.

Análise dos dados de sequenciamento foi realizada no software **R 4.5.0** (RStudio Team, 2021) em ambiente **R Studio**. As sequências foram analisadas a partir da abordagem de variantes da sequência do amplicon (ASVs), usando o pacote Dada2 1.9.3 (Callahan et al., 2016). A identificação taxonômica dos organismos presentes foi realizada com auxílio do banco de referência *Protist Ribosomal Reference* (PR2) v4.14.1 (Guillou et al., 2013). Para a representação gráfica dos resultados foram utilizados os pacotes *phyloseq*, *ggplot2* e *tidyverse*.

Figura 3 - Procedimentos no Laboratório: (A) Fracionamento da Amostra; (B) Preparação para a Extração; (C) Sequenciamento



Fonte: Autora (2023).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PERCEPÇÃO DA COMUNIDADE QUILOMBOLA EM NOVA VISTA DO ITUQUI

As comunidades tradicionais na Amazônia desenvolveram-se ao longo dos anos com técnicas diversificadas para subsistência, como a agricultura, a pesca e o extrativismo, em uma combinação para o sustento familiar e pequenas trocas e vendas. Contudo essas práticas visavam a garantia de sobrevivência e modos locais, já com uma preocupação em preservar (CERDEIRA et al., 1997; BRONDÍZIO et al. 2002).

A comunidade quilombola é constituída pela população negra que assim se autodefinem, a partir de relações de parentescos, território e práticas culturais. Aos “remanescentes” dos escravos refugiados em quilombos, deve-se o reconhecimento e título da terra, essa prática prevista na Constituição Brasileira de 1988 (*Artigo 68*). Muito das bases legais são pautadas na “reparação”, diante de anos de tratamento desumano, em que lhes foram negados seus direitos (CHAGAS, 2001).

Contudo, os desafios permanecem, pois as leis precisam se tornar “realidades”, o que ocorre em diversos casos, com muita reivindicação. Um exemplo é a titulação das terras, um marco na luta do quilombo por reconhecimento, enquanto protagonistas de suas histórias, o que ainda ocorre em processos lentos (R. BICALHO, 2019). A garantia de seus territórios compreende, para a população quilombola, ter os recursos e meios de sobrevivência.

O quilombo é onde o repasse de conhecimento é abundante, sobre seu modo de vida, técnicas e culturas. Devemos entender a comunidade quilombola, não como aquela “pintada” nos retratos e figuras dos livros antigos, onde predominava a pobreza, mas reconhecer que na comunidade tem os saberes, o lazer, as tarefas e responsabilidades. Segundo o filósofo Zygmunt Bauman (2003, p.8): “na comunidade podemos confiar no que ouvimos, estamos seguros a maior parte do tempo e nunca somos estranhos entre nós”, o que representa muito bem o quilombo.

Isto posto, estimar a percepção do quilombola (Figura 04) sobre os recursos naturais e sua disponibilidade, é de fundamental relevância, pois conhecer a dinâmica da comunidade é importante para o entendimento da totalidade. Esta, percepção se refere ao saber do indivíduo a respeito dos fatos que o cercam, procurando captar a visão do próprio comunitário acerca do “meio” em que está inserido, no caso da presente pesquisa, o rio.

Figura 4 - Percepções e Realidades: Visita a Comunidade Nova Vista do Ituqui, roda de conversa com os líderes sobre as perspectivas da comunidade sobre a pesquisa.



Fonte: Autora (2023).

A maioria dos moradores tem a pesca como profissão (Tabela 01), sempre moraram na comunidade, tendo o rio como meio de subsistência, assim como pequenas criações e plantações.

Tabela 1 - Perfil das (os) que responderam os questionários

Perfil	Idade	Sexo	Profissão	Seguro Defeso
Quilombola 1	61 anos	Masculino	Pescador	Recebe
Quilombola 2	56 anos	Masculino	Pescador	Não recebe
Quilombola 3	54 anos	Feminino	Pescador	Recebe
Quilombola 4	42 anos	Feminino	Pescador	Não recebe
Quilombola 5	52 anos	Masculino	Pescador	Não recebe
Quilombola 6	50 anos	Masculino	Pescador	Não recebe

Fonte: Autora (2023).

A perspectiva da comunidade é substancial para o entendimento da dinâmica tanto da comunidade, como do rio e da ictiofauna, essa percepção é a vivência de quem está lado a lado com esse “meio”, conseguindo observar suas alterações ao longo dos anos, em cada subida e descida do rio, de quem faz dos meandros seus caminhos, dos peixes seu alimento e subsistência. Como mostra a Tabela 01. Metade recebe o seguro do período do defeso, os outros 50% não recebem, muitos ainda desconhecem os meios para obtenção do seguro defeso, de certa forma carecem de informações e ajuda.

Os dados evidenciam a intrínseca relação do quilombo com o rio, conforme a Figura 05, 60% dos entrevistados possuem mais de 20 anos como pescadores, igualmente é a relação e uso da água para consumo no cotidiano, seja para uso doméstico ou lazer. Exatamente o que torna essa comunidade vulnerável às diferentes contaminações da água, portanto essa análise é uma forma de também levar esclarecimentos e debates aos mais interessados e que ainda carecem de políticas públicas efetivas.

Figura 5 - Porcentagem determinando o tempo de atuação profissional como pescador.



Fonte: Autora (2023).

Como resultado das entrevistas e questionários aplicados, com relação às percepções sobre alguma alteração na água, os comunitários responderam que “sim, essa mudança é real”, a temperatura, a coloração, a diminuição de espécies de peixes e algumas doenças são frequentes. A elevação do nível do rio, com as cheias a cada ano atingindo novas máximas, o aumento de sedimentos em suspensão é maior no período das cheias do rio. Outro ponto de debate sobre a qualidade da água, são as doenças acarretadas pela ingestão da água diretamente do rio, não é uma recomendação, porém nem todos têm acesso à água tratada, conforme a quilombola de 61 anos, nos relatou:

“Antigamente existia muitas praias, a água era consumida direto do rio sem problemas de saúde, hoje se consumir a água direto do rio ficamos doentes com diarreias, o problema das terras caída, que vai destruindo a paisagem, prejudicando a água que fica mais suja” (ENTREVISTADO, 2022).

Dessa forma evidenciamos a relevância de análises mais detalhadas em relação à qualidade da água, inclusive identificando os microrganismos presentes, para entender e comparar suas ações, sejam benéficas ou não, para o ambiente e sociedade.

4.2 IDENTIFICAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

Após os procedimentos laboratoriais e as análises computacionais, foram obtidas aproximadamente 249.202 sequências a partir das seis amostras. Considerando que o 18S rRNA é uma região bastante conservada, os resultados são apresentados apenas em nível de Classe e de Família. Os principais microrganismos encontrados foram indivíduos zooplanctônicos, algas, protistas ciliados. Dentre os organismos zooplanctônicos destacam-se os rotíferos, que são extremamente diversificados morfologicamente, encontrados praticamente em todos os corpos d'água, tendo papel relevante na transferência de energia na teia trófica (KETCHUM, 1962; ELSER et al., 1988), além de servir como indicador biológico da qualidade da água (SLÀDECEK, 1973; MARGALEF, 1983; PEJLER, 1983; PONTIN e LANGLEY, 1993).

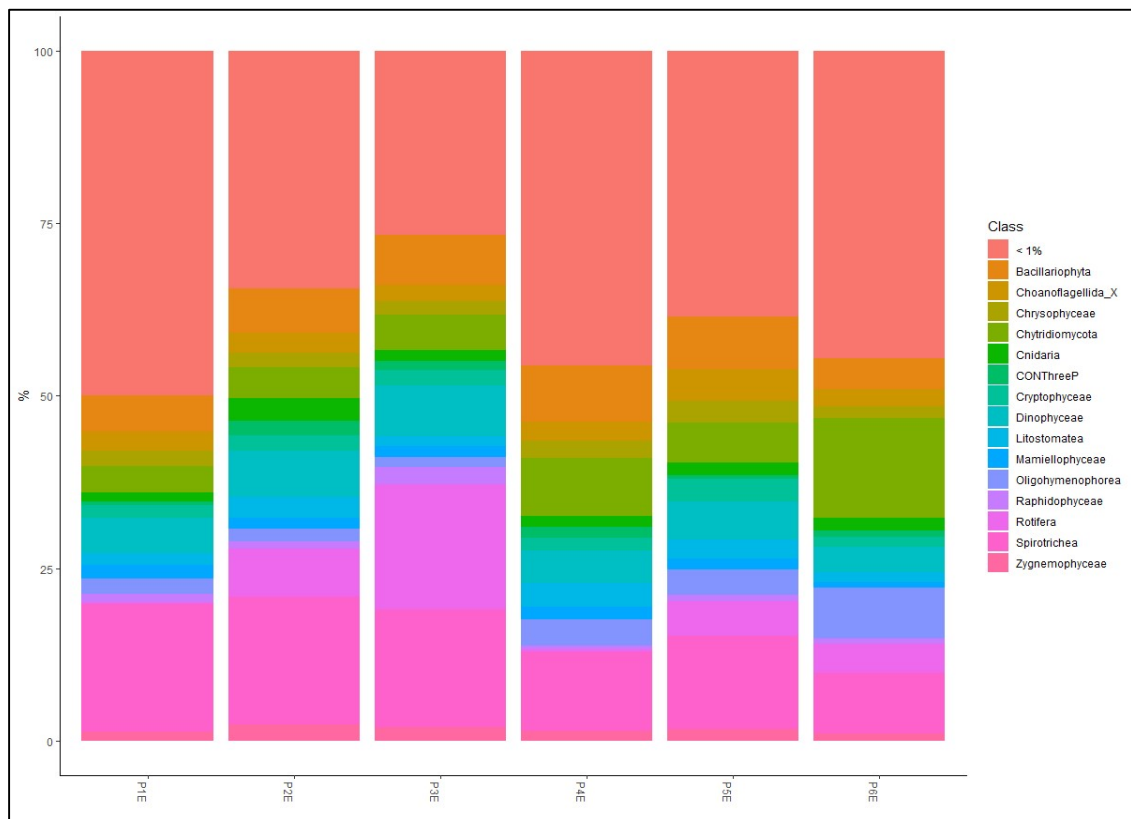
As algas são organismos morfologicamente simples, podem ser uni ou pluricelulares, não possuem raízes, caules ou folhas verdadeiras, são todas eucariontes e autótrofas fotossintetizantes. Por serem de nível trófico inferior aos demais seres aquáticos, sofrem alterações diretas em decorrência à poluição das águas.

Os protistas incluem os eucariotos que não apresentam nível de organização tecidual observado nos Reinos Plantae, Fungi e Animalia (EVERT; EICHHORN, 2014). Os planos corpóreos dos protistas demonstram uma diversidade notável de forma, função e estratégias de sobrevivência. A maioria, mas não todos, é unicelular (BRUSCA; BRUSCA, 2007).

Na abundância relativa das Classes, as Spirotrichea se apresentaram em todas as amostras com maior frequência, também foram encontrados em todas as amostras, com pequenas variações de abundância, as Classes Mamiellophyceae, Dinophyceae e Bacillariophyta. Muitas outras Classes com abundância relativa inferior a 1% também foram identificadas. Para P3E, os Rotifera foram igualmente abundantes. P6E apresenta maior abundância de Cnidaria e

Chytridiomycota (Figura 06). Na abundância de Família, foram observadas 13 famílias com maior abundância relativa, com destaque para Tintinnidiidae, Sessilida, Monomastigaceae, Hydrozoa e Chytridiomycetes (Figura 07).

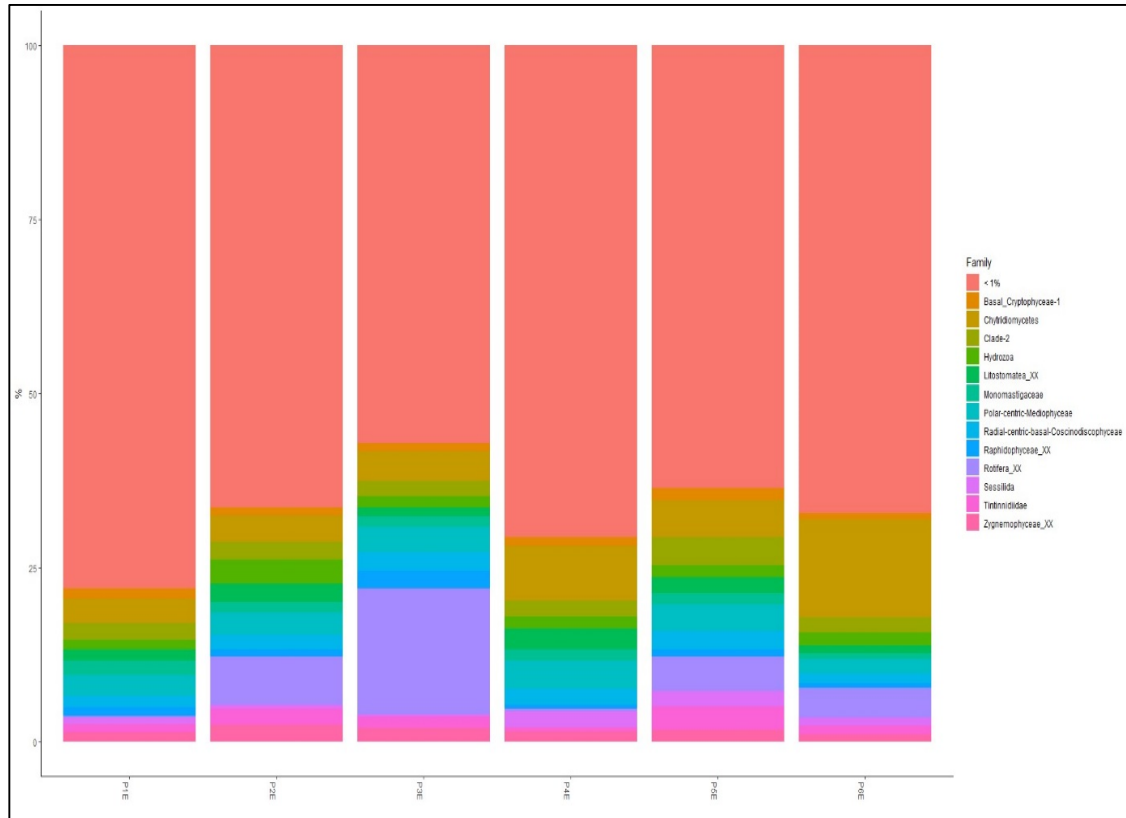
Figura 6 - Abundância relativa das Classes identificadas no rio Ituquí a partir de eDNA



Fonte: Autora (2023).

Por serem organismos muito sensíveis às mudanças ambientais, os protistas são ideais como bioindicadores de alerta precoce da deterioração de ambientes aquáticos e como organismos teste para ensaios ecotoxicológicos (BERNARDO; BARP; STOLBERG. 2009; WU et al., 2015).

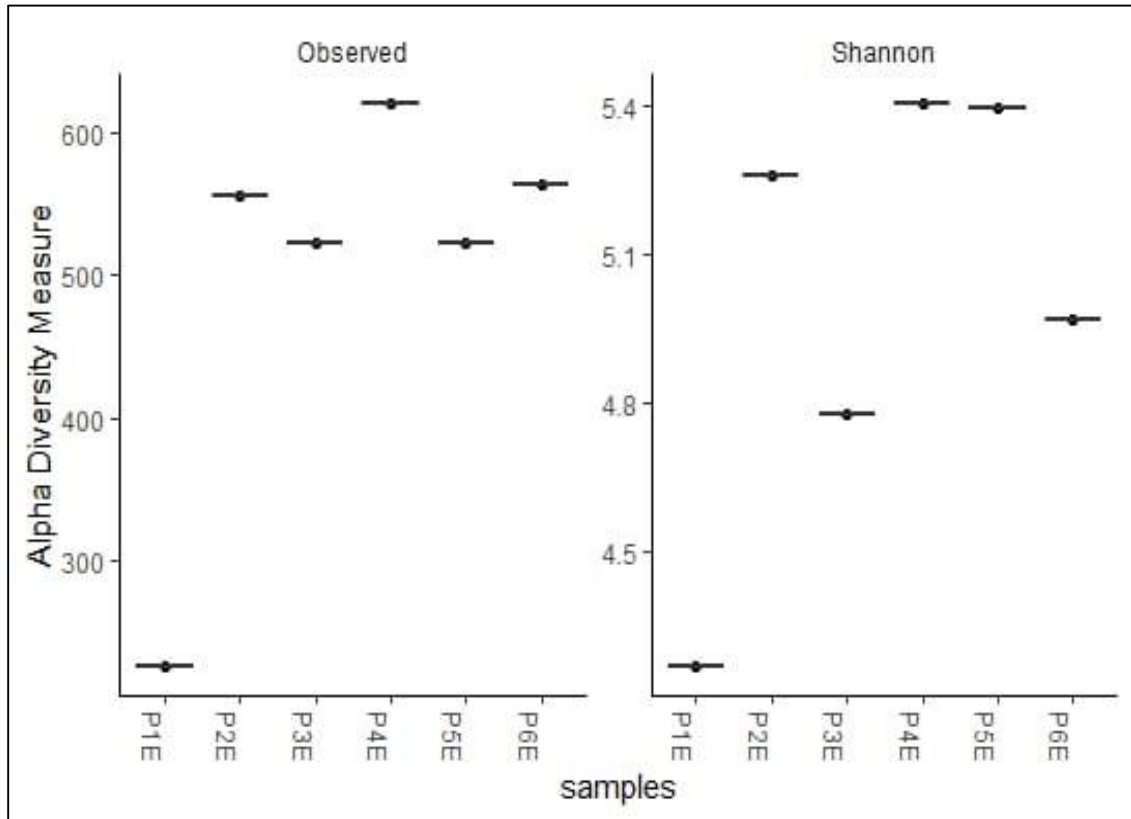
Figura 7 - Abundância relativa das Famílias identificadas no rio Ituquí a partir de eDNA.



Fonte: Autora (2023).

A partir da análise da diversidade alfa, foi calculada a riqueza total de organismos aquáticos, estimativa de diversidade Shannon. A Figura 08 mostra que a diversidade alfa de P1E é menor do que os demais pontos, observado que a amostra P1E, apresenta uma baixa diversidade comparada com outras amostras.

Figura 8 - Diversidade alfa observada nas amostras coletadas no rio Ituquí, a partir de eDNA.



Fonte: Autora (2023).

Karanis et al. (2007) lista os principais protozoários aquáticos patogênicos responsáveis por diversos surtos ao redor do mundo: *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium spp*, *Balantidium coli*, *Sarcocystis sp.*, *Toxoplasma gondii*, *Cyclospora sp.* e *Microsporidia*. Considerando o risco à saúde humana que estes organismos oferecem, muitos trabalhos vêm empregando técnicas de eDNA para avaliar a sua presença em amostras de água (Moreno et al., 2018; Rusiñol et al., 2020; Mthethwa et al., 2021 e suas referências).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O DNA ambiental é uma ferramenta altamente eficaz e seus avanços e uso em diferentes análises se dão em razão da que tem acarreta a diminuição dos custos da aplicação da metodologia.

O presente trabalho não detectou a presença de nenhum destes organismos nas seis amostras analisadas, o que sugere que a comunidade de Nova Vista do Ituquí vive em um ambiente seguro. Por outro lado, o número de amostras analisadas foi baixo, o que pode ter limitado a capacidade de detecção dos organismos.

Outro ponto que merece destaque é a necessidade de comparar dados obtidos em diferentes períodos do ano visto que, nossa pesquisa contempla apenas o período seco, onde o nível do Rio Amazonas diminui drasticamente. Durante o período da cheia, correspondente ao inverno amazônico, o nível do rio sobe, chegando próximo e, até invadindo as casas dos comunitários. Este maior fluxo durante a cheia pode trazer dados mais robustos sobre a qualidade da água. Assim, se faz necessário ampliar o número de amostras tanto na área do quilombo de Nova Vista do Ituquí, quanto nos outros 10 quilombos do município de Santarém.

REFERÊNCIAS

- ANA – **AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS**. Atlas Brasil: abastecimento urbano de águas – panorama nacional. Brasília: ANA, 2016. v. 1 e 2
- Baird, Donald J., and Mehrdad Hajibabaei. "Biomonitoring 2.0: **a new paradigm in ecosystem assessment made possible by next-generation DNA sequencing**." (2012): 2039-2044
- BAUMAN, Z. **Comunidade: A busca por segurança no mundo atual**. Tradução Plínio Dentzien. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editor. 2003.
- BECKER, B.K. Geopolítica da Amazônia. **Estudos Avançados**, São Paulo, V.19, N.53, P.71-86, 2005.
- BRONDÍZIO, E. S.; NEVES, W. A. **Populações caboclas do estuário do Amazonas: a percepção do ambiente natural**. In: PAVAN, C. (Org.). Uma estratégia latino-americana para Amazônia. v.1. São Paulo: Editora Unesp, 1997.
- CERDEIRA, R. G. P.; RUFFINO, M. L.; ISAAC, V. J. **Consumo de pescado e outros alimentos pela população ribeirinha do lago grande de Monte Alegre, Pará, Brasil**. Acta Amazônia. 27 (3), 1997.
- CHAGAS, Miriam de Fátima. **A política do reconhecimento dos "remanescentes das comunidades dos quilombos"**. Horiz. Antropolol, Porto Alegre, v. 7, n.15, 2001. Disponível em: Acesso em: 19 Mar. 2007. Pré-publicação. doi: 10.1590/S0104-71832001000100009.
- CHAGAS, Miriam de Fátima. **A política do reconhecimento dos "remanescentes das comunidades dos quilombos"**. Horiz. Antropolol, Porto Alegre, v. 7, n.15, 2001. Disponível em: Acesso em: 19 Mar. 2007. Pré-publicação. doi: 10.1590/S0104-71832001000100009.
- COPATTI, C.E.; COPATTI, B.R. **Seasonal variation and diversity of fishes of the Cambará River, Uruguay Basin**. Biota Neotropica, Campinas, v. 11, n. 4, p. 265-271, 2011.
- CORLETT, Richard T. A bigger toolbox: **biotechnology in biodiversity conservation**. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 55-65, 2017.
- COSTA, Paulo Henrique de Oliveira. **Manual para o monitoramento da ictiofauna por meio de DNA ambiental – eDNA** / Paulo Henrique de Oliveira Costa... [et al]. -- Belém, 2020

CRISTESCU, M. E. **From barcoding single individuals to metabarcoding biological communities: towards an integrative approach to the study of global biodiversity.** *Trends Ecology Evolution*, v. 29, n. 10, p. 566-571, 2014.

CURDS, Colin R. et al. **Protozoa and the water industry.** cambridge university press, 1992.

FAHNER, N. A. et al. **Large-Scale Monitoring of Plants through Environmental DNA Metabarcoding of Soil: Recovery, Resolution, and Annotation of Four DNA Markers.** *PLoS One*, v. 11, n.6, online, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0157505>. Acesso em: 18 ago. 2020.

GUERRA, A.J.T. & MARÇAL, M.S. **Geomorfologia ambiental Geomorfologia ambiental.** Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2006.

Hebert PD, Cywinska A, Ball SL. **Biological identifications through DNA barcodes.** *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 2003; 270(1512); 313-321.

Karanis, Panagiotis, Christina Kourenti, and Huw Smith. **"Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt."** *Journal of water and health* 5.1 (2007): 1-38

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2010). **Microbiologia de Brock.** (12^a. Ed.) Editora Artmed, Porto Alegre, RS, 1160.

Moreno, Y., Moreno-Mesonero, L., Amorós, I., Pérez, R., Morillo, J. A., & Alonso, J. L. (2018). **Multiple identification of most important waterborne protozoa in surface water used for irrigation purposes by 18S rRNA amplicon-based metagenomics.** *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 221(1), 102-111.

SIOLI, H. **As águas do Alto Rio Negro.** Boletim Técnico Instituto Agrônômico do Norte. V. 32. 1956.

Mthethwa, N. P., Amoah, I. D., Reddy, P., Bux, F., & Kumari, S. (2021). **A review on application of next-generation sequencing methods for profiling of protozoan parasites in water: Current methodologies, challenges, and perspectives.** *Journal of Microbiological Methods*, 187, 106269.

Rusiñol, M., Martínez-Puchol, S., Timoneda, N., Fernández-Cassi, X., Pérez-Cataluña, A., Fernández-Bravo, A., ... & Girones, R. (2020). **Metagenomic analysis of viruses, bacteria and protozoa in irrigation water**. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 224, 113440.

Staink, D. R. (2013). **A ciência da microbiologia. Santa Maria: Disciplina de Microbiologia Geral. Santa Maria**: Universidade Federal de Santa Maria.

Taberlet P, Waits LP, Luikart G. **Noninvasive genetic sampling**: look before you leap. *Trends in ecology evolution*, 1999, 14(8); 323-327.

VAFEIADOU, Anna-Maria; MOENS, Tom. **Effects of temperature range changes and interspecific competition to population development and behaviour of marine nematodes**. **In: International Meiofauna Conference**, 17., p. 57-58. 2019.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ REITORIA SISTEMA INTEGRADO DE
BIBLIOTECAS
TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS**

1. Identificação do autor

Nome completo: Eliziane Figueira de Vasconcelos CPF: 008.794.842-76 RG: 5865547

E-mail: eleizianeyvas@gmail.com Telefone: 93 991299114

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página de rosto?

() Sim (X) Não

2. Identificação da obra

(X) Monografia () TCC () Dissertação () Tese () Artigo científico () Outros: _____

Título da obra: A MICROBIOTA DO RIO ITUQUI A PARTIR DO DNA AMBIENTAL: Saberes e costumes tradicionais aliados à Ciência.

Programa/Curso de pós-graduação: Bacharelado em Ciências Biológicas

Data da conclusão: 20/01/2023.

Agência de fomento (quando houver):

Orientador: Gabriel Iketani Coelho

E-mail: iketani.g@gmail.com

Co-orientador: Luciana Pimentel da Silva

Examinadores: Ivana Barbosa Veneza e Eveleise Samara Martins Canto

3. Informação de disponibilização do documento:

O documento está sujeito a patentes? () Sim (X) Não

Restrição para publicação: () Total (X) Parcial () Sem restrição

Justificativa de restrição total: O trabalho será transformado em manuscrito de artigo científico a ser submetido para publicação de revista científica especializada. Assim, para preservar os dados, autorizo apenas a divulgação dos elementos pré textuais.

4. Termo de autorização

Autorizo a Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) a incluir o documento de minha autoria, acima identificado, em acesso aberto, no Portal da instituição, no Repositório Institucional da Ufopa, bem como em outros sistemas de disseminação da informação e do conhecimento, permitindo a utilização, direta ou indireta, e a sua reprodução integral ou parcial, desde que citado o autor original, nos termos do artigo 29 da Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, e da lei 12.527 de novembro de 2011, que trata da Lei de Acesso à Informação. Essa autorização é uma licença não exclusiva, concedida à Ufopa a título gratuito, por prazo indeterminado, válida para a obra em seu formato original.

Declaro possuir a titularidade dos direitos autorais sobre a obra e assumo total responsabilidade civil e penal quanto ao conteúdo, citações, referências e outros elementos que fazem parte da obra. Estou ciente de que todos os que de alguma forma colaboram com a elaboração das partes ou da obra como um todo tiveram seus nomes devidamente citados e/ou referenciados, e que não há nenhum impedimento, restrição ou limitação para a plena validade, vigência e eficácia da autorização concedida.

Santarém, 01/02/2023.

Documento assinado digitalmente
gov.br ELIZIANE FIGUEIRA DE VASCONCELOS
Data: 01/02/2023 15:06:01-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Assinatura do autor

5. Tramitação no curso Secretaria / Coordenação de curso

Recebido em ____/____/____. Responsável: _____

Siape/Carimbo




**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS E
TECNOLOGIA DAS ÁGUAS CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS**

**TERMO DE CIÊNCIA DO ORIENTADOR PARA CORREÇÃO DA VERSÃO FINAL
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**


Eu, Gabriel Iketani Coelho, SIAPE 1987988, declaro que estou ciente das correções realizadas no Trabalho de conclusão da (o) discente Eliziane Figueira de Vasconcelos, matrícula 201601156.

Santarém/PA, 01 de Fevereiro de 2023.

De acordo,

Documento assinado digitalmente
 GABRIEL IKETANI COELHO
Data: 01/02/2023 14:19:32-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Assinatura do(a) orientador(a)

Documento assinado digitalmente
 ELIZIANE FIGUEIRA DE VASCONCELOS
Data: 01/02/2023 15:06:01-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Assinatura do(a) discente