

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
Programa de Pós-Graduação em Geografia
Tratamento da Informação Espacial

Flávia Mara Evangelista

**ANÁLISE COMPARATIVA DE MICRORGANISMOS NA GRUTA REI DO MATO,
SETE LAGOAS, MINAS GERAIS.**

Belo Horizonte
2022

Flávia Mara Evangelista

**ANÁLISE COMPARATIVA DE MICRORGANISMOS NA GRUTA REI DO MATO,
SETE LAGOAS, MINAS GERAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Geografia – Tratamento da Informação Espacial da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Geografia

Área de concentração: Análise Espacial

Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Panisset Travassos

**Belo Horizonte
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

E92a	Evangelista, Flávia Mara Análise comparativa de microrganismos na Gruta Rei do Mato, Sete Lagoas, Minas Gerais / Flávia Mara Evangelista. Belo Horizonte, 2022. 69 f. : il. Orientador: Luiz Eduardo Panisset Travassos Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Geografia - Tratamento da Informação Espacial 1. Cavernas. 2. Ecossistemas. 3. Microorganismos - Análise. 4. Meios de cultura. 5. Diversidade biológica - Conservação. 6. Carste. 7. Rei do Mato, Gruta (Sete Lagoas, MG). I. Travassos, Luiz Eduardo Panisset. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Geografia - Tratamento da Informação Espacial. III. Título. SIB PUC MINAS CDU: 551.442(815.1)
------	--

Flávia Mara Evangelista

**ANALISE COMPARATIVA DE MICRORGANISMOS NA GRUTA REI DO MATO,
SETE LAGOAS, MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à banca de defesa do Programa de Pós-Graduação em Geografia – Tratamento da Informação Espacial da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Geografia – Tratamento da Informação Espacial.



Documento assinado digitalmente
LUIZ EDUARDO PANISSET TRAVASSOS
Data: 06/09/2022 07:43:00-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Luiz Eduardo Panisset Travassos
PUC Minas / orientador



Documento assinado digitalmente
DANIELA ALMEIDA FREITAS
Data: 08/09/2022 11:11:52-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof.^a Dr.^a Daniela Almeida Freitas
Unifenas



Documento assinado digitalmente
SANDRO LAUDARES
Data: 09/09/2022 14:34:49-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Sandro Laudares
PUC Minas

Belo Horizonte, 05 de setembro de 2022

Aos meus pais, por acreditar e incentivar que a educação é o caminho para mudança. E aos meus filhos, que possam seguir e acreditar no poder de transformação do conhecimento e da educação.

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado só foi possível pelo apoio de diversas pessoas e instituições. Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Eduardo Panisset Travassos, pelo empenho e sentido prático com que sempre me orientou neste trabalho.

Agradeço a CAPES que proporcionou a possibilidade de pesquisa.

Agradeço a Profa. Dra. Ana Márcia Moreira Alvim e ao Programa de Pós-Graduação em Geografia –Tratamento da Informação Espacial, da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, pela oportunidade e por toda compreensão.

Agradeço a Ativo Ambiental pelo apoio as análises de laboratório.

A Gerente da Gruta Rei do Mato, Maria Honorina Pereira Rocha e sua equipe pelo acompanhamento durante as pesquisas.

Por último, quero agradecer à minha família, que sempre me apoiaram, em especial, meus pais, Maria do Carmo e Josafá, Bernardo, Massimo e Harlison.

RESUMO

Os microrganismos estão presentes em diversos nichos da biosfera, dentre eles – e não menos importante – se podem destacar os ambientes subterrâneos, que ainda são pouco explorados e estudados. As cavidades naturais subterrâneas são ambientes subterrâneos de importância singular para os estudos relacionados aos microrganismos, uma vez que estes ambientes se caracterizam por suas estabilidades ambientais, sofrendo poucas variações ao longo do tempo. Esses microrganismos possuem elevado protagonismo em seu papel ecológico, podendo ser utilizados como alimentos, controlar populações de animais diversos, influir na formação da espeleogenese das cavidades, atuar como decompositores e estar envolvidos na ciclagem de nutrientes, dentre tantas outras importantes funções. Atualmente, se discute o real potencial das cavidades naturais subterrâneas abrigarem espécies novas, que podem ter grande interesse biotecnológico. Dessa forma, o estudo da microbiologia de caverna se torna uma área de interesse para o início da identificação destes potenciais microrganismos que terão um importante papel para sua utilização nos diversos segmentos da Ciência. É sob essa ótica que esta pesquisa traz como tema “Distribuição espacial de microrganismos na Gruta Rei do Mato em Sete Lagoas, Minas Gerais”. A gruta escolhida possui grande importância como Monumento Natural Estadual, além de possuir 998 metros de extensão, sendo uma cavidade natural subterrânea de grau de relevância máxima, nos termos do § 3º, do artigo 2º, do Decreto 10.935/2022 (BRASIL 2022). Dessa forma, temos uma análise comparativa da espacialização de microrganismos presentes ao longo da sua extensão e da sua área e de entorno.

Palavras-chave: Microrganismos. Cavidades naturais subterrâneas. Biodiversidade. Potencial biotecnológico.

ABSTRACT

Microorganisms are present in several niches in the biosphere; among them, and not least, one can highlight the subterranean environments that are still little studied and explored. Caves are subterranean environments of singular importance for studies of microorganisms since these environments are characterised by environmental stability, undergoing few variations over time. These microorganisms that are part of the cave's biodiversity are protagonists of an important ecological role, being able to be used as food, to control the population of animals, be involved in the cycling of nutrients, in the formation of the cave's speleogenesis, as decomposers, among many other important ones functions. Currently, the real potential of caves is being discussed to house new species that may be of great biotechnological interest. Thus, the study of cave microbiology becomes an interesting area for identifying these potential microorganisms that may be of great importance for new uses in various branches of science. From this perspective, the research project has the theme "Spatial distribution of microorganisms in the Rei do Mato Cave in Sete Lagoas, Minas Gerais". The chosen cave has great importance as a State Natural Monument, in addition to being 998 meters long, being a natural underground cavity of maximum relevance, under terms of § 3, article 2, of Decree 10.935/2022 (BRASIL2022). Thus, a comparative analysis of the microorganisms present along with the extension and its area and surroundings tends to be established.

Keywords: Microorganisms. Caves. Biodiversity. Biotechnological potential.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Detalhe do portão do Palácio real de Balawat, com detalhe para o registro da exploração espeleológica de uma caverna	12
Figura 2 – Cavernas “sagradas” são comuns em várias partes do mundo e estão presentes em diversos sistemas de crença religiosa.	14
Figura 3 – Mapa de localização Gruta Rei do Mato, em Minas Gerais	16
Figura 4 – Aspectos do Patrimônio Arqueológico do MNEGRM. A) Marcas amolar instrumentos líticos. B) Detalhe de uma pintura centimétrica no Abrigo Rei do Mato. C, D, E) Pinturas do Abrigo do Trevo Abrigo do Trevo.....	18
Figura 5 – Maciço carbonático representativo das feições cársticas encontradas no Monumento Natural Estadual Gruta Rei do Mato e entorno.....	19
Figura 6 – Mapa geológico simplificado da região	20
Figura 7 – Mapa geomorfológico regional	21
Figura 8 - Vistas da entrada da Gruta Rei do Mato (A e B), maciço carbonático em C e local do primeiro ponto de coleta (D)	21
Figura 9 – Espeleotemas da Gruta Rei do Mato, destacando-se as colunas “gêmeas”, de importância mundial por sua raridade.	22
Figura 10 - Zoneamento das Cavidades Naturais Subterrâneas.....	25
Figura 11 - Esquema de impactos interligados que afetam o carste e os ecossistemas cavernícolas.....	33
Figura 12 – Pontos de amostragem na Gruta Rei do Mato	41
Figura 13 - Exposição de placas de petri para coleta de microrganismos aérea externa a entrada da Gruta Rei do Mato	42
Figura 14 -Exposição de placas de Petri para coleta de microrganismos na área interna Gruta Rei do Mato	43
Figura 15 - Lupa Phoenix CP 602	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1–Pontos de coleta da pesquisa	42
Tabela 2 – Os meios de cultura utilizados para a pesquisa	42
Tabela 3 – Contagem dos Microrganismos da 1ª Campanha	45
Tabela 4 – Contagem dos Microrganismos 2ª Campanha	46

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Justificativa da pesquisa.....	15
1.2. Caracterização geral da área de estudo e entorno	16
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	23
2.1. A paisagem cárstica e as cavernas	26
2.2. Impactos do turismo ao ambiente cavernícola	29
2.3. Microrganismos cavernícolas e a biotecnologia	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1. Local e Ponto de Exposição das placas com meio de cultura	40
3.2. Os Meios de cultura.....	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5. CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS.....	59
ANEXO I.....	65
ANEXO II.....	68

1. INTRODUÇÃO

A convivência do ser humano com as cavernas é, inegavelmente, algo que remonta aos tempos pré-históricos, quando esses espaços eram utilizados como forma de abrigo ou santuário, conforme demonstrado por Travassos (2010; 2015) e outros autores dedicados ao assunto, seja na geomorfologia cárstica (TRAVASSOS, 2019), seja para o turismo (LOBO *et al.*, 2010; LOBO; TRAVASSOS, 2012; ARAUJO; LOBO; TRAVASSOS, 2019; GIUSTI; TRAVASSOS; LOBO, 2019; GOMES *et al.*, 2021; TRAVASSOS *et al.*, 2021; SENA; RUCHKYS; TRAVASSOS, 2022; TIMO; TRAVASSOS, 2022).

De acordo com Cigna e Forti (2013), a primeira visita turística documentada de uma caverna ocorreu na Mesopotâmia onde, não muito longe de sua nascente, o rio Tigre flui pelo subterrâneo. Tiglath Pileser, rei da Assíria teve seu retrato esculpido na entrada junto com uma inscrição em 3.100 BP e outro rei assírio subsequente, Shalmaneser, em 853 ou 852 a.C. teve seus homens explorando três cavernas perto desta surgência. O evento foi reproduzido em uma placa de bronze do portão de seu palácio real em Balawat (Figura 1).

Figura 1 – Detalhe do portão do Palácio real de Balawat, com detalhe para o registro da exploração espeleológica de uma caverna



Fonte: Fotografia de Luiz Eduardo Panisset Travassos (2012)

De acordo com Cigna e Burri (2000), Cigna e Forti (2013) e Travassos (2015), posteriormente, há cerca de 2.000 anos, Plinius, um escritor romano, descreveu a “Caverna do Cachorro”, perto de Nápoles, na Itália.

Tal caverna era visitada pelas pessoas que se interessavam por estranho

fenômeno que nela ocorria, consistente na morte pequenos animais, que ficavam próximos ao chão, enquanto as pessoas em pé não eram afetadas.

Isso ocorria por causa da liberação de dióxido de carbono, que, por ser mais denso que o ar, se mantinha próximo ao chão.

No mesmo período, na Antiguidade, várias “cavernas quentes” foram transformadas em banhos termais ou templos religiosos. Mais tarde, até a Idade Média, as cavernas passaram a ser frequentemente associadas ao diabo ou ao inferno em geral, e as pessoas evitavam entrar nestes espaços por medo, a menos que tenham sido sacralizados (Figura 2).

Contudo, foi somente no século XVIII que as cavernas começaram a ser mais visitadas, principalmente na Europa, e o turismo de cavernas se popularizou.

Assim, para Ferreira (2018), com o passar do tempo, esse interesse pelos locais subterrâneos deixou de se resumir a uma mera curiosidade para se transformar em um segmento do conhecimento científico: a *Espeleologia*.

E foi a partir da segunda metade do século XIX que as cavernas passaram a ser objeto de estudos científicos menos generalistas e mais específicos, por meio de abordagens multidisciplinares.

Em relação às cavernas que são utilizadas pelo turismo, Cigna e Forti (2013) destacam que quase todos os países do mundo abrigam pelo menos uma, mas muitas vezes, dezenas de cavernas turísticas.

Cerca de 500 grandes cavernas turísticas apresentam mais de 50.000 visitantes/ano e mais de 250 milhões de visitantes anualmente pagam ingresso para visitá-las. Se todas as atividades relacionadas com a existência de uma caverna turística (e.g. transporte, hospedagem, alimentação etc.) fossem consideradas, os resultados seriam de cerca de 100 milhões de pessoas, cuja renda depende, direta ou indiretamente, de cavernas turísticas. Estes valores podem ser pelo menos o dobro, se for levando em consideração as áreas cársticas dentro de geoparques, por exemplo.

Portanto, é evidente que as cavernas (especialmente as abertas ao turismo) são, atualmente, o atrativo geoturístico mais importante em todo o mundo e representam um importante recurso econômico para muitos dos países ainda em desenvolvimento.

Atualmente, existe um grande interesse em relação às cavernas advindos pelo turismo, com visitas que podem alterar, por exemplo, a dinâmica microbiológica

das cavernas. A exploração de cavernas e pesquisa científica é importante para o seu conhecimento e conservação, porém a falta de planejamento tem causado danos a este ambiente.

Figura 2 – Cavernas “sagradas” são comuns em várias partes do mundo e estão presentes em diversos sistemas de crença religiosa.



Fonte: Fotografia de Luiz Eduardo Panisset Travassos (2012)

Alt e Moura (2021) destacam que as cavernas são ambientes frágeis e sensíveis, geralmente elementos de um sistema ambiental complexo, abrigando

muitas vezes atributos insubstituíveis e altamente vulneráveis a alterações antrópicas, como espeleotemas frágeis, fauna altamente especializada, vestígios arqueológicos e paleontológicos em condições excepcionais de conservação. Infelizmente, um ato simples como caminhar sobre esses atributos pode levar a impactos irreversíveis.

Assim sendo, o objetivo geral da pesquisa é a coleta e análise comparativa de microrganismos existentes na Gruta Rei do Mato a fim de:

- (i) correlacionar a quantidade de colônias de microrganismos identificadas na Gruta Rei do Mato;
- (ii) correlacionar os resultados microbiológicos apurados com possíveis fenômenos que possam justificar as diferenças observadas;
- (iii) Manter um background da Gruta Rei do Mato referente ao período de interrupção do turismo devido ao isolamento social causado pela Pandemia de COVID-19, comparando a quantidade de microrganismos distribuídos após reabertura; e,
- (iv) Verificação de possível existência de microorganismos com potencial biotecnológico.

1.1. Justificativa da pesquisa

Diante da estabilidade ambiental causada pelo relativo isolamento das cavernas em relação ao ambiente externo, estas são *habitats* singulares para o desenvolvimento de microrganismos.

Os microrganismos presentes nas cavernas possuem um papel fundamental e muito importante na dinâmica ecológica, além de apresentarem grande potencial em abrigar novas espécies e, possivelmente, permitir o desenvolvimento de novos medicamentos e produtos biotecnológicos (PAULA, BICHUETTE; SELEGHIM, 2019).

Por tais razões, o estudo da microbiologia das cavernas se torna um campo de pesquisas interessante para o início da identificação destes microrganismos que apresentam potencial para novas utilizações biotecnológicas.

Sendo assim, a pesquisa se justifica pela contemporaneidade da temática, fazendo-se necessários mais estudos sobre o tema, além de demonstrar a expressiva lacuna no conhecimento sobre a diversidade microbiana em cavernas no Brasil.

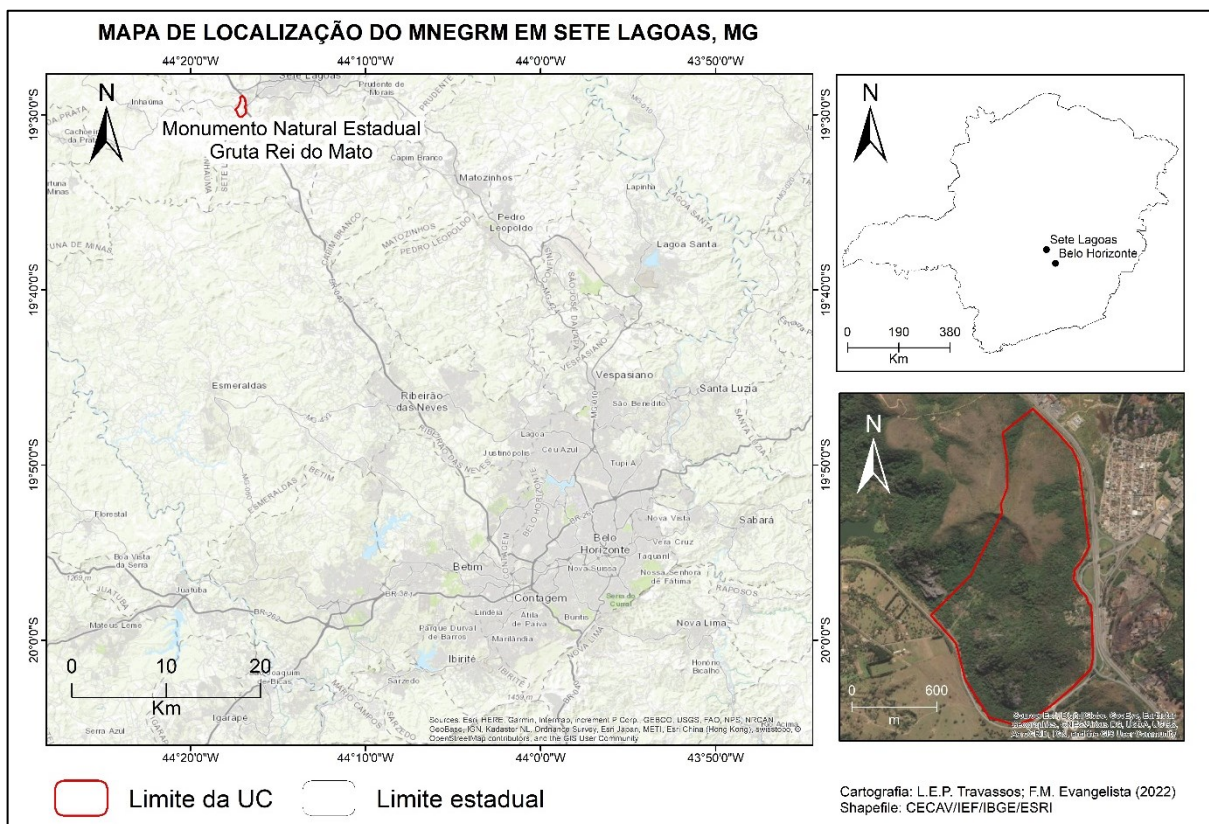
1.2. Caracterização geral da área de estudo e entorno

O Monumento Natural Estadual Gruta Rei do Mato (MNEGRM) está localizado no município de Sete Lagoas (MG), na margem esquerda da rodovia BR-040 no sentido Belo Horizonte – Brasília (Figura 3). Segundo dados do IBGE (2010), o município de Sete Lagoas possui 214152 habitantes e uma densidade demográfica de 398,32 habitantes por km².

Ainda segundo o censo 2010, a população urbana de Sete Lagoas é 208956, representando 97,6% da população total do município.

O município de Sete Lagoas ocupa a porção central do Estado de Minas Gerais, na microrregião de Sete Lagoas, e possui altitude máxima de 1.076 metros (m), na Serra de Santa Helena, e a altitude mínima de 686 m, na foz do Ribeirão do Paiol (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012, p.19).

Figura 3 – Mapa de localização Gruta Rei do Mato, em Minas Gerais



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

O clima de Sete Lagoas pode ser considerado tropical semi-úmido com verões chuvosos e invernos secos, com temperaturas máximas de 29,2°C, em média, e média mínima anual de 22,1°C, além de um índice pluviométrico anual que varia entre 1.200 e 1.500 mm (CPRM, 2010).

Apesar da totalidade do município estar inserida no bioma de Cerrado, pode-se identificar três tipos básicos de vegetação.

O primeiro é o chamado cerrado, caracterizado por uma vegetação aberta com árvores que podem chegar a oito metros de altura.

O segundo tipo são as matas secas, que ocorrem preferencialmente em rochas carbonáticas e apresentam grande deciduidade. São mais abertas e possuem menor estrutura que as matas úmidas.

O terceiro tipo de vegetação encontrado no município é a mata pluvial que ocorrem ao longo das drenagens abertas do município (CPRM, 2010).

No Monumento, a vegetação predominante na área é a mata seca, haja vista a extensa área coberta por rochas carbonáticas. Também é encontrada a vegetação de cerrado na porção norte do Monumento, em áreas da formação Serra de Santa Helena.

A Unidade de Conservação (UC) pode ser considerada refúgio para diversas espécies de fauna que perderam seus habitats com a expansão urbana de Sete Lagoas.

A rede hidrográfica de Sete Lagoas está inserida na Bacia do São Francisco e Sub-Bacia do Rio Paraopeba, apresentando padrão dentrítico (quando em rochas areníticas ou pelíticas) e sistemas de sumidouros, dolinas e grutas que favorecem o armazenamento de água subterrânea quando ocorrem em áreas cársticas.

O Monumento Natural Estadual Gruta Rei do Mato é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral, que conta com 141 hectares (ha) criada pela Lei Estadual nº18.348, de 25 de agosto de 2009. O objetivo principal de criação foi o de proteger o sítio histórico-científico Gruta Rei do Mato, sua flora e sua fauna.

De acordo com o Art.5º da Lei Estadual 18.348/2009, o Instituto Estadual de Florestas (IEF) desenvolverá ações em parceria com o Município de Sete Lagoas, com organizações não-governamentais e outras instituições de caráter público ou privado, para o desenvolvimento das atividades próprias da UC (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012, p.15).

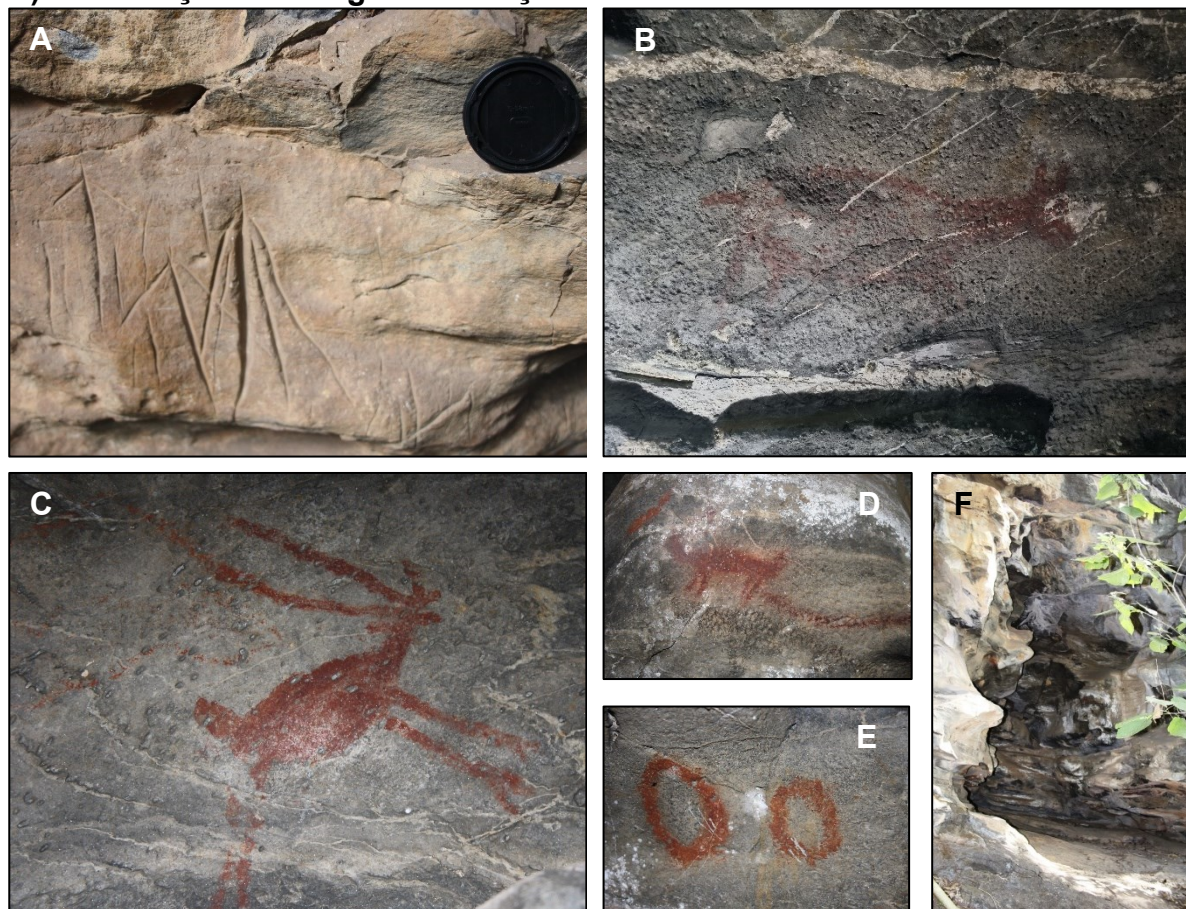
De acordo com o IEF (2020), a Gruta do Rei do Mato é uma das cavernas mais

visitadas do Brasil e está inserida na Rota das Grutas Peter Lund, um Programa Turístico do Governo de Minas formado também pelas grutas da Lapinha, em Lagoa Santa, e Maquiné, em Cordisburgo.

O MNEGRM ainda não conta com uma oferta de atrativos totalmente estruturada e, para atender seus visitantes, se utiliza do forte apelo turístico que possui seu atrativo âncora: a gruta (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012).

Em relação ao Patrimônio Arqueológico da região (Figura 4), destacam-se o Abrigo do Trevo, o Abrigo Rei do Mato e a própria Gruta Rei do Mato, objetos de pesquisas sistemáticas nos anos 1980 e 1990, valendo a apresentação de algumas imagens destes atributos, conforme segue:

Figura 4 – Aspectos do Patrimônio Arqueológico do MNEGRM. A) Marcas amolar instrumentos líticos. B) Detalhe de uma pintura centimétrica no Abrigo Rei do Mato. C, D, E) Pinturas do Abrigo do Trevo. F) Localização do abrigo no maciço carbonático.



Fonte: Fotos de L.E.P. Travassos

Do ponto de vista geológico, o município de Sete Lagoas encontra-se inserido na macroestrutura geológica do Cráton de São Francisco, província geotectônica

correspondente à porção ocidental do Cráton do Congo-São Francisco, o qual ocupava a parte central do Gondwana Ocidental (ALMEIDA, 1977; VIEIRA, 2007).

Esta entidade foi consolidada ao final da orogênese brasileira, entre 1 bilhão e 500 milhões de anos atrás (CPRM, 2010). No município são encontradas formações do Mesoarqueno, o Complexo de Belo Horizonte, do Neoproterozoico, Grupo Bambuí com as Formações Lagoa do Jacaré, Serra de Santa Helena, e Sete Lagoas (membros Lagoa Santa e Pedro Leopoldo) e do Cenozoico, as formações superficiais, como as coberturas detrito-lateríticas e depósitos aluvionares (CPRM, 2010; BORGES *et al.*, 2013).

O MNGRM está no encontro de duas Formações do Grupo Bambuí: a Serra de Santa Helena e a Formação Sete Lagoas (Membro Lagoa Santa). A primeira é marcada pela presença de siltitos e argilitos, com modelado ondulado, colinoso e rebaixado, além de possuir vales encaixados e drenagem de padrão detrítico, por vezes condicionados por fraturas e falhas.

Já a segunda possui rochas calcárias, de cores cinza-médio a cinza-escuro, ricas em matéria orgânica, sendo seu relevo marcado pela geomorfologia cárstica tradicional, apresentando feições como sumidouros, dolinas, vales cegos, *lapiás* e cavernas (CPRM, 2010).

Figura 5 – Maciço carbonático representativo das feições cársticas encontradas no Monumento Natural Estadual Gruta Rei do Mato e entorno.



Fonte: Foto de L.E.P. Travassos

Na área (porção leste e norte) afloram rochas pelíticas da Formação Serra de Santa Helena que ocorre tipicamente na serra homônima, em Sete Lagoas.

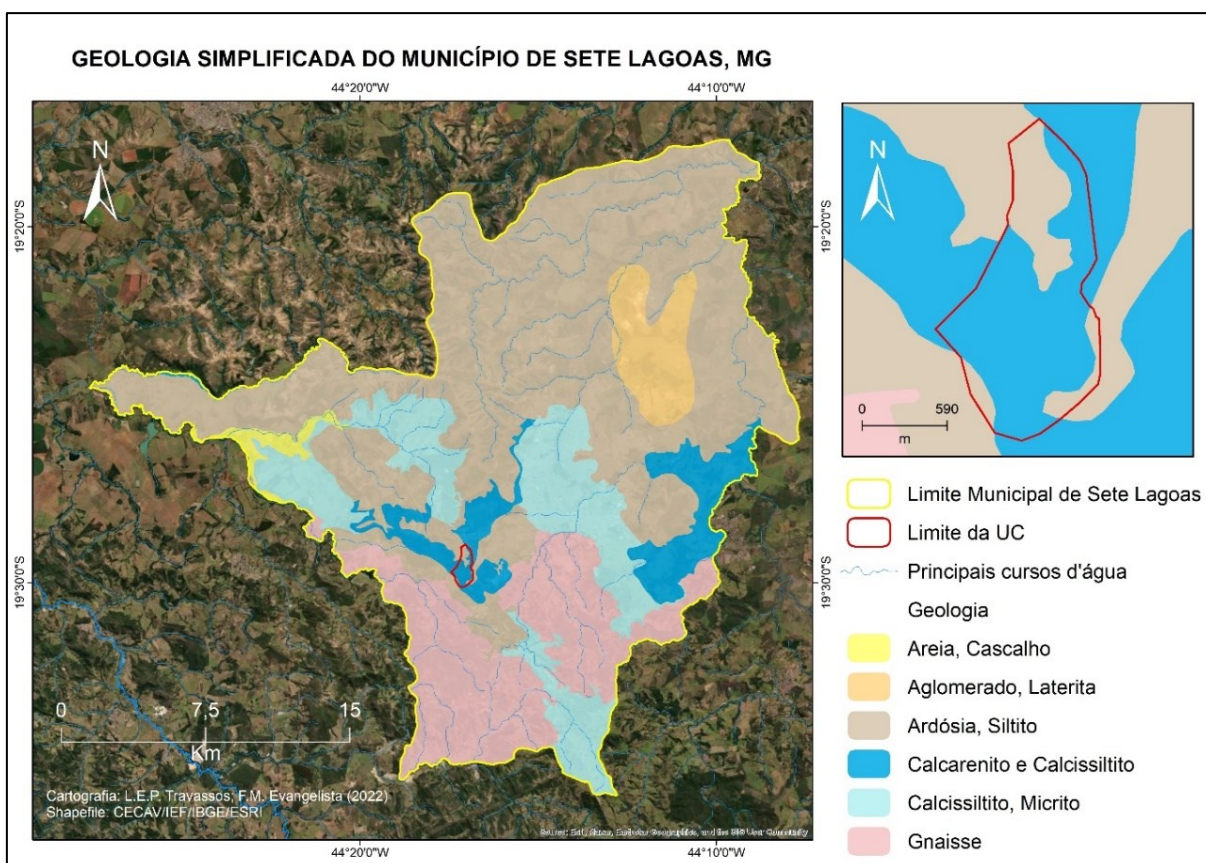
Regionalmente, constitui-se em uma grande mancha que recobre continuamente a formação subsequente (os calcários da Formação Sete Lagoas).

Constitui-se em uma litologia onde predominam litotipos de origem silicilástica (siltitos e argilitos) e, mais raramente, sedimentos carbonáticos na forma de lentes de diferentes dimensões, correspondendo a margas e calcarenitos muito finos.

Já o Membro Lagoa Santa é representado por afloramentos, principalmente na forma de maciços de grande e médios portes, nos quais se inserem as cavidades naturais.

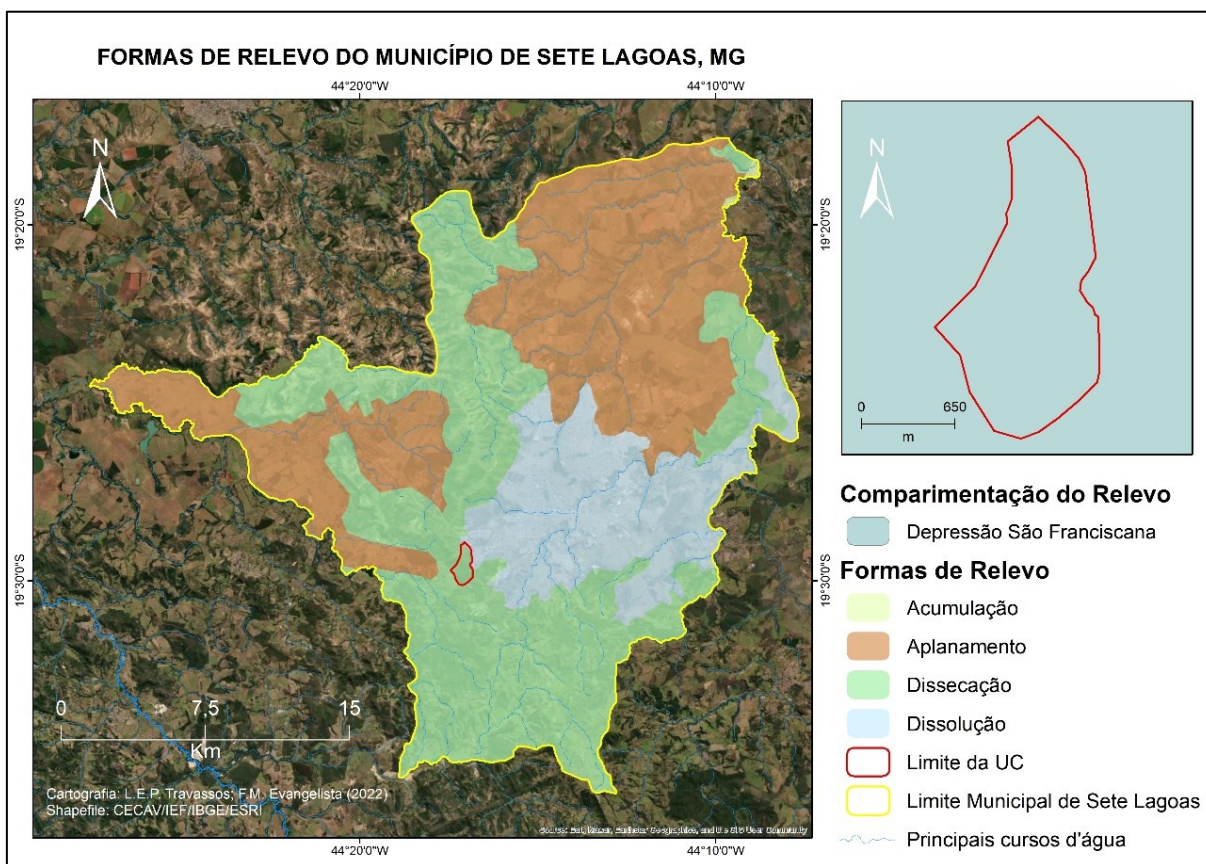
Localmente, verificam-se que os litotipos constituintes desta unidade são representados principalmente por calcarenitos, raramente calcissiltitos apresentando, via de regra, estratificação plano-paralela, sendo comuns aos níveis superiores a presença de rochas pelíticas da Formação Serra de Santa Helena.

Figura 6 – Mapa geológico simplificado da região



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 7 – Mapa geomorfológico regional



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Figura 8 - Vistas da entrada da Gruta Rei do Mato (A e B), maciço carbonático em C e local do primeiro ponto de coleta (D)

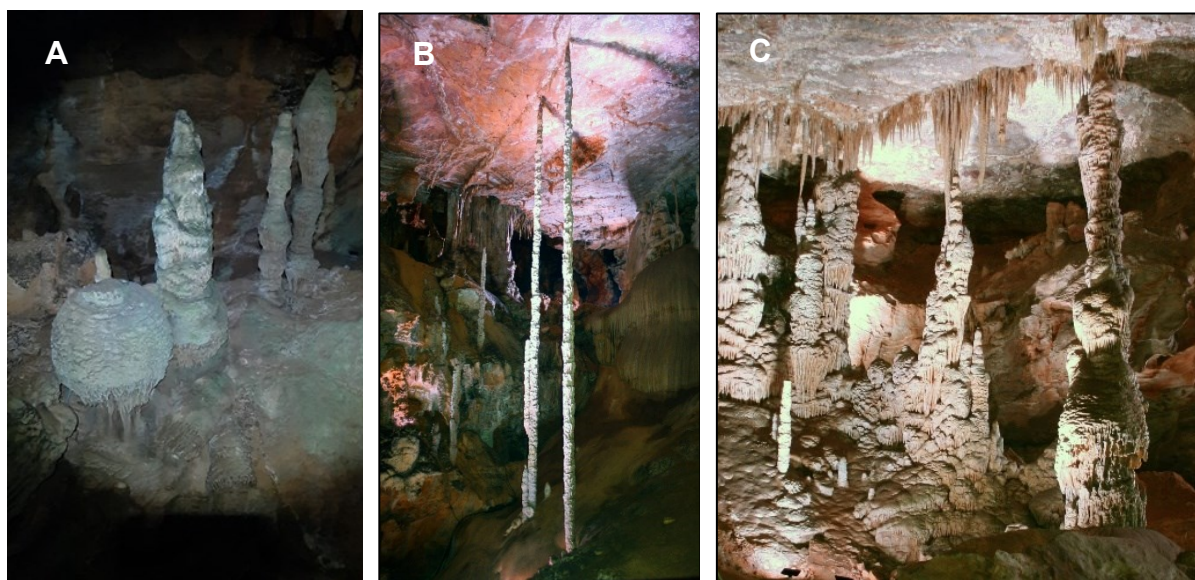


Fonte: Fotografias da autora (2020).

Do ponto de vista espeleométrico, a caverna foi cadastrada com projeção horizontal de 998 m, ocupando o 43º lugar entre as cavernas de Minas Gerais, considerando-se todas as litologias. Entretanto, não é a extensão que coloca Rei do Mato entre as principais cavernas do estado ou do país, mas as suas qualidades ambientais e paisagísticas.

Em termos espaciais a caverna é surpreendente, pois a partir da sua entrada principal, de pequenas proporções, o caminho descendente de visitação atravessa a área de desmoronamentos, mostrando salões cada vez maiores, chegando por fim ao monumental Salão principal ou das Raridades (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012, p.61), conforme demonstrado pela Figura 9.

Figura 9 – Espeleotemas da Gruta Rei do Mato, destacando-se as colunas “g meas”, de importância mundial por sua raridade.



Fonte: Foto A da autora (2020). Fotos B e C L.E.P. Travassos (2011)

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O termo *Espeleologia* se originou da união dos termos *spelaiion* (caverna, em grego) e *logos* (estudo), significando, portanto, o ramo da ciência que se destina ao estudo das cavidades naturais subterrâneas (FERREIRA, 2018).

A Espeleologia é, nesse sentido, uma ciência definida pelo direcionamento dos estudos a um local natural próprio e peculiar, sendo compreendida como uma área do saber caracterizada pela interdisciplinaridade em virtude da grande variedade de áreas científicas que desta se ocupam ou podem se ocupar, como a Geomorfologia, Geologia, Biologia, Geografia, Paleontologia, Arqueologia, dentre outras.

Assim sendo, Cant (2006) citado por Ferreira (2018), trata-se de um campo de estudo no qual diversas disciplinas são aplicáveis, dentro de um contexto específico, que é o ambiente cavernícola.

Para Travassos (2019) tem-se também a compreensão da Espeleologia como gênero no segmento de estudos que tem as cavidades naturais subterrâneas como seu objeto de análise, voltando atenções aos subterrâneos, independentemente do tipo de rocha e seus processos.

Merece destaque o fato de que, considerados os contextos históricos, a legislação relacionada às cavidades naturais subterrâneas é muito recente. A primeira menção no Ordenamento Jurídico Nacional se encontra na Constituição de 1988 (BRASIL, 1988), a qual apresenta mais um viés patrimonialista e cultural das cavidades naturais subterrâneas do que propriamente os aspectos protetivos em relação a estes espaços, conforme art. 20, inciso X e art. 225.

Foi somente em 1990 que surgiu juridicamente a primeira conceituação sobre a *cavidades naturais subterrâneas*, o que se deu por meio do Decreto 99.556, de 1º de outubro de 1990 (BRASIL, 1990):

Art. 1º: As cavidades naturais subterrâneas existentes no território nacional constituem patrimônio cultural brasileiro, e, como tal, serão preservadas e conservadas de modo a permitir estudos e pesquisas de ordem técnico-científica, bem como atividades de cunho espeleológico, étnico-cultural, turístico, recreativo e educativo.

Parágrafo único: Entende-se como cavidade natural subterrânea todo e qualquer espaço subterrâneo penetrável pelo homem, com ou sem abertura identificada, popularmente conhecido como caverna, incluindo seu ambiente, conteúdo mineral e hídrico, a fauna e a flora ali encontrados e o corpo rochoso onde os mesmos se inserem, desde que a sua formação haja ocorrido por processos naturais, independentemente de suas dimensões ou do tipo de rocha encaixante. Nesta designação estão incluídos todos os termos regionais, tais como gruta, lapa, toca, abismo, fuma e buraco.

Em 2008 houve uma série de importantes alterações no texto do Decreto 99.556/1990, o que se deu por meio do Decreto 6640/2008, tendo a limitada classificação de patrimônio cultural sido retirada e ampliado consideravelmente a importância das *cavidades naturais subterrâneas* em nível jurídico, havendo o claro reconhecimento destas para fins de pesquisa, ecológicos, turísticos, culturais, dentre outros, conforme se pode aferir abaixo:

Art. 1º: As cavidades naturais subterrâneas existentes no território nacional deverão ser protegidas, de modo a permitir estudos e pesquisas de ordem técnico-científica, bem como atividades de cunho espeleológico, étnico-cultural, turístico, recreativo e educativo.

Parágrafo único: entende-se por cavidade natural subterrânea todo e qualquer espaço subterrâneo acessível pelo ser humano, com ou sem abertura identificada, popularmente conhecida como caverna, gruta, lapa, toca, abismo, fuma ou buraco, incluindo seu ambiente, conteúdo mineral e hídrico, a fauna e a flora ali encontrados e o corpo rochoso onde os mesmos se inserem, desde que tenham sido formados por processos naturais, independentemente de suas dimensões ou tipo de rocha encaixante” (BRASIL, 2008).

Tal conceito ficou válido até muito recentemente, sendo alterado pelas disposições do Art. 1º e seu parágrafo único, do Decreto Federal 10.935, de 12 de janeiro de 2022 (BRASIL, 2022):

Art. 1º: As cavidades naturais subterrâneas existentes no território nacional deverão ser protegidas, de modo a permitir a realização de estudos e de pesquisas de ordem técnico-científica e atividades de cunho espeleológico, étnico-cultural, turístico, recreativo e educativo.

Parágrafo único: Considera-se cavidade natural subterrânea o espaço subterrâneo acessível pelo ser humano, com ou sem abertura identificada, conhecido como caverna, gruta, lapa, toca, abismo, fuma ou buraco, incluídos o seu ambiente, o conteúdo mineral e hídrico, a fauna e a flora presentes e o corpo rochoso onde se inserem, desde que tenham sido formados por processos naturais, independentemente de suas dimensões ou tipo de rocha encaixante.

De acordo com Ferreira (2019) grande parte dos desafios em relação às legislações específicas no concernente à proteção das cavernas reside no tamanho gigantesco do Brasil, com áreas de ocorrência de cavernas nos mais variados litotipos (carbonatos, formações ferríferas, siliciclastos), assim como condições climáticas e biogeográficas diferenciadas, ante uma corrente falta de estudos e informações detalhadas.

Por outro lado, existe ainda uma demanda crescente por recursos naturais ou intervenções em tais regiões, aumentando o volume de processos de licenciamento ambiental, tratando-se de situações desafiadores, pois certas decisões podem afetar

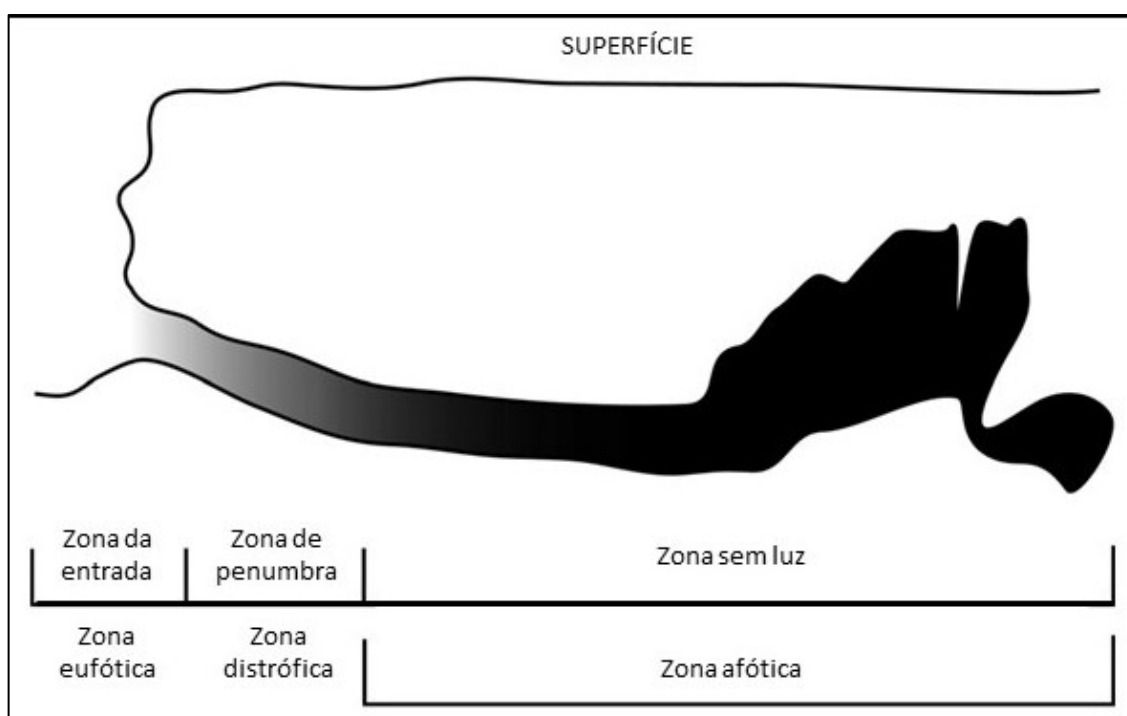
de forma definitiva e irreversível parcela importante do patrimônio espeleológico.

Atualmente, existem no Brasil mais de 15.000 cavidades naturais subterrâneas cadastradas no ICMBio/CECAV. De acordo com Auler e Zogbi (2005), existe a expectativa de que o país tenha mais de 100.000 (cem mil) cavidades naturais subterrâneas, cujas características principais destacam-se a elevada estabilidade ambiental, em função do isolamento em relação ao ambiente externo e de seus parâmetros físicos como projeção horizontal, entrada, área, volume, dentre outros. (POULSON; WHITE, 1969; CULVER, 1982), além de isolamentos em locais com ausência permanente de luz, temperatura mais constante que as externas e elevada umidade (CULVER, 1982).

Além disso, de acordo com Herrera *et al.* (1995), Poulson e Lavoie (2001) e Ferreira *et al.* (2007), nas cavernas existem baixa disponibilidade de recursos alimentares, sendo que a matéria orgânica é predominantemente alóctone, transportada pelo vento, fluxos hídricos e animais. São, portanto, ecossistemas extremos e muito limitados em nutrientes (ATAKAV; AYDIN, 2020).

Em função dos parâmetros físicos mencionados, as cavidades naturais subterrâneas podem ser divididas em zonas distintas em relação à quantidade de luz natural no ambiente (CAMACHO, 1992), conforme a Figura 10.

Figura 10 - Zoneamento das Cavidades Naturais Subterrâneas



Fonte: Adaptado de Moulds (2006).

Em função deste zoneamento, Sket (2008) e Culver e Wilkens (2000) afirmam que as cavernas possuem uma significativa diversidade de organismos, com variados níveis de dependência em relação ao *habitat* subterrâneo, variando desde espécies exclusivas do ambiente cavernícola (troglóbios) até espécies oportunistas ou ocasionais (troglófilos).

As peculiaridades do ambiente cavernícola fazem com que este se torne único para alguns grupos de seres vivos, que passaram a viver em seu interior há milhares de anos e que, em alguns casos, são tão especializados que se tornaram incapazes de viver fora das cavernas (ZAMPAULO, 2010).

Salienta-se que nos ambientes mais profundos das cavernas são encontrados fungos, algas e bactérias e até mesmo insetos que se adaptaram com o passar do tempo às pouca luz, umidades altas e temperaturas estáveis. Estes organismos são chamados de troglóbios. (TAYLOR et al., 2009) e não reúnem condições de vida fora de tais ambientais cavernícolas.

As cavernas são, portanto, ecossistemas ideais para a realização de pesquisas geológicas, geomorfológicas, biológicas e geográficas, entre outras. Além disso, para Atakav e Aydin (2020), o único e não totalmente explorado ecossistema de cavernas oferece uma excelente oportunidade para a descoberta de novos microrganismos e subprodutos biológicos como a produção de etanol, biotecnologicamente importante, além de novas enzimas, antibióticos e até tratamentos de determinados tipos de cânceres.

Além disso, os autores afirmam que as pesquisas em cavernas ajudam a encontrar respostas para perguntas não respondidas sobre o papel dos microrganismos na formação destas feições, principalmente quando se pensa na relação entre superfícies minerais e tapetes microbianos, por exemplo, bem como o efeito das atividades humanas, como o turismo e outros segmentos industriais e de transporte, que podem afetar a ecologia e atividade microbiana nas cavidades naturais subterrâneas.

2.1. A paisagem cárstica e as cavernas

De acordo com Bertrand (2004), na paisagem há a combinação dinâmica e instável de elementos físicos, biológicos e antrópicos em uma determinada porção do espaço.

As dialéticas de uns sobre os outros fazem da paisagem um conjunto único e indissociável, em perpétua evolução, sendo que, neste contexto, a caverna é o componente subterrâneo dessas paisagens conhecidas como *Carste* (SILVEIRO, 2014).

O termo **carste**, como se conhece no Brasil, em português, originou-se da forma germânica *karst*, que foi popularizada pelo trabalho pioneiro do geógrafo sérvio, Jovan Cvijić (TRAVASSOS, 2019). A paisagem cárstica carbonática possui feições distintas daquelas desenvolvidas em outros tipos de rochas, incluindo sumidouros, surgências, depressões fechadas, torres, campos de lapiás e cavernas (WHITE, 1988; LOBO *et al.*, 2007).

De acordo com Travassos (2014):

historicamente, os estudos sobre o carste tiveram início no Planalto de Kras ou no Carso, na porção oeste da Eslovênia e na região do entorno de Trieste (na Itália). O maior conhecimento internacional da região ocorre, principalmente, em função da ligação por estrada de ferro de Viena (Áustria) ao porto de Trieste, local de onde diversos naturalistas saíam da Europa para o “Novo Mundo” e outras colônias europeias. Desde então, a região conhecida como “Carste Clássico” abrigou os primeiros estudos sistemáticos sobre os fenômenos cársticos (TRAVASSOS, 2014, p. 3)

A partir dos estudos sistemáticos, surge a **Carstologia**, ciência que se ocupa dos estudos relacionados à paisagem cárstica ou os geoecossistemas cársticos. Ainda pouco conhecida no Brasil, a Carstologia ocupa lugar de destaque na Europa e nos Estados Unidos, além de ser bem desenvolvida na Ásia e Oceania.

A incipiência da Carstologia no Brasil ocorre, principalmente, devido ao fato da paisagem cárstica ter sido primeiramente estudada sob o ponto de vista da Espeleologia sem que houvesse, nos momentos iniciais, estudos interdisciplinares (TRAVASSOS, 2014; TRAVASSOS, 2019).

Assim, na Carstologia, os estudos não se restringem apenas às cavidades naturais subterrâneas e, sim, a todo o geossistema, incluindo suas áreas de influência.

Tais geossistemas são fascinantes e ricos em recursos naturais. Em muitas cavernas animais altamente especializados só habitam nesses espaços, pois são nichos ecológicos únicos.

Além disso, vestígios paleontológicos e arqueológicos são preservados nesses locais, como prova do seu uso ao longo da História. Os inúmeros artefatos e vestígios que documentam o desenvolvimento humano ao longo dos milênios

são preservados no carste, atribuindo a essa paisagem, grande valor histórico e cultural (SHERWOOD; SIMEK, 2001; PIPAN; CULVER; 2013; VARELA; TRAVASSOS, 2022).

Se Silveiro (2014) afirma que o termo Carste é empregado para descrever um tipo de paisagem caracterizado por hidrologia e formas de relevo decorrentes de processos geoquímicos e hidrológicos desenvolvidos em rochas solúveis pela ação da água ácida, tem-se a clareza de que a água é o principal agente ativo modelador do relevo, especialmente nos carbonatos.

Contudo, é importante resgatar Maruashvili (1970) citado por Andreychouk *et al.* (2009, p.36) e Travassos (2014, p. 4), que definiram a *Carstosfera* “como uma camada da crosta terrestre distribuída de forma ampla e descontínua no globo composta por rochas carstificáveis”, ou seja, a “parte da litosfera que serve como arena para o Carste” (ANDREYCHOUK *et al.*, 2009, p.36).

Tal ampliação do conceito ocorre, pois a *Carstosfera* pode incluir, além das rochas sedimentares, também as rochas metamórficas e magmáticas passíveis de desenvolver algum um tipo de carste.

Assim, nas palavras de Travassos (2014, p. 4), o carste pode ser definido de forma mais abrangente como um processo de interação entre rochas solúveis e diferentes tipos de água que resultam em feições características tanto em superfície quanto no subterrâneo. Todos esses processos físico-químicos que ocorrem no carste favorecem o desenvolvimento de um *habitat* muito vulnerável aos impactos ambientais (SILVEIRO, 2014).

Vale ressaltar que como um recurso natural peculiar e não renovável, apresenta valores biológicos, hidrológicos, mineralógicos, científicos, culturais, recreacionais e econômicos significativos.

As áreas cársticas brasileiras ocorrem em regiões de intensa produção agrícola, industrial e urbana. Tais atividades levam a uma série de intervenções ligadas à infraestrutura, como abertura de estradas, expansão das cidades e projetos de geração de energia que são extremamente danosos ao patrimônio abiótico.

Infelizmente, os debates sobre a efetiva proteção das cavidades naturais subterrâneas e suas áreas de influência somente ocorreram quando grande parte dos danos ambientais no patrimônio espeleológico já haviam sido verificados, especialmente nas regiões mais densamente ocupadas como as regiões metropolitanas de Curitiba (PR) e Belo Horizonte (MG), por exemplo.

No final de 1980 começa-se a delinear-se a legislação sobre o tema, mas, conforme expectativas de Auler e Zogbi (2005) já informadas acima, ainda não se conhece sequer uma ínfima parte do patrimônio espeleológico nacional.

Diante disso, em que pese as perdas já computadas, conclui-se que muito ainda resta a ser feito para garantir a conservação desses frágeis ambientes no atual momento e para o futuro, até porque as cavernas talvez representem a manifestação mais expressiva da evolução natural de determinadas paisagens, como as cársticas (FERREIRA, 2019).

Noutro sentido, releva também destacar que é muito comum, nos textos sobre Geomorfologia Cárstica ou Espeleologia, a divisão do carste em dois compartimentos principais: o *exocarste* (conjunto de feições superficiais) e o *endocarste* (conjunto das feições do subterrâneo), além de uma zona de transição conhecida como *epicarste* (TRAVASSOS, 2010), sendo que foi na porção do endocarste que esta pesquisa se desenvolveu, no intuito de se conhecer um pouco da *microbiota* do Monumento.

No endocarste, Travassos (2019) afirma que a falta de luz solar é outra diferença importante na comparação com a atmosfera externa, pois o movimento do ar tende a ser mais linear ao longo dos condutos, as correntes de convecção verticais tendem a ser limitadas a espaços mais amplos e a umidade relativa do ar se apresenta quase sempre próxima a 100% ou com valores muito altos, fato que pode condicionar a existência de colônias de microrganismos.

Por fim, no que diz respeito a Espeleologia e a Carstologia, de acordo com Travassos (2019), considera-se a Carstologia como sendo o campo do conhecimento dedicado à integração dos estudos desenvolvidos no carste e a Espeleologia como sendo o campo de estudo que se limita mais aos subterrâneos e seus processos, embora seja possível perceber a estreita relação existente entre essas áreas, pois se pode considerar, como já destacado, as cavernas como mais um componente da complexa paisagem cárstica.

2.2. Impactos do turismo ao ambiente cavernícola

Em diversas partes do mundo as cavernas são exploradas turisticamente, sendo certo que tal fato inevitavelmente ocasiona impactos positivos e negativos.

Em alguns países, a economia é significativamente complementada pela atividade espeleoturística, fazendo com que a atividade se torne bastante importante

para a economia local (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012).

Tal situação leva à construção de edificações para o atendimento das mais diversas necessidades dos visitantes e a instalação de passarelas, escadas e luminárias no interior das cavernas que, na maioria dos casos, é prejudicial aos ecossistemas das cavernas.

Em geral e especialmente nas cavernas turísticas mais antigas, a maioria das luminárias são aquelas unidades que emitem calor, alteram a umidade e causam alterações nos espeleotemas. Assim sendo, a iluminação artificial ameaça a vida de macros e de microrganismos das cavernas (AYDIN; YUCEER, 2019).

Considerando o uso de cavernas para visitação, Palmer (2007 *apud* FERREIRA, 2019) comenta que grande parte dos processos que se desenvolvem em seu interior ocorrem de forma lenta e quando perturbados podem nunca se recuperar.

Algumas formações minerais, como tipos raros de espeleotemas, podem ser facilmente quebrados por um leve toque. Devido ao sensível balanço energético os *habitats* de vida subterrânea são facilmente alterados.

Em nível de Brasil, os principais impactos observados, resultantes da visitação às cavernas brasileiras são: quebra de espeleotemas, danos a feições frágeis por pisoteamento, disposição de resíduos e dejetos humanos, pichações, contaminação microbiológica e perturbação da fauna carvenícola.

Estudos atuais evidenciam que o turismo interfere na comunidade microbiana nos ambientes cavernícolas. Estas pesquisas revelam que visitas turísticas acabam por ocasionar um aporte de matéria orgânica, suportando o crescimento de bactérias e fungos exógenos ao ambiente subterrâneo, eliminando espécies nativas e reduzindo a biodiversidade (PULIDO-BOSH *et al.*, 1997).

O conhecimento sobre o mundo microbiano em geral é limitado e o conhecimento da diversidade microbiana de cavernas é ainda mais limitado (VANDERWOLF *et al.*, 2013)

Nos países mais desenvolvidos, para que os impactos negativos sejam mitigados e se consiga manter a preservação de cavernas, assim como, a geração de renda, são instituídos controles específicos e, se necessário, podem ocorrer fechamentos totais de cavernas ou interdições parciais de determinados salões e condutos (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012).

A exploração responsável das cavernas exige uma série de considerações para evitar danos irreparáveis ao ecossistema, além de uma administração voltada para a

preservação, conservação, manutenção do patrimônio e uma oferta de serviços de qualidade que satisfaça as expectativas dos visitantes.

Os atributos cênicos que compõem algumas cavernas, como as imponentes entradas e salões internos, os lagos e corredeiras subterrâneas, bem como a beleza das formações rochosas e dos espeleotemas, junto à melhoria na acessibilidade e prestação de serviços estão impulsionando o aumento do fluxo de visitantes e do número de pessoas interessadas em conhecer e vivenciar o denominado *espeleoturismo* (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012, p. 32).

Assim, mesmo que não de maneira intencional e sem que haja trabalhos voltados para a mitigação dos impactos, a realidade é que o turismo em cavernas pode provocar grandes impactos aos seus ambientes internos e externos, podendo alterar significativamente seu equilíbrio. Tais impactos serão tão maiores quanto menos preparadas forem as estruturas de apoio e atividades no entorno.

É o caso, por exemplo, de limpezas que por vezes são realizadas com o emprego de produtos químicos inapropriados, como por exemplo, peróxido de hidrogênio, os quais podem alterar significativamente o meio biótico, alterando, por via de consequência, a biodiversidade e, subsequentemente, produzir surto indesejável de bactérias e fungos estranhos àquele ambiente (TRAJANO, 2000; JURADO, 2009), eliminando outros que outrora as habitavam.

Para que se tenha uma exploração responsável das cavernas se faz necessária a implementação de uma série de considerações e atos preparatórios, visando ao evitar de danos e impactos irreparáveis ao ecossistema, além de uma administração voltada para a preservação, conservação e manutenção do patrimônio, e da oferta de serviços de qualidade que satisfaçam as expectativas dos visitantes (PLANO DE MANEJO DO MNEGRM, 2012).

Já do ponto de vista ecológico, as cavernas abrigam comunidades importantes, como as de morcegos, que ambientalmente realizam ações essenciais, como polinização, dispersão de sementes e controle de insetos (FERREIRA, 2019).

Algumas cavernas representam potenciais abrigos a espécies ameaçadas de extinção ou até mesmo *habitat* de espécies só encontradas neste ambiente.

De acordo com a Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção, do Ministério do Meio Ambiente (Portaria MMA nº 444, de 17 de dezembro de 2014), são contadas ao menos 109 espécies que se abrigam em cavernas em categorias distintas de risco, sendo 80 delas restritas a ambientes subterrâneos

(troglóbios). Das espécies troglóbias 39 são classificadas como criticamente ameaçadas de extinção (FERREIRA, 2019).

Atualmente, no Brasil, existem Leis e Decretos que protegem as cavernas de impactos ambientais e supressões, sendo que a partir do Decreto 6.640/2008 (BRASIL, 2008), se fez necessária a classificação das cavidades como de *máxima, alta, média e baixa relevâncias* (art. 2º). Tais classificações têm grande importância em relação à possibilidade de se impactar cavidades, inclusive podendo ou não autorizar supressões, sendo que as cavidades classificadas como máxima relevância não podem ser objeto de impactos ambientais irreversíveis enquanto as demais podem ser objeto de tais impactos, mediante licenciamentos ambientais, nos termos dos artigos 3º e 4º, do Decreto ora em comento.

É verdade que o Decreto 10.935/2022 (BRASIL, 2022) previa significativa alteração nas disposições do Decreto 6.640/2008 (BRASIL, 2008), mas tais medidas, que se encontram contidas nos artigos 4º e 6º, do novo Decreto, foram suspensas, no dia 24/01/2022, por Decisão Judicial liminar monocrática assinada pelo Ministro Ricardo Lewandowski, do Supremo Tribunal Federal, nos Autos da Arguição de Descumprimento de Preceito Fundamental (ADPF) de nº 935, prevalecendo, portanto, os regramentos previstos no Decreto anterior.

Feitas tais considerações, as cavidades naturais subterrâneas, comumente conhecidas como cavernas, lapas, furnas, grutas, dentre outras denominações, possuem grande representatividade no Brasil, embora, como já informado, o número de feições efetivamente cadastradas nas bases de dados oficiais (CANIE/CECAV e CNC/SBE) ainda seja reduzido, estimando-se uma subnotificação que pode ultrapassar a casa das dezenas de milhares cavidades não cadastradas, levando-se em consideração as características favoráveis pra tanto encontradas em todo o território brasileiro.

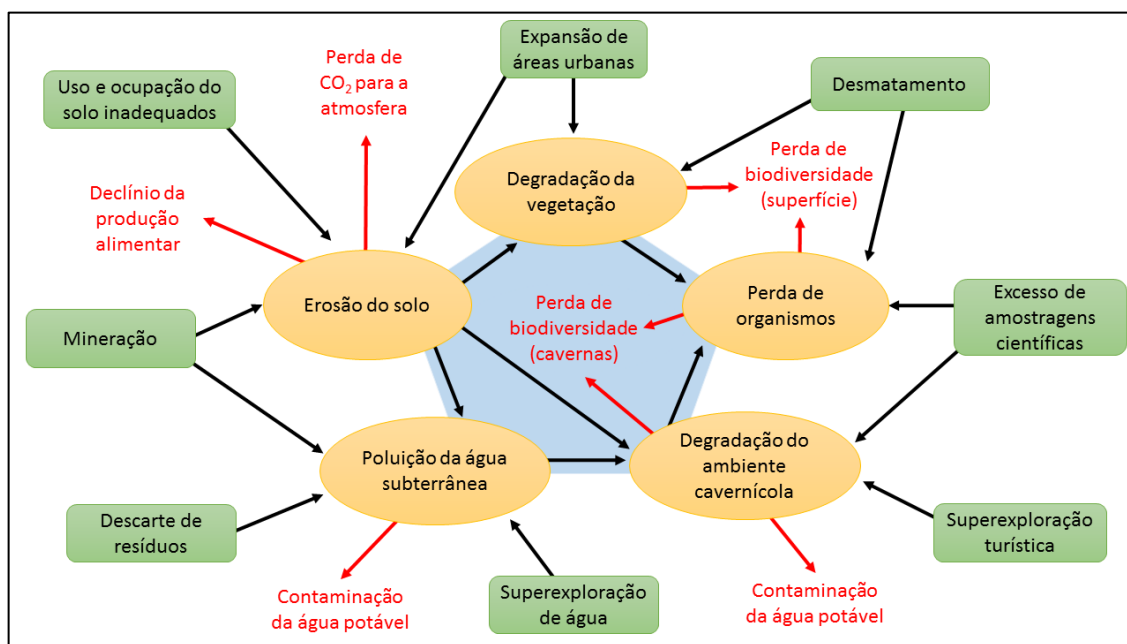
Também por tais razões, assim como no restante no mundo, também no Brasil existe um grande interesse em relação às cavernas naturais subterrâneas, o que inclui os advindos do turismo, com visitas que podem alterar, por exemplo, a dinâmica microbiológica das cavernas.

Alt e Moura (2021) pontuam que as cavidades naturais são ambientes frágeis e sensíveis, formados por elementos de um sistema ambiental complexo, abrigando muitas vezes atributos insubstituíveis e altamente vulneráveis a alterações antrópicas.

Dentre estes elementos podemos citar espeleotemas frágeis, fauna altamente

especializada, vestígios arqueológicos e paleontológicos, dentre outros, o quais podem acabar destruídos ou irreversivelmente danificados ou impactados com ações desde as mais simples, como o caminhar sobre estes atributos, até outras interferências externas, nas áreas de entorno, como mineração, rodovias, ferrovias, agronegócio, dentre outros (Figura 11).

Figura 11 - Esquema de impactos interligados que afetam o carste e os ecossistemas cavernícolas



Fonte: Elaborado por Varela e Travassos (2021) com base em Goldscheider (2012) e Forti (2013)

Por tais razões, a exploração de cavernas e as pesquisas científicas se tornam ferramentas importantes para o conhecimento e a conservação das cavidades naturais subterrâneas e suas áreas de influência, enquanto a falta de planejamento e visitas desordenadas e sem os prévios estudos ambientais, aliados à falta de controles, podem causar danos, até mesmo irreversíveis, a estes ambientes.

2.3. Microrganismos cavernícolas e a biotecnologia

As cavernas são vistas como aberturas naturais grandes o suficiente para permitir a entrada de humanos e são formadas em muitos tipos de rocha e por muitos processos. No entanto, ao considerar as cavernas como espaços de vida, o tamanho da caverna é muitas vezes menos importante do que o tamanho de seus habitantes.

Como sabido, a maioria dos organismos das cavernas tem alguns poucos

milímetros ou até menos e podem colonizar qualquer vazio de tamanho maior do que ele, especialmente onde não há luz e as condições ambientais são relativamente constantes ao longo do ano (MOLDOVAN *et al.*, 2018).

De acordo com Hershey *et al.* (2018), dados os muitos tipos de cavernas e, portanto, uma infinidade de condições ambientais, é difícil descrever uma diversidade microbiana amplamente relevante, pois as condições variadas das cavernas oferecem oportunidades para selecionar uma infinidade de adaptações e, daí, a diversidade da comunidade, incluindo microrganismos.

Repisa-se, ainda, que as cavernas possuem características singulares, sendo que algumas dessas possuem ecossistemas se notabilizam pela escassez de nutrientes, o que estimula os microrganismos a se adaptarem ao local por novas vias metabólicas. (PAULA, 2014).

Ainda assim, apesar desta desvantagem as cavernas representam um ambiente importante para estudar ecologia microbiana, principalmente devido às adaptações da comunidade à limitação de recursos.

Além disso, a falta de atividade fotossintética em cavernas exige que os microrganismos confiem na quebra heterotrófica de carbono orgânico alóctone escasso ou crescimento autotrófico, utilizando compostos ativos redox *in situ*.

Algumas cavernas, incluindo sistemas sulfídicos, são dominadas por produção primária quimiolitotrófica, mas tais sistemas são relativamente raros. Em cavernas epigênicas, que são as mais comuns, os nutrientes que entram no ecossistema são derivados da superfície, mas ainda são limitados; o carbono orgânico alóctone é entregue pela água subterrânea da zona vadosa e geralmente medida abaixo de 0,5 mg/L. Isso coloca os ambientes cavernícolas no espectro oligotrófico (<2,0 mg/L) dos sistemas de energia (HERSHEY *et al.*, 2018).

Salienta-se que a presença dos microrganismos é importante para o ecossistema cavernícola, pois podem servir de nutriente, controlar o crescimento de insetos. Argumenta-se ainda à relevância do valor destes microrganismos para o processo de espelogênese, processo que forma os espeleotemas. (RODRIGUES, 2009). Os microrganismos são seres vivos microscópicos, invisíveis a olho nu e que possuem uma importância significativa em vários aspectos para existência da vida do planeta.

Microrganismo compreende uma definição taxonômica que congrega grupos variados de organismos unicelulares microscópicos, que vivem na natureza como

células isoladas ou em agregados celulares.

Esta definição congrega os grupos bactérias, arqueas, fungos, protozoários e vírus. A diversidade microbiana, considerando-se os parâmetros de diversidade de espécies e diversidade genética, suplanta, em algumas ordens de magnitude, a diversidade existente em todos os demais grupos de seres vivos (MANFIO, 2003).

Os microrganismos se fazem presentes praticamente em todos os lugares e possuem uma capacidade singular de sobreviver em condições extremas. Devido à sua relativa simplicidade morfológica e grande diversidade genética e metabólica, os microrganismos se adaptaram evolutivamente para viver em *habitats* e condições diversas no planeta, como baixas concentrações de nutrientes e baixa atividade de água (e.g., fungos xerófilos em ambientes desérticos); extremos de temperatura, salinidade, pH e pressão, como nas regiões polares (RAVENSCHLAG *et al.*, 1999); em fontes geotermiais (BARNS *et al.*, 1994); lagos alcalinos, ambientes abissais marinhos (KATO *et al.*, 1997); subsolo (GHIORSE; WILSON, 1988; BALKWILL *et al.*, 1997; CHANDLER *et al.*, 1998); no interior de rochas subterrâneas (PEDERSEN *et al.*, 1996); e, em depósitos de petróleo (ORPHAN *et al.*, 2000); (MANFIO, 2003).

Microrganismos onipresentes têm a capacidade de habitar diversos lugares. As necessidades e condições para que possam se desenvolver variam entre espécies, sendo que para se viabilizar as bactérias necessitam da convergência de diversos fatores, tais como tipos e disponibilidades nutrientes, ambientes, pressão osmótica, pH, dentre outros (VIEIRA; FERNANDES, 2012).

O meio cavernícola possui um ecossistema particular quase que único, com características singulares, meio restrito à luz, com temperaturas instáveis na porta de entrada que se tornam estáveis quando se adentra na caverna.

Algumas possuem piscinas de águas cristalinas, que contribuem para que haja umidade relativa do ar alta.

Com relação à fonte de energia, apresenta poucos nutrientes, o que torna o meio cavernícola único e diferenciado para os microrganismos. Trata-se, portanto, de ambiente que possui pouca fonte de energia conduz o ecossistema local a evoluir para conseguir sobreviver, desenvolvendo uma fauna e flora adaptadas (GANEM, 2009).

Dados os muitos tipos de cavernas e, portanto, uma infinidade de ambientes e condições, é difícil descrever uma diversidade microbiana amplamente prevalente, sendo que condições de cavernas variadas oferecem oportunidades para selecionar uma infinidade de adaptações e daí a diversidade das comunidades (HERSHY;

BARTON, 2018).

Pouco é conhecido sobre a distribuição, dinâmica populacional e bioquímica dos microrganismos em cavernas e, em cavernas tropicais, como as encontradas no Brasil, esse conhecimento ainda é mais incipiente (VANDERWOLF *et al.*, 2013).

Dadas as capacidades e singularidades de adaptações a ambientes extremos, as cavernas podem ser consideradas oligotróficas, com diferentes intensidades de luz e que proporcionam nichos ecológicos com grande grau de especialização, sendo que ainda pouco se sabe sobre a distribuição dinâmica populacional e bioquímica dos microrganismos das cavernas e grutas (GERIC *et al.*, 2004; NORTHUP; LAVOIE, 2004).

A biodiversidade das cavernas é composta por microrganismos transitórios, que são carregados pelo ar, pelas águas ou levados por animais para o interior das cavidades, e pelos microrganismos residentes, os quais, diferentemente dos transitórios, são os que vivem neste ambiente com pouca luz, pouco nutriente e se encontram adaptados aos ambientes cavernícolas (PAULA, 2014).

Nesse sentido, os microrganismos presentes nas cavernas podem ser classificados como residentes e transientes (Northup *et al.*, 2004). Os transientes são aqueles levados para as cavernas em correntes de ar, em fluxos da água, em insetos e normalmente sobrevivem onde a matéria orgânica é abundante e disponível. Os microrganismos residentes ocorrem como habitantes nativos de uma caverna.

Os microrganismos, fungos e/ou bactérias, podem ser encontrados em várias partes do meio ambiente cavernícola, tanto na Zona de entrada, Zona de penumbra ou na Zona afótica. Estes microrganismos podem estar no filme de água que se forma na superfície das rochas e nos espeleotemas, formando o que se denomina biofilmes (RODRIGUES *et al.*, 2009).

Os canais subterrâneos podem servir de fontes energéticas de compostos inorgânicos para microrganismos que adaptam e ativas novas vias metabólicas (PAULA, 2014).

Diversos tipos de ambiente podem servir de abrigo para fungos. Subterrâneos de cavernas possuem um ambiente “favorável” para o crescimento microbiano com alta umidade do ar, temperatura estável e compostos orgânicos e inorgânicos (FERNANDES, 2009).

Para o crescimento de fungos alguns fatores são essenciais, sendo eles temperatura, pH, água, quantidade de substrato ideal e oxigênio. Outros fatores

importantes que devem ser respeitados para o desenvolvimento dos fungos são presença de luz, áreas afóticas, pressão osmótica e níveis de CO₂ (dióxido de carbono) (TAYLOR, 2009).

Outro ponto relevante é que as cavernas possuem características singulares, salientando-se que um ecossistema com escassez de nutriente estimula os microrganismos a se adaptarem ao local por novas vias metabólicas (PAULA, 2014).

Algumas espécies são capazes de utilizar rapidamente os nutrientes disponíveis e fontes de energia, proporcionando uma vantagem competitiva que lhes permitem se tornarem dominantes em determinado ecossistema (HERSHY; BARTON, 2018).

A nutrição das bactérias podem ser divididas em dois grupos: os fototróficos (precisam de luz) é quimiotróficos (não precisam de luz para crescer e utilizam matérias inorgânicas como fonte de energia); cada grupo com suas exigências para desenvolver (VIEIRA, FERNANDES, 2012).

Os conhecimentos dos microrganismos que vivem em ambientes cavernícolas necessitam de mais estudos e pesquisas, mas, acredita-se, que microrganismos adaptados a locais diferenciados, como as cavernas, podem desenvolver novas rotas metabólicas para garantir a sua sobrevivência (RODRIGUES *et al.*, 2009).

Qualquer que seja a verdadeira diversidade de fungos em cavernas, é provável que eles desempenhem um papel significativo nos processos ecossistêmicos, merecendo relevância o fato de que os fungos foram descritos em ambientes de cavernas intocadas, descartando a ideia de que sejam contaminantes introduzidos, salientando-se, ainda, as descobertas de evidências de que desempenham papéis importantes nas alterações químicas minerais (HERSHY; BARTON, 2018).

Nesse sentido, torna-se muito importante e necessário conhecer a biodiversidade da caverna, para entender os microrganismos que as habitam, compreender as rotas metabólicas, podendo ainda, descobrir e compreender os potenciais biotecnológicos de microrganismos que desenvolvem novas vias metabólicas (RODRIGUES, 2009), o que tem causado um incremento no interesse de tais estudos.

Apesar desse interesse crescente, ainda existem várias barreiras que precisam ser superadas por novos pesquisadores, as quais incluem desde dificuldades de acesso e realização de pesquisas no ambiente desafiador das cavernas e limitações técnicas campo, até outras dificuldades, em nível científico, como as limitações

técnicas de se trabalhar com amostras de baixa biomassa (HERSEY; BARTON, 2018).

As limitações de acesso a cavernas podem ser superadas entrando em contato com espeleólogos locais, que muitas vezes têm as melhores informações sobre cavernas apropriadas para acesso e podem até ajudar a identificar *habitats* para pesquisa. Entretanto, trabalhar com amostras de baixa biomassa continua sendo um desafio, particularmente no que diz respeito à prevenção de contaminação, extração de DNA e baixa concentração de DNA níveis de modelo (BARTON *et al.* 2006).

Durante várias décadas pesquisadores concentraram seus esforços no desenvolvimento de métodos para detecção, isolamento e cultivo de microrganismos em condições de laboratório, sendo que os protocolos de cultivo asséptico desenvolvidos por Koch (1883) influenciaram de maneira decisiva o desenvolvimento da microbiologia até os dias de hoje (MANFIO, 2003).

Segundo a ONU, “biotecnologia significa qualquer aplicação tecnológica que utilize sistemas biológicos, organismos vivos, ou seus derivados para fabricar ou modificar produtos ou processos para utilização específica.” (ONU, Convenção de Biodiversidade 1992, art. 2º).

Sendo assim, a Biotecnologia é o termo utilizado para qualquer técnica que utilize microrganismos, partes destes ou substâncias por estes geradas para desenvolver estudos e produtos que possam melhorar a vida das pessoas ou do meio ambiente em geral.

Para que isso aconteça, várias técnicas são empregadas, sejam da própria biologia com os próprios microrganismos, seja com as engenharias ou demais disciplinas.

As principais áreas de aplicação da biotecnologia são: indústria de alimentos, indústria farmacêutica, agricultura, bioenergia, bioinformática, eletrônica, indústria química, meio-ambiente, pecuária, saúde (humana e animal), dentre outras.

Por sua versatilidade e importância, a partir do Século XX, a biotecnologia se despontou de forma exponencial e sua evolução tem ocorrido em um processo bem acelerado.

Esse avanço e interesse acaba por despertar estudos também em ambientes remotos e singulares, como as cavidades naturais subterrâneas, que podem abrigar microrganismos em condições extremas, até então ainda não identificados, e que em muito, se acredita, podem contribuir para avanços em diversas áreas do saber

humano.

Assim, os microrganismos de ambientes subterrâneos necessitam de mais estudos, havendo a necessidade de se buscar novos conhecimentos, os quais advirão de pesquisas que possam revelar novas linhagens de interesse biotecnológico (TAYLOR, 2009).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local e Ponto de Exposição das placas com meio de cultura

A primeira campanha teve as coletas realizadas nos dias 22/09/2020, enquanto a segunda e última campanha de coletas se deu no dia 16/03/2022, após reabertura da gruta para o turismo.

A escolha da Gruta Rei do Mato teve por fundamento suas características e seus atributos, mas também a possibilidade de se obter amostras tanto de áreas mais impactadas quanto de áreas menos impactadas pela ação antrópica.

Outro critério foi sua extensão e seu desenvolvimento, tratando-se também de uma cavidade aberta ao turismo e próxima a uma das principais rodovias de Minas Gerais, sendo relevante a análise dos impactos que ação do turismo, assim como de parte dos impactos que podem ter sido causados pela proximidade com rodovia, bem como aqueles que ainda poderão vir a serem causados à caverna e, conseqüentemente, aos microrganismos ali existentes.

Durante os estudos da Gruta, esta teve seu fechamento determinado em março de 2020, devido a Pandemia de COVID 19, e teve sua reabertura em maio de 2021, seguindo as recomendações sanitárias.

Dessa forma, pode-se analisar possíveis impactos do turismo e da diminuição e do incremento das atividades econômicas (circulação de veículos em geral) na atividade dos microrganismos em dois momentos diferentes.

Além disso, a primeira coleta se deu ao final do período relacionado às estações mais secas do ano, enquanto a segunda coleta se deu ao final do período chuvoso, o que também poderia repercutir nos resultados.

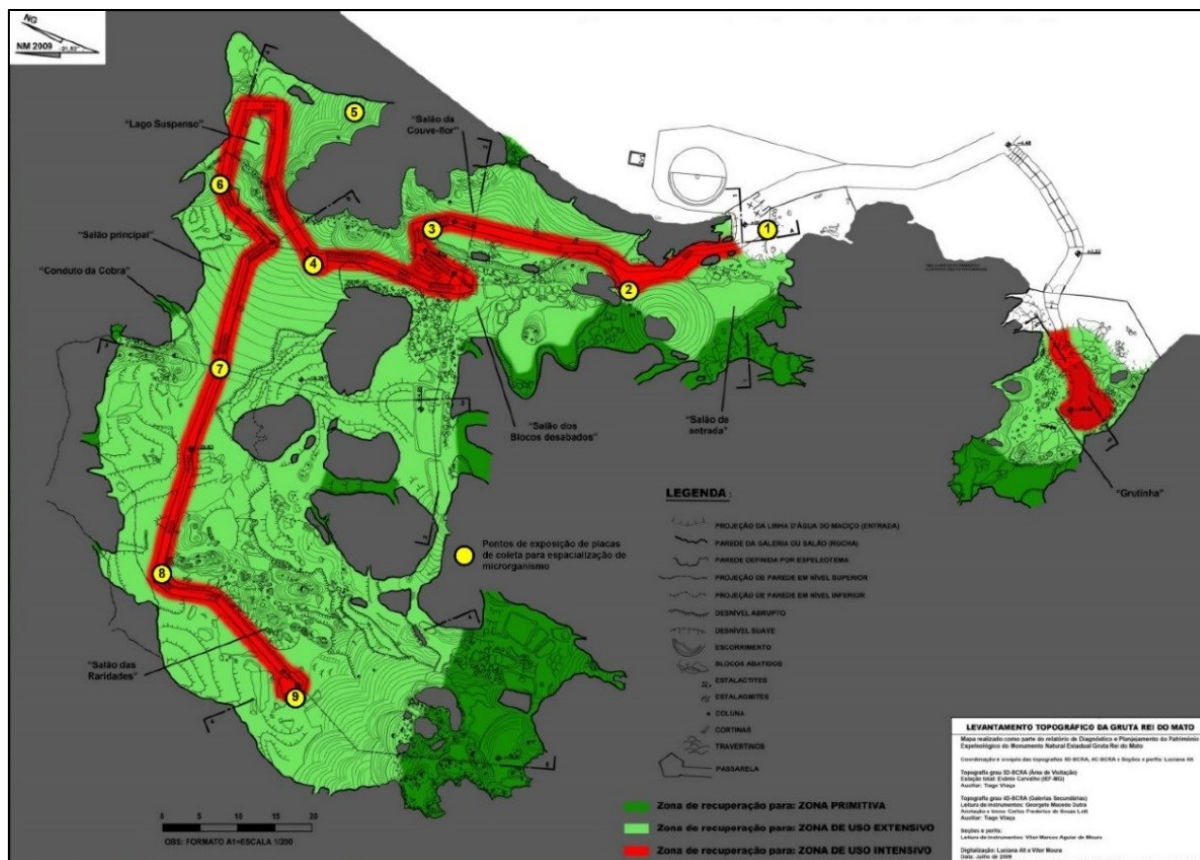
Vale ressaltar que as coletas foram precedidas de licenças específicas de autorização de pesquisa expedidas pelo ICMBio (ANEXO I) e IEF (ANEXO II) e apresentadas à diretoria do Parque, para que houvessem as permissões para as realizações dos trabalhos de campo.

Para pesquisa de campo, os pontos de amostragem foram pré-definidos e um mapa de controle de pontos de amostragem devidamente elaborado (Figura 12).

Como critério para a escolha dos pontos de coleta, levou-se em consideração os salões com maior exposição de turistas e os pontos mais remotos, nos quais há proibição de visitação por turistas.

Além desses pontos internos da Gruta Rei do Mato, foi também definido 01 (um) ponto na área externa da entrada da cavidade, para um comparativo da espacialização externa com a interna da Gruta.

Figura 12 – Pontos de amostragem na Gruta Rei do Mato



Fonte: Adaptado de PLANO DE MANEJO DO MNEGRM (2012)

As placas de Petri com os meios de cultura selecionados foram pré-identificadas com os pontos definidos de acordo com a Figura 13 e identificadas na Tabela 1.

As placas foram expostas, como pode ser observado nas Figuras 14 e 15, durante o tempo de 20 minutos, sendo que, ao final desse tempo, as mesmas foram tampadas e lacradas com fita adesiva, bem como acondicionadas em caixa térmica para manter controle de temperatura, até que pudessem ser incubadas em laboratório.

Vale ressaltar que o método adotado foi o de sedimentação em placa. Os pontos escolhidos foram os mesmos monitorados nas primeira e segunda campanhas, realizadas, como já informado, em 22/09/2020 e em 16/03/2022.

Figura 13 - Exposição de placas de petri para coleta de microrganismos aerea externa a entrada da Gruta Rei do Mato



Fonte: Fotografia de L.E.P. Travassos (2020)

Tabela 1–Pontos de coleta da pesquisa

Ponto	Identificação local da Gruta Rei do Mato
01	Área externa da entrada da Gruta do Rei do Mato
02	Interno na entrada da Gruta, próximo a passarela
03	Salão da Couve Flor. Afastado da passarela.
04	Próximo ao “Lago da Serpente” Afastado da passarela
05	Próximo ao Lago da Serpente, passarela
06	Piso da passarela salão principal
07	Conduto remoto entre Salão das raridades e conduto da cobra
08	Salão das raridades próximo a passarela
09	Salão das raridades, final da Gruta, proibido acesso de turistas

Fonte: Elaborada pela autora (2021)

Tabela 2 – Os meios de cultura utilizados para a pesquisa

MEIO DE CULTURA	MICRORGANISMO SELETIVO	TEMPO DE INCUBAÇÃO/DIAS	TEMPERATURA (°C)
Agar Manitol Salt	<i>Staphylococcus aureus</i>	02	35+/- 2 °C
MYP Agar B Cereus	<i>Bacillus cereus</i>	02	35+/- 2 °C
Agar Cetrimide	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	03	35+/- 2 °C
Agar Sabourand D	<i>Fungos e leveduras</i>	07	25+/- 2 °C
Agar Plate Count	Contagem total de microrganismos	03	35+/- 2 °C

Fonte: Elaborada pela autora

Figura 14 -Exposição de placas de Petri para coleta de microrganismos na área interna Gruta Rei do Mato



Fonte: Fotografia da autora e de L.E.P. Travassos (2020)

3.2. Os Meios de cultura

Para a sedimentação em placa dos microrganismos, foram selecionados meios de culturas seletivos, de acordo com microrganismos previamente definidos, os quais são comumente presentes no ar e no solo.

Os meios de cultura adquiridos foram do laboratório **Laborclin** e se encontram listados na Tabela 2, salientando-se que meios seletivos são aqueles cujas características impedem o crescimento de certos microrganismos, permitindo apenas o crescimento de outros (ALTERTHUM, 2020).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após seguir o tempo de incubação determinado pelo fabricante para cada meio de cultura específico e com auxílio do Contador de Colônias Mecânico CP 602 Phoenix (Figura 15), foi realizada a contagem microbiológica de cada placa exposta (Figura 16), levando-se em conta os dois períodos diferentes de coletas.

O aparelho CP 602 é indicado para contagem rápida de colônias de bactérias ou fungos em placas de Petri de até 120 mm de diâmetro.

Apresenta ótimas condições de iluminação e visibilidade, obtidas através de uma lâmpada circular fluorescente de 22 W e lupa de aumento de 1,5 vezes com haste flexível.

Possibilita contagem em placas abertas ou fechadas por meio de sistema mecânico. A bacia de sustentação da placa de Petri é estampada em acrílico transparente e quadriculado que permite maior facilidade na contagem do número de colônias da cultura.

Figura 15 - Lupa Phoenix CP 602



Fonte: A) Catálogo Merse®; B) Fotografia da autora (2021)

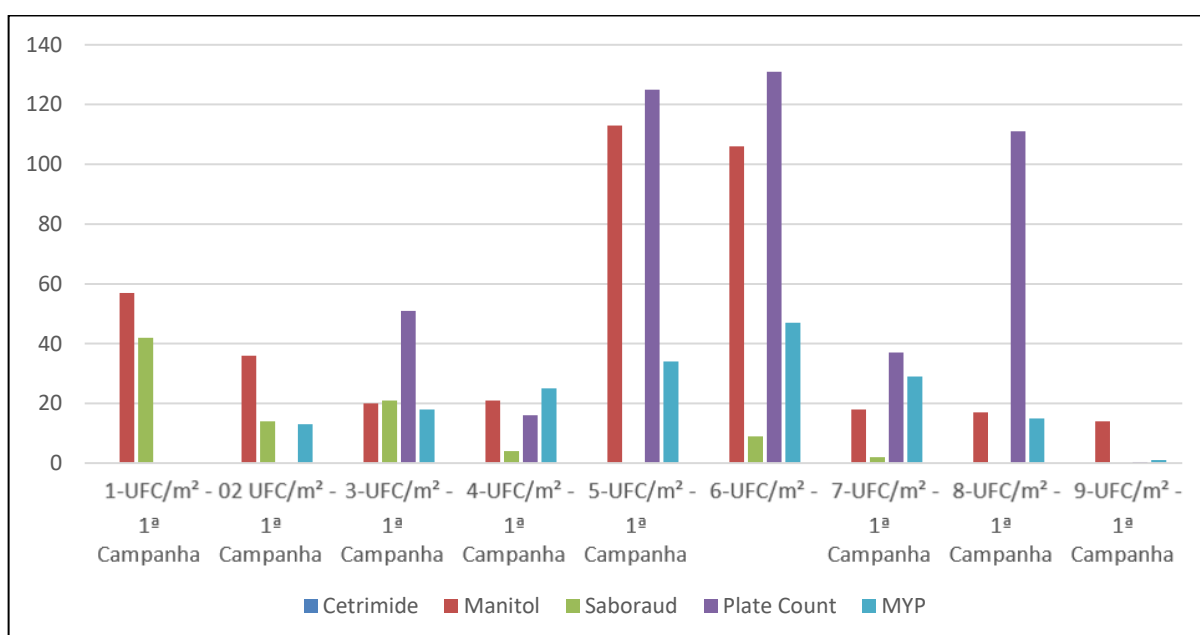
Nas Figuras 16 e 17 e no gráfico 01 e 02 observam-se os crescimentos observados nas placas de meios de cultura seletivos por ponto amostrado: .

Tabela 3 – Contagem dos Microrganismos da 1ª Campanha

Meio de Cultura	01 UFC/m ²	02 UFC/m ²	03 UFC/m ²	04 UFC/m ²	05 UFC/m ²	06 UFC/m ²	07 UFC/m ²	08 UFC/m ²	09 UFC/m ²
Cetrimide	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC
Manitol	0,57x 10 ²	0,36x 10 ²	0,20x 10 ²	0,21x 10 ²	1,13x10 ²	1,06x 10 ²	0,18x 10 ²	0,17x10 ²	0,14x10 ²
Saboraud	0,42x 10 ²	0,14x 10 ²	0,21x 10 ²	0,04x10 ²	INC	0,09x10 ²	0,02x10 ²	NHC	NHC
Plate Count	INC	INC	0,51x10 ²	0,16x 10 ²	1,25x 10 ²	1,31x10 ²	0,37x10 ²	1,11x10 ²	0,42x10 ²
MYP	INC	0,13x10 ²	0,18x10 ²	0,25x10 ²	0,34x10 ²	0,47x10 ²	0,29x10 ²	0,15x10 ²	0,01x10 ²

NHC: Não Houve Contagem de microrganismo; INC: Incontáveis.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 16 – Crescimento dos microrganismo por meio seletivo 1ª Campanha

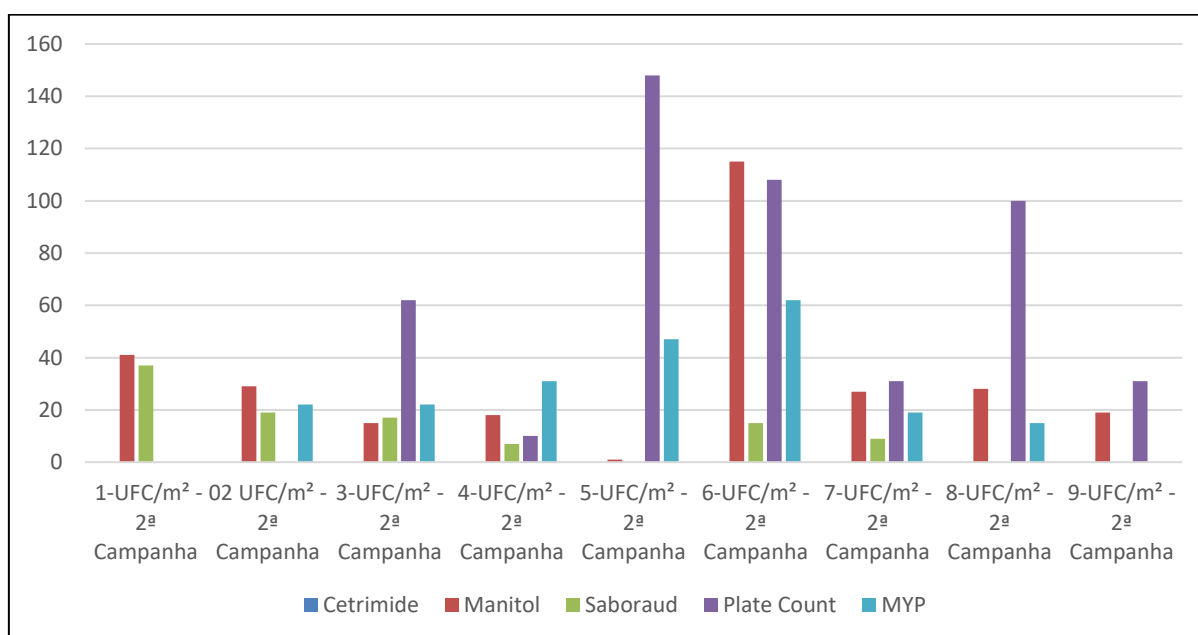
Fonte: Dados da Pesquisa

Tabela 4 – Contagem dos Microrganismos 2ª Campanha

Meio de Cultura	01 UFC/m ²	02 UFC/m ²	03 UFC/m ²	04 UFC/m ²	05 UFC/m ²	06 UFC/m ²	07 UFC/m ²	08 UFC/m ²	09 UFC/m ²
Cetrimide	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC	NHC
Manitol	0,41x 10 ²	0,29x 10 ²	0,15x 10 ²	0,18x 10 ²	1,x 10 ²	1,15x 10 ²	0,27x 10 ²	0,28x 10 ²	0,19x10 ²
Saboraud	0,37x 10 ²	0,19x 10 ²	0,17x 10 ²	0,07x10 ²	INC	0,15x10 ²	0,09x10 ²	NHC	NHC
Plate Count	INC	INC	0,62x10 ²	0,10x 10 ²	1,48x10 ²	1,08x10 ²	0,31x10 ²	1,00x10 ²	0,31x10 ²
MYP	INC	0,22x10 ²	0,22x10 ²	0,31x10 ²	0,47x10 ²	0,62x10 ²	0,19x10 ²	0,15x10 ²	NHC

NHC: Não Houve Contagem de microrganismo; INC: Incontáveis.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 17 – Crescimento dos microrganismo por meio seletivo 2ª Campanha

Fonte: Dados da Pesquisa

É importante considerar que na primeira campanha de campo para a coleta das amostras, realizada em 22/09/2020, a Gruta Rei do Mato se encontrava fechada ao turismo, desde março de 2020, devido às medidas de combate à disseminação do Novo Coronavírus.

Assim, tem-se um intervalo sem visitas de 06 (seis) meses até a data da primeira campanha, destacando-se, ainda, que tal campanha foi realizada ao final do período de clima tradicionalmente seco do ano, em nível climatológico.

Dessa forma, as interferências da umidade externa e antrópica na cavidade diminuíram consideravelmente no período, sendo que, especialmente no tocante ao fechamento para o turismo, se acreditava, poderia ter acarretado alterações na ecologia da caverna, principalmente no que diz respeito à introdução de microrganismos que não lhe são naturais.

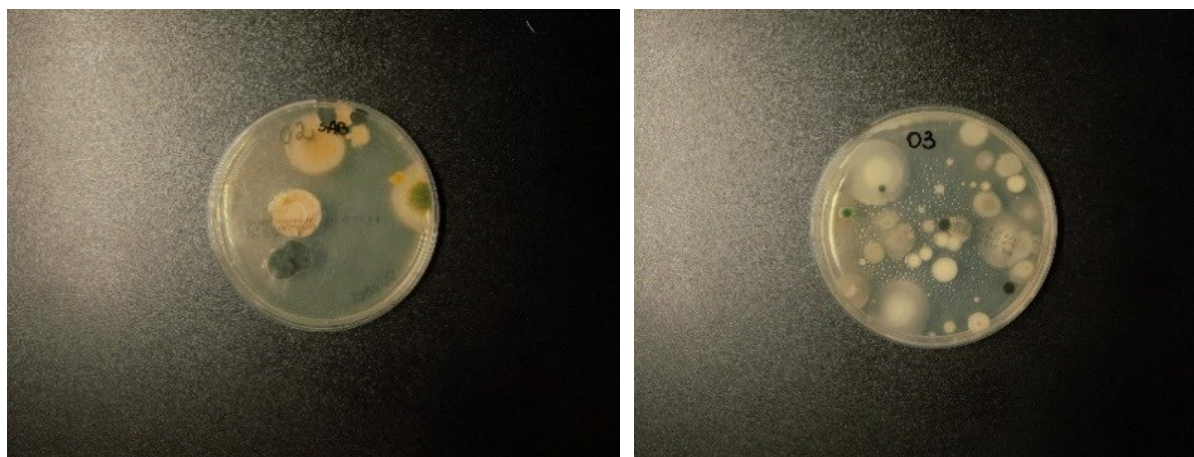
Esse período de seis meses sem visitas foi importante, já que se obteve um conjunto de informações relevantes da cavidade para o confronto com os dados obtidos a partir das coletas realizadas na segunda campanha, ocorrida em 16/03/2022, já ao final da estação chuvosa e após 10 (dez) meses da reabertura da Gruta Rei do Mato para as visitas turísticas.

Ressalta-se que, em virtude da COVID-19, o retorno das visitas se deu de modo controlado, havendo, até o momento da realização da segunda campanha, a limitação de acesso a grupos de 20 (vinte) pessoas, uso obrigatório de máscaras e sanitização com álcool 70%, o que também pode servir para maior proteção do meio ambiente da caverna em questão e de algum modo interferir nos resultados, sendo que esta última situação não pode ser efetivamente comprovada, haja vista a inexistência de coletas antes do fechamento decorrente das medidas sanitárias para mitigação da disseminação da COVID-19.

Feitas as considerações acima, passa-se aos resultados das coletas e suas análises, iniciando-se pelo meio de cultura Cetrimide, seletivo e diferencial para *Pseudomonas aeruginosa*.

Tal meio de cultura não apresentou crescimento de microrganismos em nenhum dos 09 (nove) pontos de coletas amostrados nas duas campanhas realizadas, pelo que se conclui que o fechamento da Gruta Rei do Mato e sua reabertura, não influenciaram no comportamento para crescimento do microrganismo em questão (Figura 18).

Figura 18 - Placas de meio de cultura com microrganismo



Fonte: Fotografia da autora (2021)

Já o Meio de cultura Manitol, seletivo para *Staphylococcus aureus*, apresentou crescimento em placas nas duas campanhas e para todos os 09 (nove) pontos amostrados, não variando significativamente a contagem total destes em relação a cada campanha, mantendo-se, portanto, o resultado equilibrado, conforme figura (Figura 19), merecendo relevo o fato de que os pontos 01, 02, 05, 06 e 08, acessíveis aos turistas, foram os que mais se destacaram quanto ao crescimento do microrganismo em comento.

Figura 19 - Placas de meio de cultura sem contagem de microrganismo



Fonte: Fotografias da autora (2021)

Também é digno de nota que o *Staphylococcus aureus* é comum na microbiota humana, sendo muito presente principalmente no trato respiratório e pele, tratando-se

de microrganismo causador de patogenias, as mais comuns ligadas à pele e ao trato respiratório.

Com isso, pode-se afirmar que o microrganismo ora em análise se encontra presente em toda a extensão e desenvolvimento da cavidade, mesmo nos locais inacessíveis aos turistas, em que pese em menores quantidades.

No que se relaciona ao Meio de Cultura Sabouraud, seletivo para fungos (filamentosos ou leveduras), o que se constatou foi que, dentre os pontos acessíveis aos turistas, apenas no ponto 08 é que não houve crescimento de microrganismos, enquanto nos demais (pontos 01, 02, 05, 06 e 07) se verificaram contagens de microrganismos.

Merece destaques o fato de que, no ponto 05, em ambas as campanhas houve crescimento muito elevado de microrganismos, o que tornou inviável a contagem total em placa, conforme Figura 20.

Já nos pontos restritos ao acesso de turistas (pontos 03, 04 e 07) restaram também constatados os crescimentos de microrganismos, sendo que apenas no ponto 09 tal situação não se verificou, o que foi observado igualmente nas 02 (duas) campanhas realizadas.

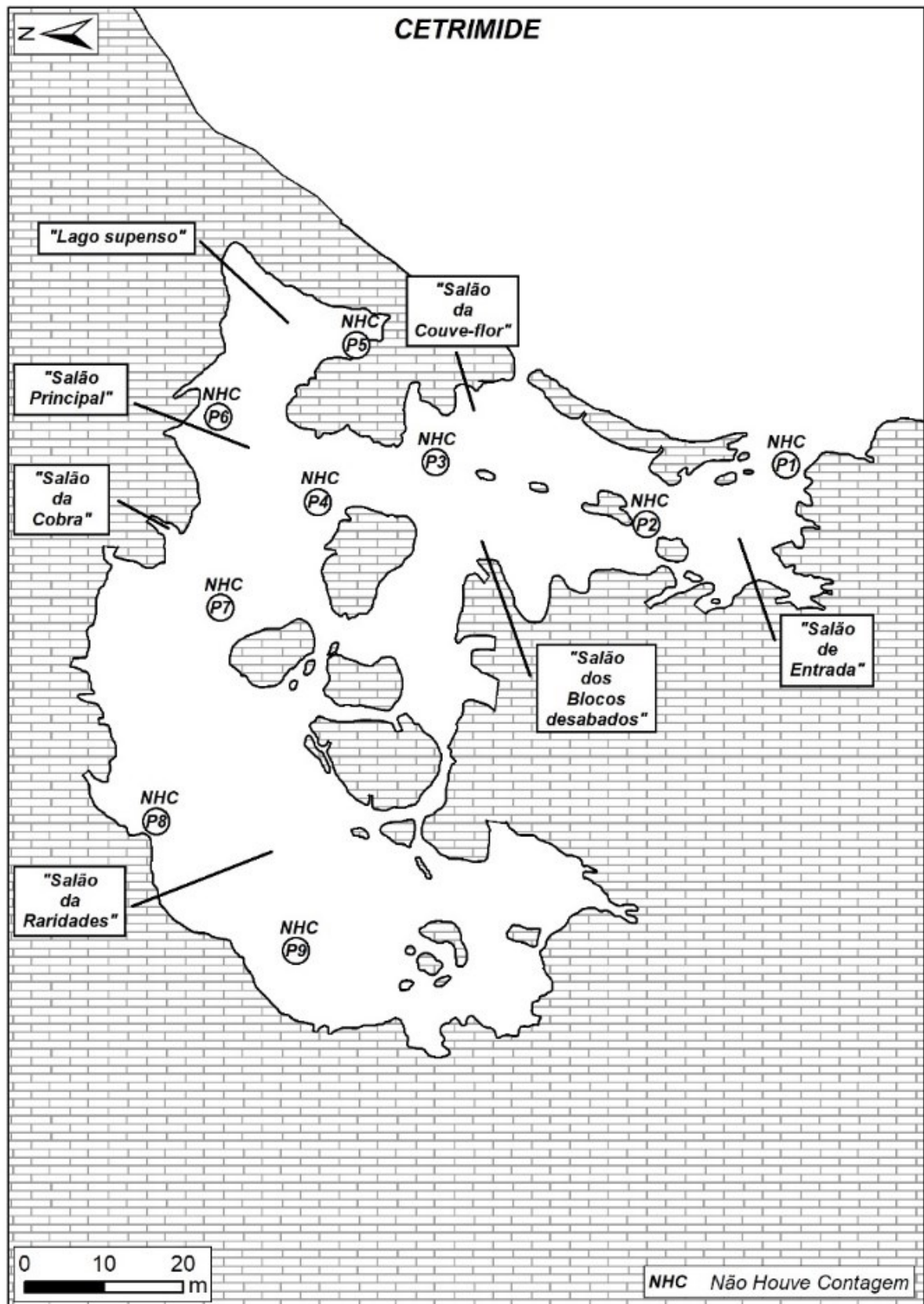
Interessante relatar a variedade de morfotipos dos fungos presentes nas placas, o que destaca a diversidade destes presentes ao longo de toda Gruta (Figura 21).

No tocante ao meio de cultura MYP, seletivo para *Bacillus Cereus*, observaram-se também resultados equilibrados nas duas campanhas, não apresentando pontos de atenção quanto aos crescimentos de microrganismos entre as ambas.

No ponto 01, que é a área de entorno/entrada da Gruta, o crescimento foi abundante impossibilitando a contagem total de microrganismo nas duas campanhas (Figura 22). Vale ressaltar que este microrganismo em questão, é comum ao solo e apresenta formas patogênicas ao ser humano.

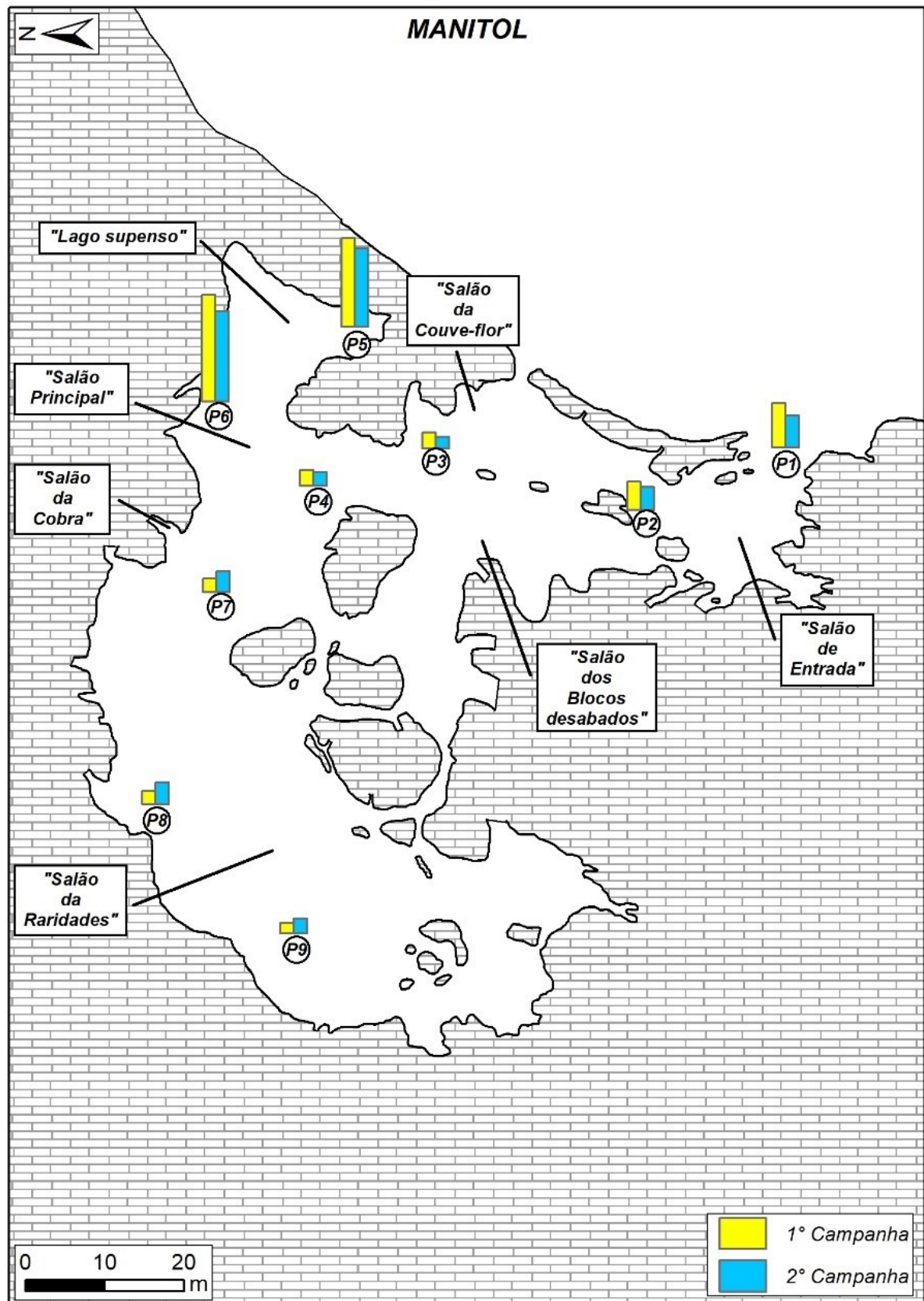
Por fim, o meio de cultura Plate Count que é destinado à contagem total e microrganismos sem seletividade, também se obteve resultados equilibrados entre as duas campanhas realizadas (Figura 23).

Figura 20 - Análise quantitativa meio de cultura Cetrimide



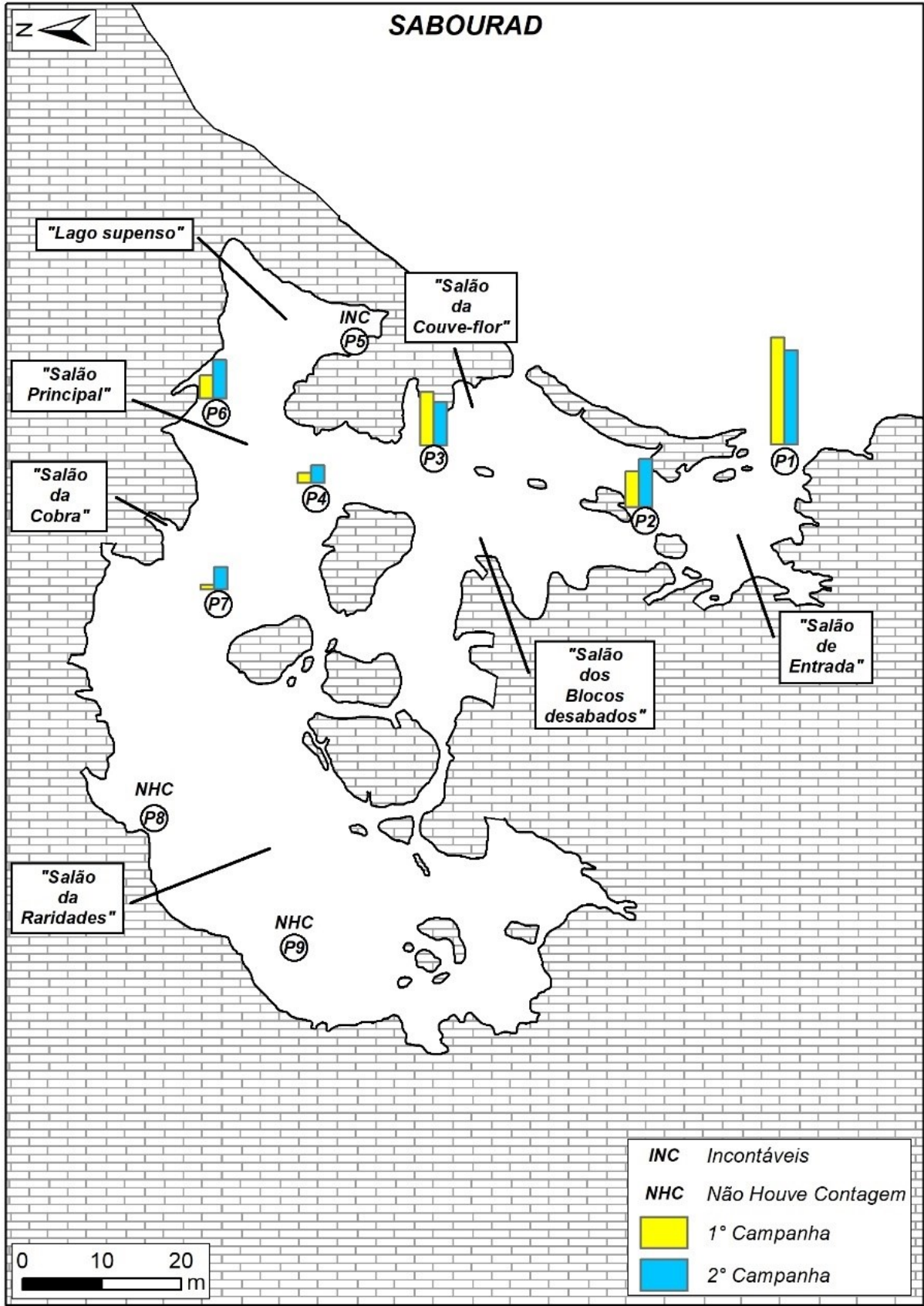
Fonte: Ativo Ambiental, 2022

Figura 21 - Análise quantitativa meio de cultura Manitol



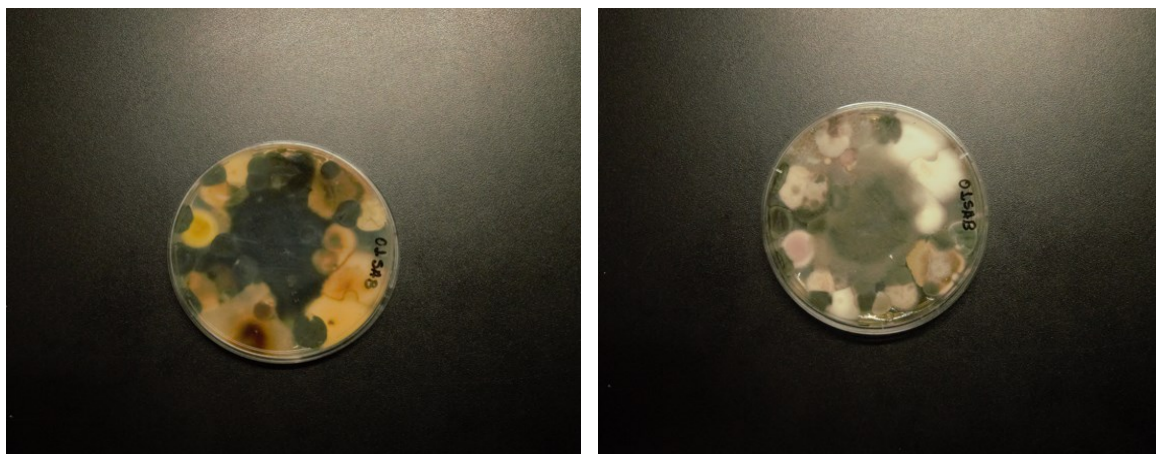
Fonte: Ativo Ambiental, 2022

Figura 22 - Análise quantitativa meio de cultura Sabourad



Fonte: Ativo Ambiental, 2022

Figura 23 - Placas de meio de cultura com microrganismo

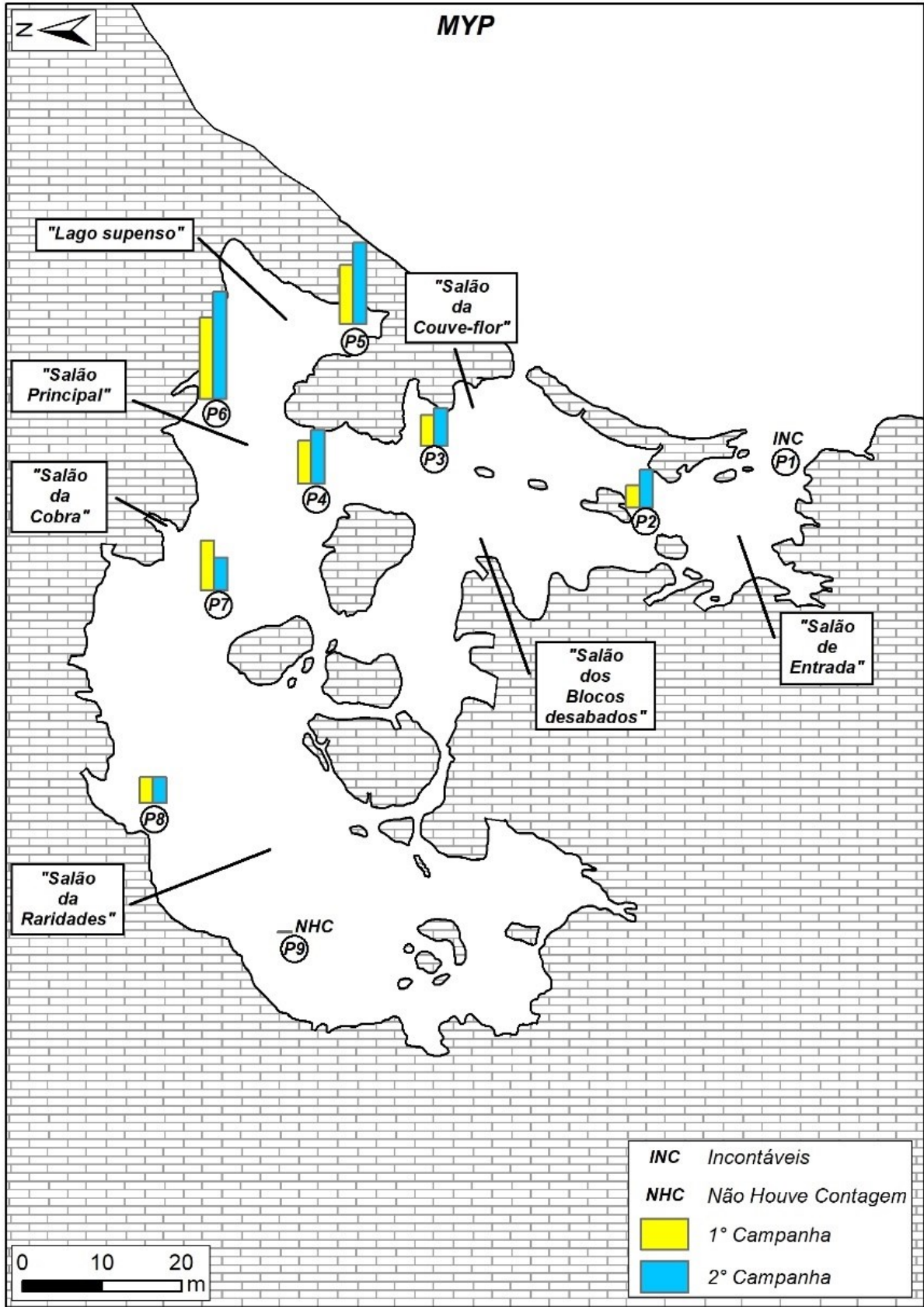


Fonte: Fotografia da autora (2021)

Ressalta-se que tal meio de cultura, quando coletado junto aos pontos que obtiveram maior contagem de microrganismos especificados anteriormente, foi também o que apresentou maior contagem total de microrganismos, o que conduz à conclusão de que as cargas (presenças) de microrganismos naqueles pontos específicos se encontravam mais elevadas, independentemente do tipo de microrganismo coletado.

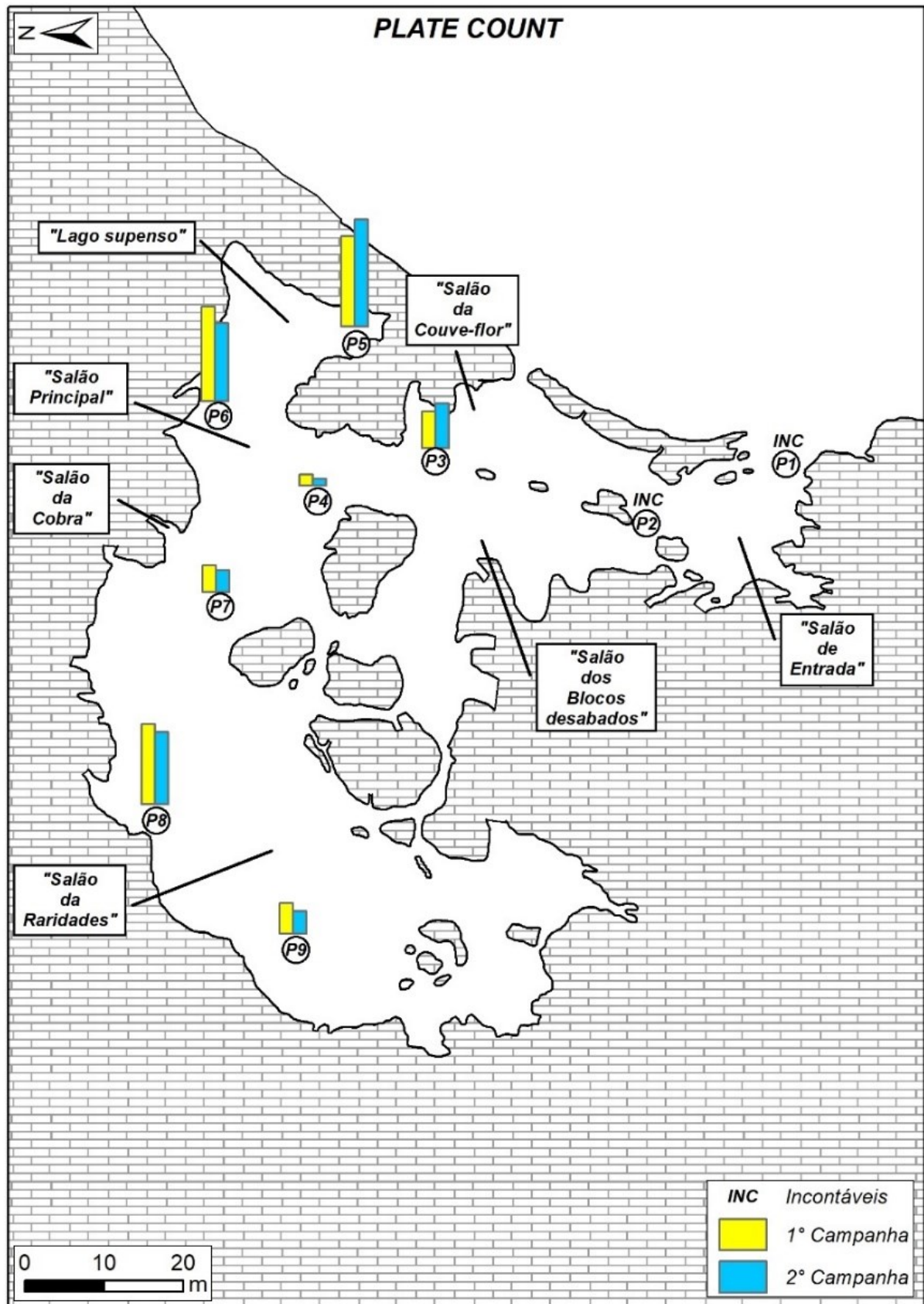
Considerando os pontos de amostragem mais próximos à passarela e aos salões, nos quais se tem maior tempo de parada dos turistas para apreciação das estruturas internas da Gruta, se infere que estes foram os pontos que tiveram maior contagem de microrganismos nas duas campanhas, enquanto os mais distantes de tais locais e sem acesso aos turistas se revelaram como os de menores contagens de microrganismos nas duas campanhas.

Figura 24 - Análise quantitativa meio de cultura MYP



Fonte: Ativo Ambiental, 2022

Figura 25 - Análise quantitativa meio de cultura Plate Count



Fonte: Ativo Ambiental, 2022

A partir das informações acima, o que se infere é que, de forma geral, a análise e espacialização dos microrganismos se encontram com dados que revelam relativo equilíbrio, variando de acordo com desenvolvimento da Gruta e da proximidade dos pontos de maior ação antrópica, sem, contudo, se notar a presença de diferenças significativas entre os resultados das 02 (duas) campanhas, mesmo se considerando as estações seca e úmida em que foram realizadas e, especialmente, os momentos com e sem a presença humana no local, o que, inicialmente, poderia induzir a uma apressada conclusão de que deveria haver influência maior.

Todavia, comparando os resultados da primeira e segunda campanhas, se percebe uma discreta contagem maior de microrganismo nos pontos de visita dos turistas, principalmente, nos pontos de maior tempo de parada destes, para apreciação dos atributos da Gruta, sendo dignos de notas os pontos 05, 07 e 08, embora pouco relevantes as alterações nos resultados.

Não se pode olvidar que o uso obrigatório de máscara facial com recobrimento integral de boca e nariz, bem como a utilização também obrigatória de álcool 70% para sanitização das mãos, aliadas à limitação de número de pessoas que podem ingressar na Gruta a cada excursão, pode ter exercido influência nos resultados alcançados, impedindo tanto a introdução de novos microrganismos quanto o aumento e/ou diminuição das quantidades de microrganismos.

Isso se deve ao fato de que a máscara auxilia na contenção de partículas da respiração, que possuem microrganismos, assim como o álcool 70% ocasiona a eliminação de grande percentagem de microrganismos presente nas mãos, fatores estes que, aliados à limitação do número de pessoas a cada grupo que ingressa na cavidade, podem estar relacionadas com os resultados encontrados.

E, independentemente dos protocolos adotados por força das medidas de combate ao Novo Coronavírus, há também o fator há muito conhecido, que é exatamente a estabilidade do ambiente cavernícola, tão afirmada nos tópicos anteriores, a qual decerto também exerceu sua influência nos resultados acima alcançados.

Dessa forma, analisando os resultados, percebe-se que existe ao longo do desenvolvimento da Gruta Rei do Mato uma espacialização de microrganismos diversos, com presença marcante principalmente nos pontos de acesso dos turistas quando comparados aos pontos remotos, nos quais não há permissão de acesso a estes.

5. CONCLUSÕES

Em nível conclusivo e conforme articulado neste estudo, o ambiente endógeno, formado pelas cavidades naturais subterrâneas, apresenta singularidades quando comparado ao ambiente epígeo, sendo muito significativas e importantes as diferenças em nível de características químicas, físicas e biológicas, o que faz despertar interesses para fins de pesquisas, especialmente em se tratando de microbiologia voltada à biotecnologia.

Dentro dos objetivos propostos, a pesquisa foi realizada visando à obtenção de informações sobre quais microrganismos e como se dá a distribuição e crescimento destes ao longo do desenvolvimento da Gruta Rei do Mato, em Sete Lagoas, Minas Gerais em duas campanhas, considerando o fechamento da Gruta Rei do Mato devido a COVID 19, sua reabertura e considerando a sazonalidade diferente.

Ao analisar os resultados de contagem microbiológica nas duas campanhas, concluiu-se que, a uma, a estabilidade do ambiente cavernícola contribui para discretas alterações em relação à quantidade dos tipos de microrganismos pesquisados que habitam a Gruta Rei do Mato.

A duas, restou constatado, pelo menos no período em que vigoram normas rígidas e acesso à cavidade, que fatores como a maior umidade do período sazonal em que foi realizada a segunda coleta e o retorno à visita controlada podem ser as causas do discreto aumento da contagem total destes em suas distribuições, o que revela que restaram afetados os comportamentos dos microrganismos focos deste estudo, ainda que, repisa-se, discretamente.

Além disso, a presença dos microrganismos pode se relacionar à colonização desses ali fixado durante anos, o que pode ter causado um relativo equilíbrio dentro das condições ecológicas do ambiente em questão.

Quanto a discreta variação de crescimento após a abertura da Gruta Rei do Mato a visita ou as limitações impostas para o acesso à cavidade, como já afirmado, pode ter promovido o controle do crescimento das populações de tais microrganismos.

Assim, neste caso, não foi possível determinar que a presença humana afetou o equilíbrio na biodiversidade e o comportamento do crescimento dos microrganismos na Gruta Rei do Mato, de acordo com os dados obtidos nos períodos analisados,

consideradas as duas campanhas.

Além disso, restou também comprovado que há no local a presença de microrganismos que tornam o ambiente patogênico, cabendo a adoção de orientações e cuidados em nível de segurança àqueles que efetivamente frequentam o local, para fins de turismo, trabalho ou estudos, o que pode ser estendido para cuidados a serem adotados também em outras cavidades.

Importante ressaltar, que no decreto vigente para classificação das cavernas brasileiras, não se observa nenhum tipo de exigência de estudo microbiano, em que pese a informação de modo generalista que servem às pesquisas científicas em geral.

Porém, como exposto ao logo do estudo, os microrganismos de cavernas são fundamentais na dinâmica destes *habitats*, assim como são grandes potenciais biotecnológicos, sendo que a realização de estudos prévios em níveis microbiológicos, podem trazer respostas sobre a singularidade ou não daquele ambiente, sendo importante também na classificação de seu grau de relevância.

Por fim, os estudos voltados para microbiologia de cavidades ainda são recentes, mas começam a revelar sua importância e a avançar cada vez mais, principalmente os voltados aos segmentos da medicina e da indústria farmacêutica, havendo grande esperança de que possam haver descobertas nessas áreas.

REFERÊNCIAS

- ALT, LUCIANA., MOURA, VITOR. MYLÉNE. 1998. Conduta de Mínimo Impacto ao Visitar Cavernas. **Boletim Eletrônico da Sociedade Brasileira de Espeleologia**. Ano 16 - nº 416 – Fevereiro de 2021.
- AMANN, R.I.; LUDWIG, W. ; SCHLEIFER, K.H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews**, v.59, p.143-169, 1995.
- ARAUJO, H. R.; LOBO, H.A.S.; TRAVASSOS, L.E.P. Evaluation of private participation in the implementation and management of the ecotourism in the Cavernas do Peruaçu National Park, Brazil. **Acta Carsologica**, v. 48, p. 341-352, 2019.
- AULER, A.S. Hydrogeological and hydrochemical characterization of the Matozinhos-Pedro Leopoldo Karst, Brazil. Western Kentucky, 1994, 110p. (**Master of Science, Faculty of the Department of Geography and Geology**).
- AULER, A.S., PILÓ, L.B., SAADI, A. Ambientes Cársticos. In: **O Quaternário do Brasil**. SOUZA C. R. de GOUVEIA, SUGUIO K., OLIVEIRA A. M. dos SANTOS & OLIVEIRA P. E. de (Eds), Holos Editora, Ribeirao Preto, 2005.
- AULER, A.S; PILÓ, L.B; SAADI, A. **Ambientes Cársticos**. In: Souza, C. 2005.
- AULER, A; ZOGBI, L. Espeleologia: Noções Básicas. São Paulo - **RedeSpéleo Brasil**, 2005;
- BARTON, H. A. Introduction to cave microbiology: a review for the non-specialist. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 68, n. 2, 2006, p. 43-54.
- BARTON, H. A.; JURADO, V. What's Up Down There? Microbial Diversity in Caves. **Microbe**, v. 2, n. 3, 2007, p. 132-138.
- BERBERT-BORN, M. Carste de Lagoa Santa, MG - Berço da paleontologia e da espeleologia brasileira. In: SCHOBENHAUS, C.; CAMPOS, D.A.; QUEIROZ, E.T.; WINGE, M.; BERBERT-BORN, M.L.C. (Eds.) **Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil**. 1. ed. Brasília: DNPM/CPRM - **Comissão Brasileira de Sítios Geológicos e Paleobiológicos (SIGEP)**, v. 1, 2002, p. 415-430.
- BERBERT-BORN, M. **Geoquímica de sedimentos superficiais de lagoas da região cárstica de Sete Lagoas e Lagoa Santa (MG) e os índices de interferência antrópicas**. Dissertação (Mestrado em Geoquímica Ambiental). Departamento de Geologia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.1998.
- BITTENCOURT, C.; NETO, J. M. dos R. O sistema cárstico de Vazante - carste em profundidade em metadolomitos do Grupo Vazante – MG. **Revista Brasileira de Geociências**. 42(1): 01-10, março de 2012.
- BRASIL.[Constituição (1988)] **Constituição da República Federativa do Brasil** 1988. Brasília, DF: Planalto, [2020]. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm. Acesso em: julho

de 2021.

BRASIL. **Decreto nº 6.640/2008, de 7 de novembro de 2008**. Dá nova redação aos arts. 1o, 2o, 3o, 4o e 5o e acrescenta os arts. 5-A e 5-B ao Decreto no 99.556, de 1o de outubro de 1990, que dispõe sobre a proteção das cavidades naturais subterrâneas existentes no território nacional. Brasília, DF. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/decreto/d6640.htm. Acesso em: março de 2021.

BRASIL. **Decreto Federal nº 10.935, de 12 de janeiro de 2022**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2022/Decreto/D10935.htm. Dispõe sobre a proteção das cavidades naturais subterrâneas existentes no território nacional. Acesso em: 04 de abril de 2022;

BRASIL. **Decreto Federal nº 99.556, de 1º de outubro de 1990**. Revogado pelo Decreto nº 10.935, de 2022. Disponível em http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1990-1994/d99556.htm. Acesso em: 05 de abril de 2022;

CAMACHO, A. I. (Ed.). The natural history of biospeleology. Madrid: **SCIC**, 1992. 680 p. (Monografías del Museo Nacional de Ciencias Naturales).

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVIDADES NATURAIS SUBTERRÂNEAS- Cecav. **Apostila do II Curso de Espeleologia Licenciamento Ambiental**. 2010.

CHEEPHTAM, N. **Cave microbiomes: A novel resource for drug discovery**. Springer, 130p, 2013.

CIGNA, A. A.; BURRI, E. Development, management and economy of show caves. **Int. J. Spel.**, v.29B n.1/4, p. 1-27, 2000.

CULVER, D. C. **Cave life**. Cambridge, Harvard Univ., 189p. 1982.

CULVER, D. C.; WILKENS, H. Critical review of relevant theories of the evolution of subterranean animals. In: WILKENS, H.; CULVER, D. C.; HUMPHREYS, W. F. (Org.). **Ecosystems of the world: subterranean ecosystems**. Amsterdam: Elsevier, 2000. p. 381-397.

DE SENA, I. S. ; RUCHKYS, U. de A. ; TRAVASSOS, L. E. P. Geotourism Potential in Karst Geosystems: An example from the Lund Warming Ramsar Site, Minas Gerais, Brazil. **Catena**, v. 208, p. 105717, 2022.

FERREIRA, R. L.; PROUS, X; MARTINS, R.P. Structure of bat guano communities in a dry Brazilian Cave; **Tropical Zoology**, v. 20, p.55- 74, 2007.

FORD, W. P. **Karst Hydrogeology and Geomorphology**. Chichester: Jonh Wiley & Sons, England, (2º Ed.), 562 p.

GANEM, R. V. As cavidades naturais subterrâneas e o decreto Nº 6.640/2008. Câmara dos deputados. Brasília – DF, outubro 2009.

GERIC, B. Pipan, T., MULEC. J. Diversity of culturable bacteria and meiofauna in the Jama caves (Slovenia). **Acta Varstologica**, 33:301- 311, 2004.

GIUSTI, M. M.; TRAVASSOS, L.E.P. ; LOBO, H.A.S. Percepção de lotação e grau de satisfação dos visitantes da Gruta da Lapinha (Parque Estadual do Sumidouro, MG, Brasil). **Caderno de Geografia**, v. 29, p. 1139-1160, 2019.

GOMES, M.; SANTOS, D. J.; RUCHKYS, U.; TRAVASSOS, L.E.P. Caracterização microclimática de cavernas turísticas do Parque Nacional Cavernas do Peruaçu, Minas Gerais, Brasil. **SOCIEDADE & NATUREZA** (UFU. ONLINE), v. 33, p. 1-18, 2021.

GRUTA REI DO MATO, Sete Lagoas, 26 de março de 2022. **Convite para visitação**. Instagram: #grutareidomato. Disponível em: <https://www.instagram.com/grutareidomato/>. Acesso em: 26 mar.2022.

GUERRA, L.C.C. **Potencial Biotecnológico de Bactérias cultiváveis obtidas a partir da Gruta Martimiano II, Parque Estadual Ibitipoca- MG**. Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto, Departamento de Ciências Biológicas, 2019.

HERSHEY, O.S.; BARTON, H.A. The microbial diversity of caves. *In*: MOLDOVAN, O. T.; KOVÁČ, L.; HALSE, S. (Ed.). **Cave ecology**. Switzerland: Springer, 2018. p. 69-90.

HEROLD, K.; GOLLMICK, F.A.; GROTH, I.; ROTH, M.; MENZEL, K.D.; MÖLLMANN, U.; GRAFE, U.; HERTWECK, C. CERVIMYCIN A-D: A polyketide glycoside complex from a cave bacterium can defeat vancomycin resistance. **Chemistry European Journal**. v.11, p. 5523-5530, 2005.

HERRERA, F.F. 1995. Las comunidades de artrópodos del guano del guácharos em la cueva del Guácharo, Venezuela. **Boletín de la Sociedad Venezolana de Espeleología**, Caracas, v. 29, n. 1, p. 39-46, ene 1995.

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS. **Plano de Manejo – Gruta Rei do Mato**. Disponível em: <http://www.ief.mg.gov.br/noticias/3306-nova-categoria/1696-plano-de-manejo-gruta-do-rei-do-mato>. Acesso em: 09 maio 2020.

JURADO, V.; FERNANDEZ-CORTES, A.; CUEZVA, S.; LAIZ, L.; CANAVERAS, J. C.; SANCHEZ-MORAL, S.; SAIZ-JIMENES, C. The fungal colonization of rock art caves. **Naturwissenschaften**. p1027-1034, 2009.

KIM, B.S.; LEE, J. Y.; HWANG, B.K. Diversity of actinomycetes antagonistic to plant pathogenic fungi in cave and sea-mud soils of Korea. **Journal of Microbiology**. v.36, n.2, p. 86-92, 1998.

KOHLER, H.C. **Geomorfologia Cárstica na Região de Lagoa Santa/MG**. 1989. Tese (Doutorado em Geografia). São Paulo, Departamento de Geografia, FFLCH-USP, 1989.

LAORPAKSA, S.; YINGYONG, A.; THOONGSUWAN, S.; PONGSOPIDA, A. Study of antibioticproducing actinomycetes from cave soil in central region of Thailand. **Journal**

of the National Research Council of Thailand, v.19, p.61-79, 1987.

LINO, C. F. **Cavidades naturais subterrâneas: O fascinante Brasil Subterrâneo**. 2° ed. rev. e atualizada. São Paulo – Gaia, 2009.

LOBO, H. A. S.; VERÍSSIMO, C. U. V.; FILHO, W. S.; FIGUEIREDO, L. A. V.; RASTEIRO, M.A. Potencial geoturístico da paisagem cárstica. **Periódico de Turismo**. v. 3, n2, 2007.

LOBO, H.A.S.; SALLUM FILHO, W.; VERÍSSIMO, C.U.V.; TRAVASSOS, L.E.P.; FIGUEIREDO, L.A.V. ; RASTEIRO, M.A. . Espeleoturismo: oferta e demanda em crescente expansão e consolidação no Brasil. In: BRASIL. MINISTÉRIO DO TURISMO. (Org.). **Segmentação do Turismo**: Experiências, Tendências e Inovações - Artigos Acadêmicos.. 1ed.Brasília: Ministério do Turismo, 2010, v. 1, p. 35-57.

LOBO, H.A.S.; TRAVASSOS, L.E.P. O ser humano e a paisagem cárstica / Humans and karst landscape. Campinas: SBE - **Sociedade Brasileira de Espeleologia**, 2012. 92p.

MANFIO, G. P. Avaliação do Estado do Conhecimento da Diversidade Biológica do Brasil COBIO/MMA – GTB/CNPq – NEPAM/UNICAMP. **Microbiota**. Versão Preliminar. 2003, 80 p.

MEDEIROS, F. A. *et al.* Utilização de um veículo aéreo não-tripulado em atividades de imageamento georeferenciado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.8, p. 2375-2378, nov./2008.

MOLDOVAN, O. T.; KOVÁČ, L.; HALSE, S. (Ed.). Preamble. In: MOLDOVAN, O. T.; KOVÁČ, L.; HALSE, S. (Ed.). **Cave ecology**. Switzerland: Springer, 2018. p.1-6.

MOULDS, T. A. **The seasonality, diversity and ecology of cavernicolous guano dependent arthropod ecosystems in southern Australia**. 2006. Tese de Doutorado. Disponível em: <https://hekyll.services.adelaide.edu.au/dspace/handle/2440/37815>. Acesso em: 15 jan. 2022.

NAKAEW, N.; PATHOM-AREE, W.; LUMYONG, S. First Record of the Isolation, Identification and Biological Activity of a New Strain of *Spirillospora albida* from Thai Cave Soil. **Actinomycetologica**, v. 23, n. 1, 200, p. 1-7.

NORTHUOP, D. E.; LAVOIE, K. H. **Geomicrobiology in caves**. p. 506-510. In: Gunn, John(ed.) *Encyclopedia of Cave and Karst Science*. New York: 2004. Fitzroy Dearborn Publishers.

TRAVASSOS, L. E. P.; BASTOS, R. G.; SILVA, G. S. A. E. Latin American World Heritage sites: selected examples from Mexico, Brazil and Argentina. **Zeitschrift Fur Geomorphologie**, v. 62, p. 315-332, 2021.

PAULA, C. C. P. **Estudo da microbiota edáfica da área cárstica de São Desidério – BA e avaliação do seu potencial celulolítico para possíveis aplicações em microbiologia ambiental**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

PIPAN, T.; CULVER, D.C. Forty years of epikarst: what biology have we learned? **International Journal of Speleology**, v.42, n.3, p.215–223, 2013

POULSON, T. L.; CULVER, D. C. Diversity in terrestrial cave communities. **Ecology** 50 (1): 153-157, 1969.

POULSON, T. L.; White, W. B. The cave environment. **Science**, 165 (3897): 971- 980. 1969.

RODRIGUES, A. A. **Atividade antimicrobiana e produção de enzimas de interesse biotecnológico de bactérias isoladas de diferentes habitats**. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO, 2009.

RODRIGUES, R. Cavernas Catalogadas Quadruplicam em 13 anos. Arquivo publicado em **Ambiente Legal, Justiça e Política**, 2018. Disponível em : <<http://www.ambientelegal.com.br/cavernas-catalogadas-quadruplicam-em-13-anos/>> Acesso em: 08 de agosto de 2020.

RONCA, D. **How Cave Biology Works**. 2009. Disponível em: <https://science.howstuffworks.com/life/biology-fields/cave-biology.htm>. Acesso em: 8 agosto de 2020

RUBBIOLLI, E.; AULER, A.; MENIN, D.; BRANDI, R.; Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade ICMBIO. **Cavernas – Atlas do Brasil Subterrâneo**, 340p., 2019.

SANTOS, D. J. dos; RUCHKYS, U. ; TRAVASSOS, L.E.P. The Educational Potential of Geodiversity in Ferruginous Geosystem: the Example of the Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil. **Geoheritage JCR**, v. 13, p. 1-18, 2021.

SHERWOOD, S.; SIMEK, J. **Cave Archaeology in the Eastern woodlands**. v.26, n.2, p.135, 2001

TAYLOR, E. L. S.; FERREIRA, R. L.; SILVA, D.; CANESTRI, G. B.; BATISTA, L. R. Levantamento e distribuição mínima de fungos filamentosos em cavidades naturais subterrâneas da caatinga brasileira. **Anais do III Congresso Latino Americano de Ecologia**, 2009.

TIMO, M.B.; TRAVASSOS, L.E.P. **Geopatrimônio e Geoturismo na paisagem cárstica**. Belo Horizonte: PUC Minas, 2022. 104p.

TRAVASSOS, L.E.P. **Cavernas de importância cultural mundial**: Alguns exemplos selecionados. Saarbrücken: Novas Edições Acadêmicas, 2015. v. 1. 129p .

TRAVASSOS, L.E.P. **Considerações sobre o carste da região de Cordisburgo, Minas Gerais, Brasil**. Belo Horizonte: Tradição Planalto, 2010. v. 1. 102p .

TRAVASSOS, L.E.P. **Princípios de Carstologia e Geomorfologia Cárstica**. Brasília: ICMBio/IABS, 2019. 242p .

TRAVASSOS, L. E. P. Espeleologia, Carstologia e a pesquisa científica. **Revista Territorium Terram**, v. 2, n. 4, p. 2-14, 2014.

VANDERWOLF K.J., Malloch D., Mcalpine D.F., Forbes j. (2013) A world review of fungi, yeasts, and some mold in caves. **International Journal of Speleology**, 42(1), 77-96.

VARELA, I. D.; TRAVASSOS, L. E. P. Análise da disposição de resíduos sólidos urbanos em Minas Gerais e em cidades médias do Grupo Bambuí. **Ateliê Geográfico**, Goiânia, v. 15, n. 1, p. 238–265, 2021. DOI: 10.5216/ag.v15i1.65182. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/ateliê/article/view/65182>. Acesso em: 23 jun. 2022.

VIEIRA, D. A. P; FERNANDES, N. C. A. Q. Bactérias: Reprodução, nutrição e crescimento. p. 51- 46. In: VIEIRA, D. A. P; FERNANDES, N. C. A. Q. (Orgs.). **Microbiologia Geral**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Inhumas – GO, 2012.

ZAMPAULO, R. A. **Diversidade de invertebrados cavernícolas na Província Espeleológica de Arcos, Pains, Dorisópolis (MG) – Subsídios para a determinação de áreas prioritárias para conservação**. Dissertação, Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2010.

ANEXO I



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75788-1	Data da Emissão: 10/08/2020 11:45:30	Data da Revalidação*: 10/08/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Flávia Mara Evangelista	CPF: 045.667.886-79
Título do Projeto: Licença para coleta de microrganismo para projeto de pesquisa : DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE MICRORGANISMOS NA GRUTA REI DO MATO, SETE LAGOAS, MINAS GERAIS	
Nome da Instituição: SOCIEDADE MINEIRA DE CULTURA	CNPJ: 17.178.195/0001-67

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de microrganismo	08/2020	08/2021

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	LUCAS MENDES RABELO	Apoio Técnico	078.036.526-70	Brasileira
2	Sergio L. Sales	Apoio Técnico	058.815.476-83	Brasileira
3	Luiz Eduardo Panisset Travassos	Coordenador do mestrado	028.197.816-67	Brasileira

Observações e ressalvas

1	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0757880120200810

Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBio

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75788-1	Data da Emissão: 10/08/2020 11:45:30	Data da Revalidação*: 10/08/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Flávia Mara Evangelista	CPF: 045.667.886-79
Título do Projeto: Licença para coleta de microrganismo para projeto de pesquisa : DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE MICRORGANISMOS NA GRUTA REI DO MATO, SETE LAGOAS, MINAS GERAIS	
Nome da Instituição: SOCIEDADE MINEIRA DE CULTURA	CNPJ: 17.178.195/0001-67

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Minas Gerais	Sete Lagoas-MG	Cerrado	Sim	Dentro de UC Estadual

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Dentro de Caverna

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Fungi	-

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Fungos)	Outras amostras biológicas(Cryptococcus neoformans)

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	SOCIEDADE MINEIRA DE CULTURA	Outro

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0757880120200810

Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 75788-1	Data da Emissão: 10/08/2020 11:45:30	Data da Revalidação*: 10/08/2021
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Flávia Mara Evangelista	CPF: 045.667.886-79
Título do Projeto: Licença para coleta de microrganismo para projeto de pesquisa : DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE MICRORGANISMOS NA GRUTA REI DO MATO, SETE LAGOAS, MINAS GERAIS	
Nome da Instituição: SOCIEDADE MINEIRA DE CULTURA	CNPJ: 17.178.195/0001-67

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CNCBIO).

[illegible]

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0757880120200810

Página 3/3

ANEXO II

21/09/2020

SEI/GOV/MG - 19533717 - Autorização para Realização de Pesquisa



GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS

Gerência de Criação e Manejo de Unidades de Conservação - Pesquisa

AUTORIZAÇÃO PARA PESQUISA CIENTÍFICA NO ESTADO DE MINAS GERAIS				
Número da Autorização	Data da Emissão	Prazo de Validade		
037/2020	17/09/2020	10/08/2021		
INFORMAÇÕES DO RESPONSÁVEL E DO PROJETO				
Título do Projeto	"Distribuição Espacial de Microrganismos na Gruta Rei do Mato, Sete Lagoas, Minas Gerais"			
Instituição	Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais			
Responsável	Flávia Mara Evangelista	CPF	04566788679	
Telefone	31 3481 3335	Celular	31 98863 3335	
E-mail	flaviamevangelista@gmail.com; luizepanisset@gmail.com			
INTEGRANTES DA EQUIPE				
Nome	Instituição	CPF/RG	Função	
Luiz Eduardo Panisset Travassos	PUC-MG	02819781667	Orientador	
Sérgio Sales	N/A	058815476-83	Apoio Técnico Scanner	
Lucas Mendes Rabelo	N/A	078036 52670	Apoio Técnico	
INFORMAÇÕES/TIPOS DE ATIVIDADES				
☐ Captura ☒ Coleta ☒ Transporte ☐ Sem Coleta/Captura				
☐ Abiótica ☒ Microrganismo ☐ Fungo ☐ Botânica ☐ Invertebrados				
☐ Anfíbios ☐ Répteis ☐ Aves ☐ Mamíferos ☐ Ictiofauna				
OBSERVAÇÕES	Esta autorização permite coleta/transporte de microrganismos conforme autorização do Sisbio N°75788-1 em anexo.			
	A equipe deverá adotar procedimentos de segurança para se evitar danos ao ambiente carvernícola.			
	A equipe técnica deverá adentrar as cavidades utilizando máscara descartável, roupas desinfetadas e equipamentos espeleológicos desinfetados.			
	Quanto ao deslocamento no interior das cavidades recomenda-se que a movimentação, dentro do possível, ocorra sempre pelo mesmo caminho, para que o pisoteio seja mais restrito e, que também atentem à fragilidade do piso quanto à presença de espeleotemas.			
	Ressalta-se que devido ao desenvolvimento na Gruta Rei do Mato do projeto "Análise de possíveis alterações microclimáticas nas Grutas Rei do Mato e Maquê decorrentes do fechamento para uso turístico em função da Pandemia de COVID-19" sob coordenação da pesquisadora Luciana de Resende Azeiteiro, recomenda-se que o sistema de iluminação artificial não seja ligado dentro da Gruta, podendo acarretar interferências na pesquisa espeleológica. Assim, caso seja imprescindível ligar o sistema de iluminação, solicita-se que seja realizado o registro de data, horário em que o sistema foi ligado e desligado, quantidade de pessoas que entraram na caverna, e horário de entrada e saída das pessoas. Esta pesquisa deverá ser acompanhada por um monitor ambiental que verifique o cumprimento das recomendações acima. Recomenda-se a retirada de todo e qualquer material levado para o interior da cavidade, imediatamente após a finalização da última etapa de campo. <u>Para realização de atividades de campo, o pesquisador deverá seguir as instruções da Portaria IEF N°65, de 08 de Junho de 2020 que dispõe sobre autorização de visita guiada e de pesquisa científica em unidades de conservação estaduais e em instalações sob gestão do IEF, durante a situação de emergência em saúde pública, observadas as medidas de prevenção ao contágio e de enfrentamento e contingenciamento da epidemia de doença infecciosa viral respiratória causada pelo coronavírus (Covid-19).</u> <u>O limite máximo de pesquisadores que poderão ter acesso à unidade de conservação será de dois membros constantes do cadastro de pesquisa, enquanto durar a situação de emergência.</u> As campanhas devem ser agendadas com o responsável pela UC, com antecedência mínima de 10 dias da atividade de campo.			
LOCAL DA ATIVIDADE - EM UNIDADE DE CONSERVAÇÃO ESTADUAL				
Unidade de Conservação	Responsável pela UC	Contato (Telefone e e-mail)	Endereço da UC	Assinatura do Responsável pela UC
MN Gruta Rei do Mato	Maria Honorina Pereira Rocha	(31)3775-2695, (31)8885-0290 maria.pereira@meloambiente.mg.gov.br mnegreidomato@meloambiente.mg.gov.br	BR 040, Km 472, B. Universitário - Sete Lagoas CEP: 35.702-184	
Esta autorização será válida apenas com a autenticação do responsável pela(s) Unidade(s) de Conservação.				
LOCAL DA ATIVIDADE - FORA DE UNIDADE DE CONSERVAÇÃO ESTADUAL (apenas para material botânico)				
Município(s)				
TRANSPORTE - DESTINO DO MATERIAL COLETADO				

file:///C:/Users/flavia.mara/AppData/Local/Microsoft/Windows/InternetCache/Content.Outlook/7HLMKTZX/Autorizacao_para_Realizacao_de_Pesquis... 1/2

21/09/2020

SEI/GOV/MG - 19533717 - Autorização para Realização de Pesquisa

Instituição(s)	SOCIEDADE MINEIRA DE CULTURA					
Endereço(s)	Av. Brasil, 2079 - 10º andar - bairro Funcionários 30.140-002 - Belo Horizonte/MG					
Outras Observações e Ressalvas:						
1. Esta autorização não exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação federal, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação estadual cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; 2. O pesquisador titular deverá contatar a administração dessa unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade de conservação, quando for o caso; 3. O Instituto Estadual de Florestas não se responsabiliza por qualquer dano a equipamentos, acidentes ou lesões físicas ou psíquicas, estando ainda, o pesquisador responsável e sua equipe ciente da vulnerabilidade da área de realização da pesquisa; 4. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior. 5. O titular da autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos e empregando esforços de coleta ou captura que não comprometam a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condições <i>in situ</i>, quando for o caso; 6. Esta autorização não permite captura/coleta/transporte: • para fins comerciais, industriais ou esportivos; • para realização de atividades integrantes do processo de licenciamento ambiental de empreendimentos, conforme resolução do CONAMA de nº 237 de 19/12/97, salvo quando especificado; • de espécies ameaçadas de extinção em lista oficial federal, salvo quando constante de projeto específico autorizado pelo SISBIO; • de espécies ameaçadas de extinção em lista oficial estadual, salvo quando constante de projeto específico autorizado pelo IEF; • de fauna e flora em áreas de domínio privado, sem o consentimento expresso ou tácito do proprietário nos termos do Código Civil; 7. Esta autorização não permite transporte interestadual e internacional de material biológico; 8. Esta autorização não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade. Veja maiores informações em www.mma.gov.br; 9. O titular desta autorização, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização suspensa ou revogada pelo IEF e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação em vigor; 10. O responsável poderá, durante a validade desta autorização e conforme Termo de Compromisso firmado, solicitar à Gerência de Criação e Manejo de Unidades de Conservação/GCMUC do IEF Renovação, Cancelamento ou Conclusão, conforme instruções no site do IEF (http://www.ief.mg.gov.br/pesquisa-cientifica); 11. Esta autorização é válida somente sem emendas ou rasuras e exclusivamente no estado de Minas Gerais; 12. O pesquisador deverá estar sempre acompanhado desta autorização para apresentá-la às autoridades, quando solicitado.						
REGISTRO DE COLETA IMPREVISTA DE MATERIAL BIOLÓGICO						
De acordo com a Portaria 130/2017, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada ao IEF e ao responsável da UC, em até 30 dias após a atividade de campo, por meio do envio da cópia do registro de coleta imprevista de material biológico. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica.						
Unidade de Conservação	Táxon*	Cófia.	Nome de amostra	Qtde.	Data	Justificativa

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.



Documento assinado eletronicamente por Rosalva de Cunha dos Santos, Servidor (a) Público (a), em 18/09/2020, às 14:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017.



Documento assinado eletronicamente por Mariana Lima Moura, Gerente, em 18/09/2020, às 15:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.mg.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 19533717 e o código CRC C9A56FFA.

Referência: Caso responda este Ofício, indicar expressamente o Processo nº 2100.01.0036481/2020-63

SEI nº 19533717