



ANAIS do 33º Congresso Brasileiro de Espeleologia

Eldorado SP, 15-19 de julho de 2015 - ISSN 2178-2113 (online)



O artigo a seguir é parte integrando dos Anais do 33º Congresso Brasileiro de Espeleologia disponível gratuitamente em www.cavernas.org.br/33cbeanais.asp

Sugerimos a seguinte citação para este artigo:

RESENDE, L.P.A.; ZEPON, T.; PAULA, C.C.P.; SELEGHIM, M.H.R.; BICHUETTE, M.E.. Inventário preliminar da comunidade aquática microbiana e de macroinvertebrados em cavernas de Presidente Olegário, Minas Gerais. In: RASTEIRO, M.A.; SALLUN FILHO, W. (orgs.) CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPELEOLOGIA, 33, 2015. Eldorado. *Anais...* Campinas: SBE, 2015. p.109-116. Disponível em: http://www.cavernas.org.br/anais33cbe/33cbe_109-116.pdf. Acesso em: *data do acesso*.

Esta é uma publicação da Sociedade Brasileira de Espeleologia.
Consulte outras obras disponíveis em www.cavernas.org.br

INVENTÁRIO PRELIMINAR DA COMUNIDADE AQUÁTICA MICROBIANA E DE MACROINVERTEBRADOS EM CAVERNAS DE PRESIDENTE OLEGÁRIO, MINAS GERAIS

PRELIMINARY INVENTORY OF MICROBIAL AQUATIC COMMUNITY AND MACROINVERTEBRATES
IN CAVES OF PRESIDENTE OLEGÁRIO, MINAS GERAIS

**Leonardo Palloni Accetti RESENDE (1); Tamires ZEPON (1); Caio César Pires de PAULA (2);
Mirna Helena Regali SELEGHIM (2); Maria Elina BICHUETTE (1)**

(1) Laboratório de Estudos Subterrâneos, Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva (DEBE),
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos SP.

(2) Laboratório de Ecologia de Microrganismos Aquáticos, Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva
(DEBE), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos SP.

Contatos: leonardoresende.bioespeleo@gmail.com; tazepon@gmail.com; piresdepaula@yahoo.com.br.

Resumo

As cavernas podem possuir sistemas hídricos dinâmicos que abrigam uma rica comunidade aquática de macroinvertebrados e uma microbiota, sendo a última encontrada geralmente como biofilmes compostos, configurando-se como uma importante fonte de energia para a comunidade aquática. O levantamento espeleobiológico do ambiente permite uma melhor caracterização desse ecossistema, bem como uma melhor compreensão de possíveis interações ecológicas. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a densidade microbiana dos biofilmes e elaborar um inventário da comunidade aquática de três cavernas situadas na área cárstica de Presidente Olegário, Minas Gerais. Para tal foram coletadas amostras de água das cavernas em locais com presença e ausência de biofilme, além de coletas de macroinvertebrados por meio de busca ativa manual e aparatos *Surber*, no substrato e no ambiente do entorno. As amostras de água foram diluídas em série e inoculadas em meios específicos, sendo o meio ágar nutritivo (bactérias totais) e meio Martin (fungos totais). A contagem de bactérias demonstrou uma alta densidade, entre 1.10^2 a $3,4.10^3$ UFC/mL, apresentando os maiores valores para as amostras contendo o biofilme. O mesmo padrão foi observado para a contagem de fungos, que variou entre 1.10^2 a $3,4.10^3$ UFC/mL. Foram encontradas nove morfoespécies de macroinvertebrados (seis de Insecta, uma de Gastropoda, uma de Malacostraca e uma de Tricladida). A alta densidade microbiana associada à ocorrência de macroinvertebrados indicam que essa comunidade aquática utiliza o biofilme como fonte de alimento e, possivelmente, como abrigo e berçário.

Palavras-Chave: Meio subterrâneo, comunidade aquática, biofilme, recurso trófico, invertebrados.

Abstract

Caves can have dynamical hydrological systems, which hosts a rich community of aquatic macroinvertebrate and microbiota, the latter generally found as biofilms compounds, being considered an important source of energy for the aquatic community. The biological inventory in caves allows a better characterization of this ecosystem, as well as a better understanding of possible ecological interactions. The objective of this study was to evaluate the microbial biofilms density and make an inventory of the aquatic community of three caves located in the karst area of Presidente Olegário, northwestern Minas Gerais state. For this purpose, water samples were collected from locals with and without biofilm, in addition macroinvertebrates were collected by hand through active search and Surber apparatus on the substrate and surrounding environment. The water samples were serial diluted and inoculated in specific media, nutrient agar medium (total bacteria) and Martin medium (total fungi). The bacterian count showed a high density, between 1.10^2 a $3,4.10^3$ UFC/mL, with higher rates for samples containing the biofilm. The same pattern was observed for the fungal count, ranging from 1.10^2 a $3,4.10^3$ UFC/mL. Nine morphospecies of macroinvertebrates (six of Insecta, one Gastropoda, one Malacostraca and one Tricladida) were recorded. The high microbial density associated to the macroinvertebrates occurrence indicates that the aquatic community uses biofilm as a source of food and, possibly, as shelter and nursery.

Key-words: Subterranean environment, aquatic community, biofilm, trophic resource, invertebrates.

1. INTRODUÇÃO

O ambiente subterrâneo ou hipógeo - conjunto de espaços interconectados do subsolo que quando acessíveis a humanos são chamados de cavernas - possui diversos habitats aquáticos, como o meio hiporreico (meio intersticial no leito do rio); o epicarste (fendas presentes em camadas superficiais das rochas carstificáveis por onde há percolação de água através do solo podendo formar aquíferos); rios que podem ser exógeos (originam-se no ambiente epígeo e entram nas cavernas por meio de sumidouros) ou hipógeos (originam-se do afloramento de águas freáticas na zona vadosa); além de poças alimentadas por águas de percolação (POULSON; WHITE, 1969; JUBERTHIE, 2000; CULVER; PIPAN, 2009). Ainda, esses habitats podem ser categorizados em lóticos (fluxo de água rápido, elevada quantidade de oxigênio dissolvido, fundo predominantemente rochoso e com trechos de corredeiras alternados com porções de fluxo mais lento - *e.g.*, riachos) ou lênticos (fluxo de água lento, menor quantidade de oxigênio dissolvido, fundo com sedimento fino predominante) (ESTEVES, 1998).

Uma parte importante da comunidade que habita os ambientes aquáticos subterrâneos consiste de microrganismos, pois estes são capazes de colonizar os mais diversos habitats, inclusive aqueles aparentemente inóspitos, tais como ambientes com ausência de oxigênio, temperaturas elevadas ou ausência de luz. Diversos estudos evidenciam a presença de microrganismos em ambientes subterrâneos, bem como as interações que esses organismos possuem com o ecossistema (BARTON; NORTHUP, 2007).

No ambiente subterrâneo, seja em rios ou lagos, a produção primária é inexistente devido à ausência de luz solar. Como consequência, a rede trófica estabelecida é muito dependente de detritos particulados ou carbono orgânico dissolvido (DOC) oriundos do meio externo (CULVER, 1982). Em contrapartida, algumas cavernas apresentam biofilmes bacterianos que são considerados como uma importante fonte de DOC (HALL; MEYER, 1998, SIMON et al., 2002). Biofilmes podem ser definidos como uma matriz polimérica de aparência gelatinosa, fixada sobre uma superfície sólida, principalmente constituída por um aglomerado de células microbianas e pelos seus produtos de excreção (substâncias poliméricas extracelulares - EPS) (ALLISON, 2003; SUTHERLAND *et al.*, 2001). Diversos estudos demonstram que além da entrada alóctone de DOC, os biofilmes presentes em ambientes subterrâneos são considerados como uma

importante fonte de energia para a comunidade local, mesmo em condições em que a concentração de DOC seja elevada (SIMON et al., 2003).

Considerando o exposto acima, o objetivo desse trabalho foi avaliar a densidade microbiana (fungos e bactérias) em biofilmes, bem como realizar o levantamento de espécies de invertebrados que compõe a comunidade aquática em cavernas situadas na área cárstica de Presidente Olegário, Noroeste de Minas Gerais.

2. METODOLOGIA

2.1. Área de estudo

O município de Presidente Olegário (18°25'4" S, 46°25'4" W), estado de Minas Gerais, Brasil, está localizado ao sul da bacia hidrográfica do Alto São Francisco, sub-bacia do rio Paracatu. A fitofisionomia consiste em cerrado (*sensu* AB' SABER, 1977) e em floresta estacional semi-decídua ao redor dos afloramentos calcários e o clima é tropical sub-quente e semi-úmido (NIMER, 1989). Segundo o Grupo Pierre Martin de Espeleologia (GPME, com. pes. 2014) os afloramentos calcários da região pertencem à unidade geomorfológica Bambuí, a qual possui a maior ocorrência de calcário no Brasil (KARMANN; SÁNCHEZ, 1979; AULER et al., 2001). Trata-se de uma região impactada antropicamente, com áreas desmatadas para o desenvolvimento de atividades agropecuárias, inclusive nos entornos das cavernas. A área também vem sendo ameaçada por projetos de construção de pequenas centrais hidroelétricas e de extração de gás.

2.2. Cavernas estudadas

A Toca do Charco consiste em uma caverna pequena com aproximadamente 80 metros de desenvolvimento horizontal e sem zona afótica (Grupo Pierre Martin de Espeleologia, com. pess. 2014). Possui em seu interior um afloramento freático estagnado, formando um lago, onde ocorre o biofilme, caracterizado como um substrato de coloração alaranjada, que ocupa grande extensão do afloramento e também ocorre sobre raízes penetrantes presentes no interior da cavidade. Os substratos ao redor do lago são compostos por areia e argila, blocos abatidos, muitas raízes penetrantes e serapilheira. O entorno da caverna encontra-se degradado, com pouca vegetação nativa ao redor do

afloramento calcário e o restante desmatado para a implementação de pastagem.

A Lapa da Fazenda São Bernardo é uma caverna de aproximadamente 2.000 metros de desenvolvimento horizontal (Grupo Pierre Martin de Espeleologia, com. pess. 2014) e com grande complexidade física. Apresenta em alguns salões com muitas aberturas no teto, por onde penetram diversas raízes, e outros com muitos blocos abatidos. Possui um afloramento de água freática formando um rio hipógeo, no qual em determinado trecho de sua margem forma-se um pequeno represamento onde há sedimentação de argila e presença do biofilme de coloração alaranjada, além de raízes. O substrato que margeia o rio é rochoso (seixos e matações) com argila seca e sem matéria orgânica (e.g., serapilheira). Já em outros salões da caverna, o rio ocorre entre rochas e apresenta raízes penetrantes, mas o biofilme não está presente. O entorno também está degradado, sendo que a vegetação nativa foi retirada até mesmo das margens do afloramento calcário para a implementação de plantação com o uso de agrotóxicos.

A Lapa Vereda da Palha possui 2.500 metros de desenvolvimento horizontal e foi parcialmente mapeada pelo GPME (Grupo Pierre Martin de Espeleologia, com. pess. 2014). Possui um rio epígeo que penetra em sua entrada (sumidouro) e que possivelmente contribui para o aporte de nutrientes da parte inferior da caverna. O substrato do rio consiste em argila compactada, raízes e acúmulos de serapilheira. Em determinado ponto, onde o fluxo do rio é mais lento, ocorre o biofilme alaranjado. Ainda, essa caverna possui um rio hipógeo que corre sobre travertinos presentes em uma parte superior da caverna. O entorno da caverna encontra-se degradado, com pouca vegetação nativa presente ao redor do afloramento calcário e o restante desmatado para a implementação de pastagem. Há ainda indícios de que o gado acessa a entrada da caverna (presença de pegadas e fezes).

2.3. Coleta das amostras

Foram realizadas coletas de água em dois pontos distintos em cada caverna para a contagem microbiana, sendo um ponto localizado na área em que o biofilme é observado (CB) e outro ponto externo à área em que o biofilme está presente (SB). A única exceção foi a caverna Lapa de São Bernardo em que foi coletado água apenas na área em que o biofilme está presente. Para as coletas foram utilizados frascos de vidro (200 mL) previamente esterilizados. Os frascos foram abertos,

mergulhados na coluna d'água e contra a corrente, de forma que parte do biofilme fosse coletado. Além disso, *swabs* umedecidos e estéreis foram utilizados para coletar parte da biomassa do biofilme e preservados em solução salina 0,85% estéril. Ambas as amostras foram utilizadas para realizar a contagem microbiana.

Os invertebrados foram coletados por meio de busca ativa e aparatos do tipo *Surber* sobre o substrato e nas proximidades, sendo fixados *in loco* em álcool 70% (insetos e crustáceos) e em formalina 4% (planárias). Estes foram identificados em laboratório até o nível taxonômico menos inclusivo. As amostragens dos invertebrados foram realizadas em cinco ocasiões de visita (setembro/2013, janeiro, abril, junho e setembro/2014), enquanto que a amostragem do biofilme foi realizada apenas na última ocasião (setembro/2014).

2.4. Contagem microbiana

A densidade de bactérias e fungos cultiváveis da água foi determinada em unidades formadoras de colônias (CFU mL⁻¹ de água), utilizando-se o método de diluição seriada das amostras de água e inoculação em meios de cultura específicos, com 3 repetições por diluição. Para isso um volume de 1,0mL de cada amostra foi adicionado a 9,0 mL de solução salina 0,85%, após agitação, seguindo de diluições em série até 1/100.000. Os meios utilizados para as contagens foram: ágar nutriente (extrato de carne 3,0 g L⁻¹; peptona bacteriológica 5,0 g L⁻¹; ágar 15,0 g L⁻¹, água destilada 1,0 L) para bactérias totais e meio Martin (K₂HPO₄ 1,0 g L⁻¹; MgSO₄.7H₂O 0,2 g L⁻¹; Peptona 5,0 g L⁻¹; Glicose 10,0 g L⁻¹; Rose Bengal 0,06 g L⁻¹; ágar 15,0 g L⁻¹; água destilada 1,0 L) para fungos totais, segundo Wollum II (1982). As placas inoculadas foram incubadas a 27°C e as colônias contadas após 3 dias (bactérias) e 7 dias (fungos).

2.5. Análises Estatísticas

Os resultados referentes à densidade microbiana foram submetidos à estatística descritiva básica como a média aritmética, desvio padrão, coeficiente de variação e o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*. Para comparação das médias das amostras foi escolhida a análise paramétrica teste “t” para dados normais, a 5% de probabilidade e o teste pareado de *Tukey*. Para as análises estatísticas e produção de gráficos foi utilizado o programa PAST v. 8.2 (HAMMER, 1999).

3. DISCUSSÃO E RESULTADOS

3.1. Contagem microbiana

Após a contagem das colônias de bactérias e fungos em meios de cultura específicos, calculamos o número de unidades formadoras de colônias (CFU mL⁻¹) para cada amostra. Verificou-se que o número de UFC de bactérias variou de $5,20 \cdot 10^3$ a $3,82 \cdot 10^6$, sendo que o maior valor foi observado na caverna Lapa Vereda da Palha (Figura 1). Nessa caverna, o valor médio observado na amostra com biofilme ($3,7 \cdot 10^6$ CFU mL⁻¹) foi 1,74 vezes superior ao observado na amostra coletada sem o biofilme ($2,1 \cdot 10^6$ CFU mL⁻¹). Apesar da caverna Toca do Charco apresentar valor inferior ao observado na Lapa Vereda da Palha, observou-se que o padrão presente na última caverna também foi verificado para a caverna Toca do Charco. Na caverna Toca do Charco, a amostra coletada no ponto em que o biofilme se encontrava apresentou valor médio de $1,51 \cdot 10^4$ CFU mL⁻¹, sendo 1,94 vezes superior ao do ponto amostrado sem o biofilme ($7,7 \cdot 10^3$ CFU mL⁻¹). Em relação à caverna Lapa da Fazenda São Bernardo destaca-se que essa apresentou valores intermediários ($1,9 \cdot 10^6$ CFU mL⁻¹) quando comparados aos valores observados nas amostras das cavernas Toca do Charco e Lapa Vereda da Palha.

Por meio do teste “t” de *Student*, verificou-se que apenas as amostras coletadas na caverna Lapa Vereda da Palha apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,001$), sendo essa diferença não observada entre as amostras da caverna Toca do Charco ($p = 0,07$). Ao comparar as amostras de todas as cavernas entre elas não observamos nenhuma diferença estatística entre as amostras coletadas na caverna Toca do Charco, amostras sem biofilme da caverna Lapa Vereda da Palha e amostras da caverna Lapa da Fazenda São Bernardo (Figura 1). Como esperado, a densidade bacteriana nos pontos amostrados na área do biofilme foi maior do que nos pontos mais afastados, um padrão já verificado em outros estudos (BLOCK et al., 2009).

A caverna Toca do Charco possui um afloramento de lençol freático, no qual o biofilme microbiano se localiza. Já é de conhecimento científico que áreas de afloramento de lençóis freáticos podem levar a uma situação de hipoxia da comunidade aquática e conseqüentemente redução da ação de microrganismos decompositores (BERG; McCLAUGHERTY, 2007) e da densidade de microrganismos aeróbicos.

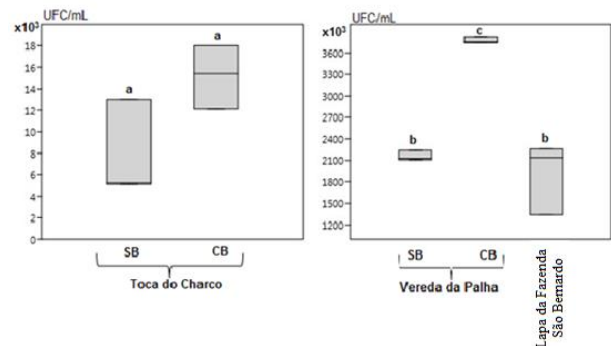


Figura 1. Densidade de bactérias em corpos d'água de três cavernas de Presidente Olegário, Minas Gerais. As amostras foram coletadas em pontos contendo o biofilme (CB) e com ausência do biofilme (SB). Boxplots seguidos por letras iguais, para cada local, não diferem entre si ($p < 0,05$).

Diversos estudos realizados em cavernas com baixa concentração de carbono orgânico ($\sim 5,0$ mgC L⁻¹) mostraram que as bactérias atingiram um máximo de $4,32 \cdot 10^2$ CFU mL⁻¹ (KOLBEL-BOELKE et al., 1988; LAIZ et al., 1999; MULEC et al., 2012). Apesar destes estudos terem sido realizados em cavernas de ambientes temperados (com baixas temperaturas), destacamos um estudo realizado por Mulec e Oarga (2014) na caverna Santo Tomás, Cuba, que possui características mais próximas de uma caverna em clima tropical. Esses autores verificaram que, mesmo em uma caverna com uma temperatura mais elevada, a densidade bacteriana encontrada foi de no máximo $9,1 \cdot 10^2$ CFU mL⁻¹. Isso pode indicar que os altos valores de densidade bacteriana encontrados nas cavernas de Presidente Olegário podem ser devido a um maior aporte de matéria orgânica alóctone para o interior do ambiente subterrâneo.

Os valores das contagens de fungos nas amostras variaram entre $1 \cdot 10^2$ e $3,4 \cdot 10^3$ UFC mL⁻¹ (Figura 2). Nas amostras da caverna Lapa Vereda da Palha os valores foram, em média, $1,3 \cdot 10^2$ e $2,0 \cdot 10^3$ UFC mL⁻¹, nas amostras SB e CB respectivamente. A caverna Toca do Charco apresentou os menores valores, variando entre $1,6 \cdot 10^3$ UFC mL⁻¹, nas amostras SB, a $2,6 \cdot 10^3$ UFC mL⁻¹ nas amostras CB. Por fim, na caverna Lapa da Fazenda São Bernardo observou-se os maiores valores: média de $2,1 \cdot 10^3$ UFC mL⁻¹.

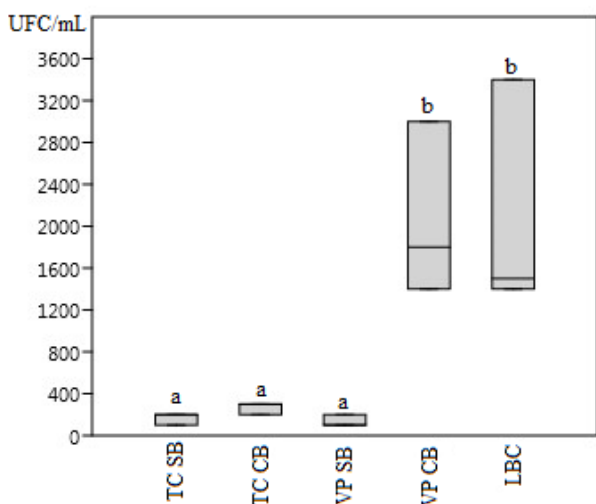


Figura 2. Densidade de fungos em corpos d'água de três cavernas de Presidente Olegário, Minas Gerais. As amostras foram coletadas em pontos contendo o biofilme (CB) e com ausência do biofilme (SB). TC = Toca do Charco; VP = Vereda da Palha; LSB = Lapa da Fazenda São Bernardo. Boxplots seguidos por letras iguais, para cada local, não diferem entre si ($p < 0,05$).

Não houve diferença estatística entre os valores de densidade fúngica dos pontos avaliados na caverna Toca do Charco ($p = 0,10$). Em contrapartida, ao comparar os pontos amostrados na Lapa Vereda da Palha observou-se que houve uma diferença significativa entre eles ($p = 0,01$). Ao comparar os dados de todos os pontos entre si, destaca-se que a caverna Lapa da Fazenda São Bernardo apresentou diferença estatística em relação a todos os outros pontos avaliados, com exceção da amostra CB coletada na caverna Vereda da Palha.

Os resultados apresentados evidenciam que a densidade de fungos no ambiente aquático dessa caverna é inferior à densidade bacteriana, um padrão também verificado por diferentes autores em outros estudos (ZACHEUS et al., 2001; URZI et al., 2010; MULEC et al., 2012; MULEC; ORGA, 2014). No entanto, mais uma vez destaca-se que a densidade de fungos nas cavernas de Presidente Olegário apresentaram valores superiores ao encontrado por esses autores, em que a contagem de fungos cultiváveis não foi superior à $3,4.10 \text{ CFU mL}^{-1}$.

A razão entre a densidade de bactérias e de fungos nas amostras de água dessas cavernas varia entre 46,6 a 28.275, valores também superiores aos encontrados em outros estudos (MULEC et al., 2012; MULEC; ORGA, 2014). Segundo esses autores, altas densidades de bactérias em relação às de fungos podem ser explicadas pela entrada de matéria orgânica alóctone, seja por visitação turística e/ou entrada de excremento animal. Além

disso, temperaturas mais elevadas no ambiente subterrâneo, como em cavernas tropicais, podem acarretar em uma maior ciclagem de matéria orgânica comparado às cavernas de climas temperados. Essa pode ser a razão da grande diferença verificada entre os valores de densidade bacterianas e fungos, pois todas as cavernas estudadas nesse trabalho estão situadas em locais onde há intensa atividade humana, com uso de agrotóxicos e desmatamento para criação de gado no meio superficial que as circundam. Além disso, a Lapa da Fazenda São Bernardo e a Toca do Charco apresentam diversas aberturas que permitem o aporte de matéria orgânica vegetal para o interior da caverna. Portanto, tais fatores podem estar contribuindo para a entrada de uma maior quantidade de matéria orgânica no local e consequentemente contribuir para o estabelecimento de uma maior densidade microbiana.

3.2. Comunidade aquática

O biofilme, substrato de cor alaranjada que foi encontrado nas águas das três cavidades, apresentou-se como sendo constituído por bactérias e fungos. Os macroinvertebrados encontrados sobre este biofilme pertencem a diferentes grupos taxonômicos, com presença de organismos detritívoros, como crustáceos da ordem Amphipoda (troglóbios – animais restritos a ambientes subterrâneos), platelmintos da ordem Tricladida (provavelmente troglóbios) e gastrópodes, e predadores, como insetos das ordens Hemiptera e Coleoptera. Além destes organismos, foram avistadas larvas de anfíbios da ordem Anura. A lista completa da fauna de invertebrados de cada caverna com suas respectivas abundâncias é apresentada na Tabela 1. A Lapa da Fazenda São Bernardo apresentou maior riqueza de invertebrados aquáticos (nove morfotipos), seguida pela Toca do Charco (quatro) e pela Lapa Vereda da Palha (dois).

Hemípteros Veliidae, considerados troglófilos (cavernícolas facultativos), ocorrem em cavernas de diversas regiões do Brasil, enquanto que os Belostomatidae são relativamente raros e geralmente acidentais (PINTO-DA-ROCHA, 1995; TRAJANO; BICHUETTE, 2010). Coleópteros Dytiscidae também são geralmente troglófilos, com apenas um troglóbio confirmado até então e também são registrados em cavernas de diferentes regiões do Brasil (PINTO-DA-ROCHA, 1995). Segundo Trajano e Bichuette (2010), anfípodas *Hyalella* têm sido encontrados em rios hipógeos no Alto Ribeira, São Paulo, e Minas Gerais, incluindo espécies

troglobílicas. Ainda de acordo com essas autoras, poucas planárias têm sido registradas em cavernas brasileiras, apesar de haver indivíduos troglobílicos ainda não descritos coletados no Vale do Ribeira, e as áreas cársticas da Bodoquena e de São Desidério.

Considerando-se que os biofilmes presentes apresentaram uma alta densidade microbiana e que existe uma comunidade aquática ativa nesses locais,

pode-se inferir que alguns organismos da comunidade de macroinvertebrados utilizam o biofilme como fonte de consumo de carbono orgânico dissolvido (DOC), recurso energético e nutritivo, demonstrando a importância dos microrganismos nas cadeias alimentares aquáticas subterrâneas; fato já observado por outros autores, como Simon e colaboradores (2003).

Tabela 1: Lista da fauna de macroinvertebrados aquáticos registrados nos rios hipógeos das três cavernas amostradas no município de Presidente Olegário, Minas Gerais. Legenda: Gen. Morf. = Gênero e Morfotipo; SB= Lapa da Fazenda São Bernardo; VP= Lapa Vereda da Palha e TC= Toca do Charco.

				Cavernas			
Classe	Ordem	Família	Gen. Morf.	SB	VP	TC	Total
		Dytiscidae	<i>Laccodytes sp.</i>	2	5	0	7
	Coleoptera		<i>Copelatus sp.</i>	1	0	0	1
Insecta			sp.	2	0	0	2
		Belostomatidae	sp.	1	0	0	1
	Hemiptera	Veliidae	sp. 1	9	0	3	12
			sp. 2	3	0	0	3
Gastropoda			sp.	0	0	1	1
Malacostraca	Amphipoda	Hyaletidae	<i>Hyaletta sp.</i>	25	2	42	69
Turbellaria	Tricladida		sp.	13	0	26	39

Também foram registrados diversos indivíduos de Amphipoda em amplexo (comportamento reprodutivo). Ainda, indivíduos juvenis desses crustáceos foram vistos em meio ao biofilme. Assim, é possível que o biofilme, devido à sua elevada densidade, também seja utilizado como abrigo e berçário pelos invertebrados.

Mesmo sabendo que a comunidade microbiana, principalmente os biofilmes, é considerada uma importante fonte de recursos para a mesofauna de comunidades subterrâneas, observamos que os locais com maior riqueza e abundância de macroinvertebrados não foram os mesmos com maiores valores de densidade microbiana. Segundo Mulec e Orga (2014), a relação entre concentração microbiana e a abundância da mesofauna não é necessariamente linear e não é influenciada diretamente por organismos consumidores de biomassa microbiana, já que outros fatores também exercem uma forte influência sobre a comunidade, como a

concentração de matéria orgânica, a hidrodinâmica e as interações ecológicas dessa comunidade.

4. CONCLUSÕES

- Ω A contagem de microrganismos em amostras de água com a presença e a ausência de biofilme apresentaram uma alta densidade de microrganismos cultiváveis quando comparados a outros estudos.
- Ω Em geral as amostras contendo o biofilme apresentaram uma concentração microbiana mais elevada.
- Ω A alta densidade microbiana observada nesse ambiente pode ser devido à entrada de matéria orgânica alóctone, porém um monitoramento aquático mais detalhado deve ser realizado.
- Ω A comunidade de macroinvertebrados das cavernas estudadas apresenta nove

morfoespécies, distribuídas em quatro grandes grupos de invertebrados.

Ω Provavelmente os macroinvertebrados utilizam o biofilme tanto como fonte de energia, quanto como abrigo e berçário.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Grupo Pierre Martin de Espeleologia (GPME) pelas informações sobre as cavernas e mapas; aos ajudantes nas coletas (Damasceno, G.F., Gallo, J.S.; Joaquim, L.A., Ribeiro, I.A); aos que contribuíram com a identificação do material zoológico: bióloga Roberta Mafra Freitas da Silva e Prof^ª Dr^ª Alaíde A. F. Gessner (Dytiscidae -DHb/UFSCar) e Prof. Dr. Felipe Moreira (Hemiptera- FIOCRUZ); à Jair F.

Sales (Lapa da Fazenda São Bernardo), Sra. Mariluci, Sr. Geraldo, Antonio C. de Oliveira, Efigênia C. Ribeiro (Toca do Charco), José S. Silva (Lapa Vereda da Palha) pelo acesso às cavernas; ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPG-ERN) pela infraestrutura oferecida; ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela licença de coleta (nº 28992-7). M.E.B. agradece ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq) pelo financiamento parcial (Processo nº 303715/2011-1). L.P.A.R. e T.Z. agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos (Processos nº 132404/2013-3 e 132065/2013-4, respectivamente) e C.C.P.P. agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

- AB'SABER, A. N. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. Primeira aproximação. **Geomorfologia**, v. 52, p. 1–22, 1977.
- ALLISON, D. G. The Biofilm Matrix. Biofouling. **The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**. 19, 139-150, 2003.
- AULER, A.; RUBBIOLI, E.; BRANDI, R. As grandes cavernas do Brasil. Belo Horizonte:
- BARTON, H. A., NORTHUP D. E. Geomicrobiology in cave environments: past, current and future perspectives. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 69, n. 1, p. 163–178, 2007.
- BERG, B. MCCLAUGHERTY, C. Plant litter: decomposition, humus formation, carbon sequestration. Berlin Heidelberg, Springer Verlag. 2007.
- CHARACKLIS, W. G. e WILDERER, P. A. Structure and Function of Biofilms. New York: JohnWiley & Sons. 1989.
- COSTERTON, J. W.; CHENG, K. J.; GEESEY, G. G.; LADD, T. I.; NICKEL, J. C.; DASGUPTA, M. e MARRIE, T. J. Bacterial biofilms in nature and disease. **Annual Review of Microbiology**. 41, 435-464, 1987.
- CULVER, D. C. Cave life, evolution and ecology. Cambridge: Harvard University Press. 1982.
- CULVER, D. C. e PIPAN, T. The biology of caves and other subterranean habitats. Oxford: Oxford University Press, 2009. 256p.
- ESTEVEES, F. A. Fundamentos de Limnologia. 2. Ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.
- Grupo Bambuí de Pesquisas Espeleológicas, 2001. 228p.
- HALL, R.O. e MEYER, J. L. The trophic significance of bacteria in a detritus-based stream food web. **Ecology**, v.79, n. 6, p. 1995 – 2002, 1998.
- HAMER, O. Paleontological Statistics. Natural History Museum. **University of Oslo**. 1999.

- JUBERTHIE, C. The diversity of the karstic and pseudokarstic hypogean habitats in the world. In: WILKENS, H.; CULVER, D. C.; HUMPHREYS, W. F. (Eds.). *Ecosystems of the World. Subterranean Ecosystems*. Amsterdam: Elsevier Science, p. 17– 39, 2000.
- KARMANN, I. e SÁNCHEZ, L.H. Distribuição das rochas carbonáticas e províncias espeleológicas do Brasil. *Espeleo-tema*, v. 13, p. 105-167, 1979.
- KÖLBEL-BOELKE, J.; ANDERS, E. e NEHRKORN, A. Microbial communities in the saturated groundwater environment. II. Diversity of bacterial communities in a Pleistocene sand aquifer and their in vitro activities. *Microbial Ecology*, v. 16, pp. 31–48, 1998.
- LAIZ, L.; GROTH, I.; GONZALEZ, I. e SÁIZ-JIMÉNEZ, C. Microbiological study of the dripping waters in Altamira cave (Santillana del Mar, Spain). *Journal of Microbiological Methods*, v. 36, n. 1, p.129-138, 1999.
- MULEC, J.; KRIŠTÚFEK V. e CHROŇÁKOVÁ, A. Comparative microbial sampling from eutrophic caves in Slovenia and Slovakia using RIDA@COUNT test kits. *International Journal of Speleology*, v. 41, p.1-8, 2012.
- MULEC, J. e OARGA, A. Ecological evaluation of air and water habitats in the Great Cavern of Santo Tomás, Cuba. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, v. 85, n. 3, p. 910-917, 2014.
- NIMER, E. *Climatologia do Brasil*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro-RJ, 1989.
- PINTO-DA-ROCHA, R. Sinopse da fauna cavernícola do Brasil (1907-1994). Papéis *Avulsos de Zoologia*, v. 39, n. 6, p. 61-173, 1995.
- POULSON, T. L. e WHITE, W. B. The cave environment. *Science*, v. 165, n. 3897, p. 971- 980, 1969.
- SIMON, K. S.; BENFIELD, E.F. e MACKO, S.A. Food web structure and the role of epilithic biofilms in cave streams, *Ecology*, v.84, n.9, p. 2395-2406, 2003.
- SIMON, M.; GROSSART, H.P.; SCHWEITZER, B. e PLOUG, H. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, v.28, p.175–211, 2002.
- SUTHERLAND, I. W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*.147, 3-9, 2001.
- TRAJANO, E. e BICHUETTE, M. E. Diversity of Brazilian subterranean invertebrates, with a list of troglomorphic taxa. *Subterranean Biology*, v. 7, p. 1-16, 2010.
- URZI, C.; DE LEO, F.; BRUNO, L. e ALBERTANO, P. Microbial diversity in paleolithic caves: a study case on the phototrophic biofilms of the cave of bats (zuheros, spain). *Microbial Ecology*, v. 60, p. 116-129, 2010.
- WOLLUM II, A. G. Cultural methods for soil microorganisms. In: Miller RH, Keeney DR. *Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties*. Madison: *Soil Science of American*, 781-802, 1982.
- ZACHEUS, O. M.; LEHTOLA, M. J.; KORHONEN, L. K. e MARTIKAINEN, P. J. Soft deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks. *Water Research*, v. 35, n. 7, p. 1757-1765, 2001.