



## **Relatório Técnico Final**

**TCCE N° 01/2018:**

**REGISTROS PALEOAMBIENTAIS DE DEPÓSITOS DE GUANO EM  
CAVERNAS FERRÍFERAS DA FLORESTA NACIONAL DE CARAJÁS**

**Abril**

**2024**


A/C

Instituto Brasileiro de Desenvolvimento e Sustentabilidade - IABS SRTV Quadra 701,  
Conjunto L, Lote 38, Bloco 1, Sala 704, Parte A96, Brasília/DF, 70.340-906

Prezados(as),

Vimos por meio deste encaminhar o relatório final do projeto “REGISTROS PALEOAMBIENTAIS DE DEPÓSITOS DE GUANO EM CAVERNAS FERRÍFERAS DA FLORESTA NACIONAL DE CARAJÁS” referente ao Edital de Chamada Pública nº 01/2021 “Geossistemas Ferruginosos concernentes aos componentes 1 e 3 do Programa Nacional de Conservação do Patrimônio Espeleológico” no âmbito do TCCE Nº 01/2018 – ICMBio.

Cordialmente,



---

**Paulo Eduardo de Oliveira**

## 1. Introdução

Questões relacionadas às futuras mudanças climáticas e ambientais têm estado em constante evidência nas últimas décadas, dados seus efeitos potencialmente catastróficos sobre os ecossistemas naturais, na biodiversidade de espécies e no bem-estar humano (IPCC, 2021). No entanto, para prever cenários futuros, precisamos olhar para o passado. Durante anos, os estudiosos coletaram dados de arquivos naturais da variabilidade climática tais como corais, testemunhos de gelo, anéis de árvores, espeleotemas, sedimentos oceânicos e lacustres, juntamente com dados históricos. No entanto, nenhum deles deu a devida importância aos depósitos de guano: um registro natural com um enorme potencial de reconstrução ambiental e uma janela para interações ecológicas passadas.

Sabe-se que mudanças relevantes na cobertura vegetal ocorreram em áreas de ecótono nos ecossistemas da Amazônia (Guimarães et al. 2021, Reis et al. 2022) e da Caatinga (De Oliveira et al. 1999) em resposta a variações climáticas passadas. No Holoceno Médio (~8.000 a 4.000 anos AP), por exemplo, registros paleoecológicos, principalmente recuperados de sedimentos lacustres (Prado et al. 2013), revelam uma abertura de paisagem, ou seja, expansão de savana aberta e condições climáticas mais secas em comparação com os níveis modernos (De Oliveira et al. 1999; Pessenda et al. 1998 Reis et al. 2022). Considerando tais mudanças ambientais e, conseqüentemente, flutuações na disponibilidade de recursos alimentares ao longo do tempo, é crucial testar se a dinâmica da vegetação impactou a dieta alimentar dos morcegos. Além disso, essas informações são essenciais para modelar a distribuição da vegetação no futuro próximo, quando o aumento do impacto do dióxido de carbono na atmosfera e a redução nos níveis de precipitação em resposta a crescente perda de cobertura vegetal, especialmente na Amazônia, são esperados (IPCC 2021; Marengo & Souza 2018).

Durante décadas, os sedimentos lacustres foram usados para reconstruir condições paleoclimáticas e paleoambientais, pois são excelentes arquivos ambientais (Baker et al. 2001, Bush et al. 2004, Guimarães et al. 2016, Mayle et al. 2000, Paduano et al. 2003). No entanto, embora os sedimentos lacustres sejam propícios à preservação de microfósseis (por exemplo, pólen, esporos, diatomáceas, entre outros), os registros geoquímicos podem ser limitados devido a lacunas de sedimentação (Ledru et al. 1998) e à ocorrência de processos diagenéticos em ambientes lacustres (Guimarães et al. 2016, Reis et al. 2017, 2022). Além disso, os estudos anteriores limitam-se a uma discussão

geral da resposta (contração/expansão) da vegetação às mudanças climáticas sem levar em conta as redes ecológicas que compõem o ecossistema como um todo.

Depósitos de guano, por outro lado, são promissores arquivos ambientais capazes de rastrear umidade, regimes de precipitação e cobertura vegetal (Wurster et al. 2008, 2010). Ao longo de milênios, vários metros de guano podem se acumular no interior das cavernas (Piló et al. 2023), representando um excelente arquivo ambiental que tem sido cada vez mais estudado em todo o mundo (Bird et al. 2007, Carrión et al. 2006, Widga & Colburn 2015 Wurster et al 2008, 2010), porém, ainda pouco explorado no Brasil.

Embora os morcegos tenham desenvolvido uma incrível diversidade de hábitos comportamentais e alimentares ao longo da escala evolutiva (Gnaspini & Trajano 2000 Simmons & Conway 2003), suas populações são fortemente dependentes dos recursos vegetais disponíveis (Carrión et al., 2006). Em florestas tropicais, as plantas comumente usam a via fotossintética C3, com  $\delta^{13}\text{C}$  amplamente controlado pela densidade do dossel e estresse hídrico (Martinelli et al. 2009). Dosséis mais densos com menor estresse hídrico levam a valores baixos de  $\delta^{13}\text{C}$  (<27‰), enquanto dossel menos densos e com maior estresse hídrico levam a valores mais altos de  $\delta^{13}\text{C}$  (até cerca de 25‰) (Martinelli et al., 2009). Além disso, à medida que a precipitação diminui em quantidade e aumenta a sazonalidade, as florestas dão lugar a uma vegetação mais aberta, caracterizada por proporções variáveis de gramíneas usando a via C4, com valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de até 12‰ (ver Bird & Pousai 1997 para uma revisão). Considerando esses mecanismos, variações nas composições isotópicas de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ), juntamente com a análise polínica em depósitos de guano podem ser usadas para inferir mudanças locais na cobertura vegetal.

Um número crescente de estudos sobre depósitos de guano de morcegos está levando a reconstruções ambientais bem-sucedidas (Wurster et al., 2008; 2010), bem como informações exclusivas sobre mudanças nas dietas de morcegos (Lam et al. 2013). Dados paleoecológicos de depósitos de guano foram relatados por estudos anteriores na América do Norte (Batina & Reese 2011, Widga & Colburn 2015) e na Ásia (Basumatary & Bera 2014, Bird et al. 2007). Eles fornecem registros valiosos de mudanças climáticas passadas (Wurster et al., 2008) e ecologia de morcegos (Maher 2006), entre outros parâmetros ambientais ao longo dos últimos mil anos (Bird et al., 2007; Wurster et al., 2010). Em cavernas brasileiras, no entanto, registros paleoecológicos de depósitos de guano de morcego são inexistentes, o que impede um

maior entendimento de como a interação morcego-planta-clima ocorreu ao longo do tempo em *hotspots* de biodiversidade (Castuera-Oliveira et al. 2020).

Dessa forma, nosso estudo visa determinar se os depósitos de guano em cavernas podem fornecer um registro confiável das mudanças ambientais e da vegetação do entorno ao longo do tempo e avaliar a confiabilidade dos dados polínicos e isotópicos provenientes dos depósitos de guano de morcego como arquivos ambientais, a partir da comparação com estudos anteriores realizados em Carajás, sudeste do Pará.

## 2. Atividades planejadas vs. Atividades desenvolvidas

Segue abaixo a tabela com a discriminação das atividades planejadas e aquelas que foram desenvolvidas no projeto:

Tabela 1 – Discriminação das atividades planejadas e desenvolvidas ao longo do projeto.

<b>Atividades Planejadas</b>	<b>Desenvolvidas</b>
Datação C-14	<input checked="" type="checkbox"/>
Análise isotópica e elementar (C, N)	<input checked="" type="checkbox"/>
Análise de grãos de pólen	<input checked="" type="checkbox"/>
Análise geoquímica multielementar	<input checked="" type="checkbox"/>
Confecção dos modelos de idades para os perfis de guano	<input checked="" type="checkbox"/>
Cálculo das taxas de acumulação de guano	<input checked="" type="checkbox"/>
Caracterização da assembleia polínica moderna	<input checked="" type="checkbox"/>
Criação de uma coleção de referência de grãos de pólen das espécies polinizadas por morcegos	<input checked="" type="checkbox"/>
Confecção de um atlas polínico dos depósitos de guano	<input checked="" type="checkbox"/>
Identificação dos morfotipos polínicos mais abundantes nos depósitos de guano	<input checked="" type="checkbox"/>
Confecção de diagramas polínicos	<input checked="" type="checkbox"/>



### 3. Área de estudo

As cavernas estudadas estão localizadas na Serra da Bocaina, Serra Norte e Serra Sul de Carajás (6°04"S, 50°10'W; Fig. 1), um complexo de planalto que se eleva acima de uma paisagem florestal no estado do Pará, sudeste da Amazônia. A região está inserida no “corredor seco amazônico” (Bush 2017), com clima típico de monções (Am) (Alvares et al. 2013). A região vivencia duas estações bem definidas: uma chuvosa e outra seca. A precipitação total varia entre 1545 mm e 1863 mm durante a estação chuvosa (novembro a maio) e entre 159 mm e 321 mm durante a estação seca (junho a outubro) (Silva Júnior et al. 2017). A temperatura média anual é de 27,2 °C, com mínima de 26,6 °C em janeiro e máxima de 28,1 °C em setembro (Tavares et al. 2018). A vegetação atual consiste principalmente de savana (vegetação aberta e lenhosa) e formações florestais, compostas por florestas tropicais úmidas perenes (HETF), florestas semidecíduas (FDS) e manchas florestais (Guimarães et al. 2017, Nunes et al. 2015, Schaefer et al. 2015).

#### 3.1. Cavernas ferríferas e espécies de morcegos

Na região de Carajás, as cavernas são encontradas, em sua maioria, no sopé de escarpas em uma variedade de configurações paisagísticas, incluindo bordas de lagoas, escarpas no topo de planaltos e encostas coluvionares de cumes (Piló et al. 2023). Mais de 1.500 cavidades já foram descobertas na área, predominando cavernas rasas e de curta extensão (cerca de 30 m). As cavidades se formaram dentro das brechas ferruginosas, dentro da Formação Ferrífera Bandada (BIF em inglês) e em pontos de contato entre elas. Devido à proximidade com a superfície e à porosidade da canga, o gotejamento é comum no interior das cavernas (Piló et al. 2015).

A Floresta Nacional do Carajás possui 75 espécies de morcegos, divididas em oito famílias e 46 gêneros, tornando-a um dos habitats de morcegos mais diversos do mundo (Tavares et al. 2012). A família Phyllostomidae é o grupo mais representativo de morcegos (Fig. 2a-f), respondendo por mais de 75% da riqueza de quirópteros. Entre as

espécies endêmicas da Amazônia estão *Micronycteris homezorum* (Pirlot, 1967), *Phyllostomus latifolius* (Thomas, 1901), *Ametrida centurio* (Gray, 1847), *Mesophylla macconnelli* (Thomas, 1901), *Platyrrhinus brachycephalus* (Rouk e Carter, 1972), *Vampyriscus bidens* (Dobson, 1878), *Vampyriscus brocki* (Peterson, 1968) e *Lochorina aurita* (Tomes, 1863), que vive exclusivamente em cavernas e está listada como vulnerável à extinção na lista brasileira de espécies ameaçadas de extinção (MMA 2018).

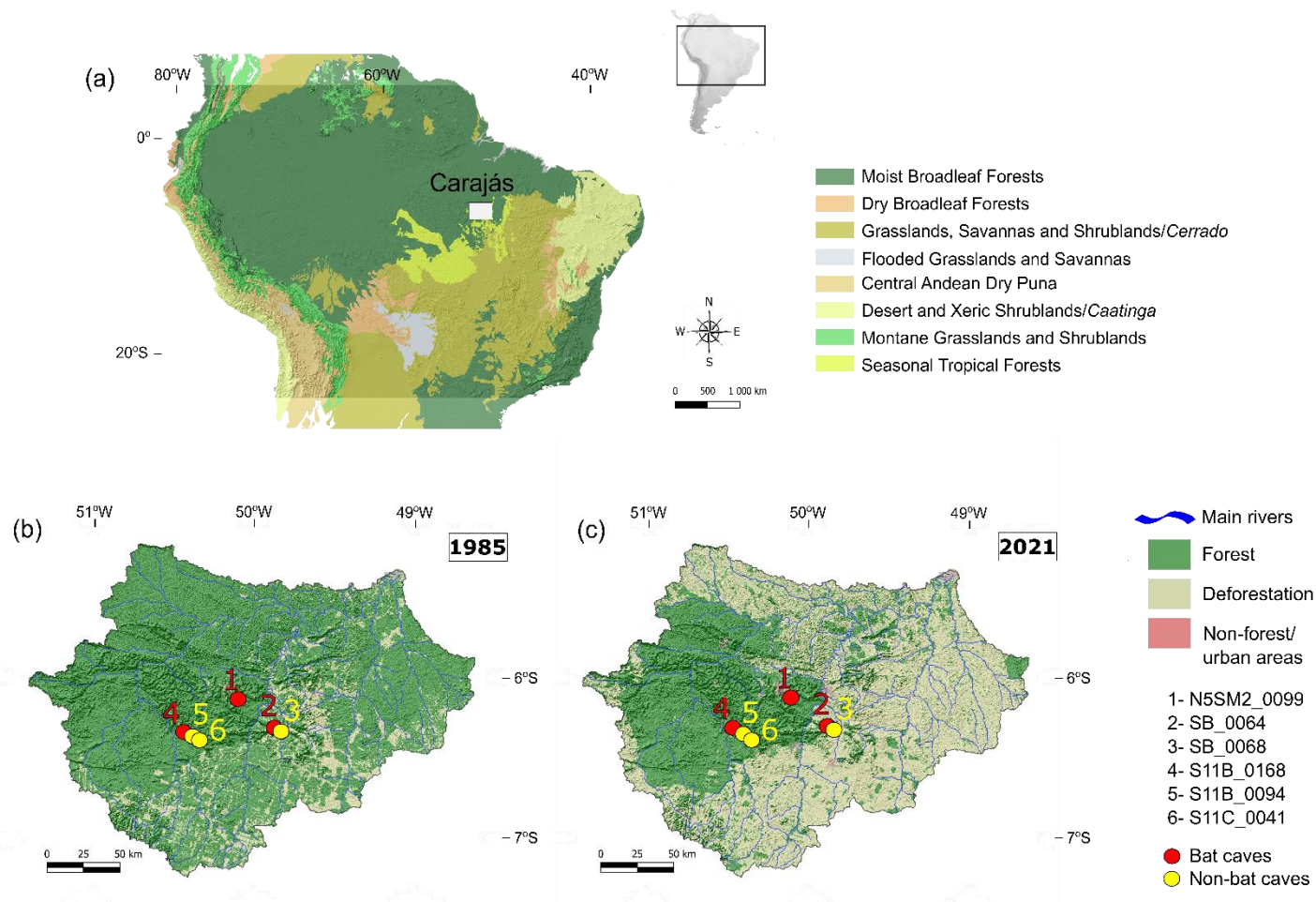


Figura 1 – Localização área de estudo (Carajás, Brasil) com (a) unidades de vegetação moderna na América do Sul tropical (Olson et al., 2001); Variação temporal e espacial da cobertura do solo (Souza-Filho et al., 2016) para os anos de 1985 (b) e 2021 (c) com a distribuição espacial das cavernas estudadas (vermelho: cavernas ativas; amarelo: cavernas inativas), no sudeste da Amazônia. Cavernas: 1- N5SM2\_0099; 2- SB\_0064; 3- SB\_0068; 4- S11B\_0168; 5- S11B\_0094; 6- S11C\_0041.

Os Vespertilionidae são a segunda família mais comum com ampla distribuição no Brasil e ocorrências fora da região amazônica, incluindo espécies como *Eptesicus brasiliensis* (Desmarest, 1819), *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) e *Lasiurus blossevillii* (Lesson & Garnet, 1826) (Fig. 2g) (Tavares et al. 2012). A família Mormoopidae inclui três espécies: *Pteronotus gymnonotus* (Natterer, 1843) (Fig. 2h), *Pteronotus personatus* (Wagner, 1843) e *Pteronotus rubiginosus* (Wagner, 1843), mas apenas esta última é considerada endêmica da Amazônia. As famílias Natalidae e Furipteridae possuem apenas uma espécie descoberta até o momento, e ambas são classificadas como vulneráveis e em risco de extinção (MMA 2018).

## **4. Materiais e métodos**

### **4.1. Amostragem**

O trabalho de campo em Carajás foi realizado entre os dias 27 de junho e 13 de julho de 2022. Seis cavernas, distribuídas na Serra da Bocaina, Serra Norte e Serra Sul de Carajás (Fig. 3), foram selecionadas. No interior das cavernas foram coletadas amostras superficiais e perfis de guano. As amostras superficiais das cinco cavernas selecionadas (SB\_0064, SB\_0068, N5SM2\_0099, S11B\_0168 e S11C\_0041; Tab. 2) foram com espátula e acondicionadas em sacos plásticos. Os perfis de guano foram coletados em quatro cavernas distintas (SB\_0064, S11B\_0168, S11B\_0094 e S11C\_0041). Para a amostragem nas cavernas SB\_0064 e S11B\_0168 utilizou-se tubos de alumínio, enquanto que nas cavernas S11B\_0094 e S11C\_0041, foram abertas trincheiras (Fig. 4).

As cavernas foram divididas em duas categorias: (1) cavernas ativas, que são colonizadas por grandes colônias de morcegos insetívoros (por exemplo, *Pteronotus personatus* e *P. gymnonotus*) chegando a centenas de milhares, e (2) cavernas inativas, que são colonizadas por pequenas populações de morcegos de diferentes espécies.



Figura 2 - Espécies de morcegos dos grupos mais representativos da Floresta Nacional do Carajás. Família Phyllostomidae: a) *Carollia perspicillata* (frugívoro); b) *Artibeus planirostris* (frugívoro); c) *Chrotopterus auritus* (carnívoro/insetívoro); d) *Desmodus rotundus* (hematófago); e) *Uroderma bilobatum* (frugívoro); f) *Lonchorhina aurita* (insetívoros); Família Vespertilionidae: g) *Lasiurus blossevillii* (insetívora); Família Mormoopidae: h) *Pteronotus gymnonotus* (insetívoro). Fonte: Tavares et al. 2012 e arquivo do primeiro autor.



Figura 3 - Imagens das cavernas ferruginosas onde foram coletadas amostras superficiais e perfis de guano. Cavernas: a) N5SM2\_0099; b) SB\_0064; c) SB\_0068; d) S11B\_0168; e) S11C\_0041; f) S11B\_0094.

Tabela 2 – Cavernas selecionadas para o estudo do guano superficial, juntamente com a localização e principais características.

Map ID	Cavernas	Municipalidade, Estado	Latitude	Longitude	Vegetação	Características
1	N5SM2_0099	Serra Norte, Parauapebas, PA	06°08'8.53"S	50°07'48.13"W	Floresta ombrófila aberta	Tipo: caverna ativa Situada na encosta do platô, na transição savana-floresta; caverna colonizada predominantemente por morcegos insetívoros ( <i>Pteronotus gymnonotus</i> and <i>Pteronotus personatus</i> )
2	SB_0064	Serra da Bocaina, Canaã dos Carajás, PA	06°16'36.72"S	49°55'3.76"W	Floresta ombrófila aberta	Tipo: caverna ativa Situada na encosta do platô, na transição savana-floresta; caverna colonizada predominantemente por morcegos insetívoros ( <i>Pteronotus gymnonotus</i> and <i>Pteronotus personatus</i> )
3	SB_0068	Serra da Bocaina, Canaã dos Carajás, PA	06°16'36.53"S	49°55'3.60"W	Floresta ombrófila aberta	Tipo: caverna inativa Situada na encosta do platô, na transição savana-floresta; caverna colonizada por pequenos grupos de diferentes espécies de morcegos
4	S11B_0168	Serra Sul, Canaã dos Carajás, PA	06°20'13.80"S	50°25'15.56"W	Floresta ombrófila aberta	Tipo: caverna ativa Situada na encosta do planalto, na transição savana-floresta; caverna colonizada predominantemente por morcegos insetívoros ( <i>Pteronotus gymnonotus</i> and <i>Pteronotus personatus</i> )
5	S11B_0094	Serra Sul, Canaã dos Carajás, PA	06°20'56.67"S	50°23'36.51"W	Floresta ombrófila aberta	Tipo: caverna inativa Situada na encosta do platô, na transição savana-floresta; caverna colonizada por pequenos grupos de diferentes espécies de morcegos
6	S11C_0041	Serra Sul, Canaã dos Carajás, PA	06°22'56.56"S	50°22'50.87"W	Floresta ombrófila aberta	Tipo: caverna inativa Situada na encosta do platô, na transição savana-floresta; caverna colonizada por pequenos grupos de diferentes espécies de morcegos

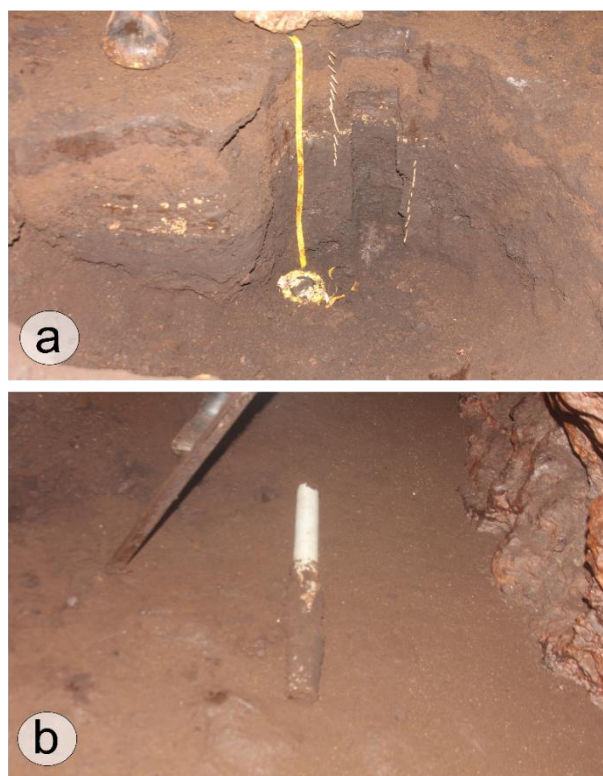


Figura 4 – Métodos de amostragem dos perfis de guano. a) Abertura de trincheiras; b) Tubos de alumínio.

## **Atividades laboratoriais**

### **4.2.1. Análise palinológica**

As amostras (1 cm<sup>3</sup>) foram processadas utilizando o protocolo proposto por Reis et al. (2023). Nesse método, o guano de morcego foi tratado duas vezes com KOH quente a 5% por 3 min, enxaguado até o sobrenadante ficar claro e depois tratado com acetólise. Foi adicionado álcool absoluto nas amostras após o tratamento químico. Os resíduos foram concentrados, desidratados e colocados em glicerina (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>(OH)<sub>3</sub>) para armazenamento. Um comprimido de *Lycopodium clavatum* L. (Stockmarr 1971) foi adicionado como marcador exótico para acesso às concentrações absolutas de pólen e à intensidade do tratamento químico.

A contagem e identificação de pólen e esporos foram realizadas no Laboratório de Micropaleontologia (IGc/USP) utilizando um microscópio óptico de luz transmitida (Zeiss Axiolab 5, Axiocam 208 color; Fig. 5) com ampliações de 400x e 1000x,

respectivamente. Literatura de referência (Carreira & Barth 2003, Colinvaux et al. 1999, Roubik & Moreno 1991) e coleções do ITV/GABAN-VALE e Laboratório de Micropaleontologia/USP foram utilizadas para identificar os palinomorfos. O software Tilia e Tiliagraph (Grimm, 2019) foi utilizado para calcular e traçar os diagramas polínicos. Para criar a assembleia polínica, foram contados pelo menos 300 grãos de pólen, excluindo esporos de samambaias e fungos. Os táxons polínicos recuperados foram divididos em cinco grupos: arbóreos (árvores e arbustos), pioneiros, lianas, táxons não arbóreos (plantas herbáceas), palmeiras e pteridófitas.



Figura 5 - Microscópio óptico (Zeiss) usado na contagem e identificação dos grãos de pólen preservados no guano.

#### 4.2.2. Análise isotópica e elementar

Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  dos sedimentos foram determinados no Laboratório de Isótopos Estáveis, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo (USP), utilizando um Espectrômetro de massa ANCA SL 2020. Os valores de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) são expressos como porcentagem de peso seco e os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  são expressos em por mil (‰) em relação ao

padrão internacional VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite) e Ar Atmosférico, respectivamente, com uma precisão analítica de 0,2%.

#### 4.2.3. Análise geoquímica multielementar (XRF)

As variações elementares dos perfis (SB\_0064 e S11B\_0168) foram medidas por um scanner de fluorescência de raios X (Tracer III-SD), no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). Os segmentos centrais foram cobertos com filme de polipropileno de alta pureza e depois escaneados com resolução de 1 cm e fonte de raios X de ródio. As execuções foram realizadas a 35 kV, 7  $\mu$ A e 15 segundos de tempo de exposição para os elementos Al, Si, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Zn, Rb, Sr, Zr. As intensidades elementares medidas foram todas plotadas como proporções em vez de concentrações absolutas, para evitar o efeito de soma fechada (Weltje & Tjallingii 2008).

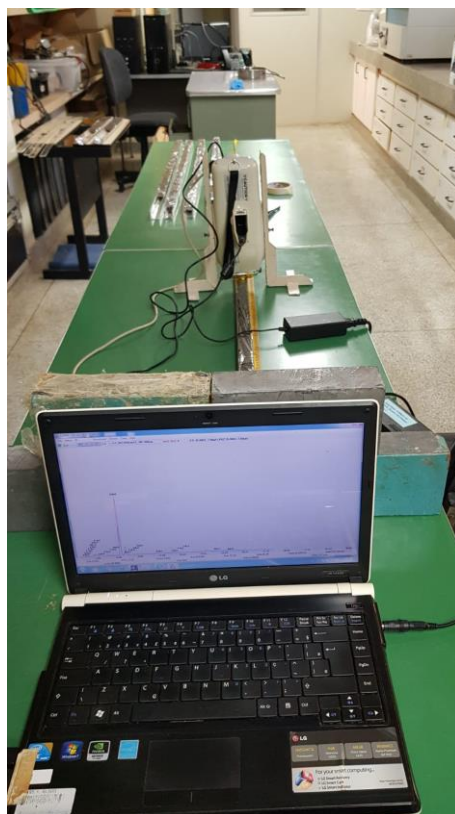


Figura 6 – Imagem do equipamento de Fluorescência de Raios-X (XRF).

#### 4.2.4. Datação Radiocarbono ( $^{14}\text{C}$ )

Amostras dos perfis de guano foram coletadas no Laboratório de Micropaleontologia (IGc/USP) e encaminhadas para o Laboratório C-14 (CENA/USP), onde as amostras passaram pelas etapas de processamento químico e grafitação. Posteriormente, as datações por radiocarbono foram realizadas nas instalações do Laboratório de Datação Radiocarbono, na Universidade da Geórgia (GA, EUA), por espectrometria de aceleração de massa (AMS). As idades de radiocarbono estão expressas como anos calibrados Antes do Presente (ano cal BP) normalizado a um  $\delta^{13}\text{C}$  de -25 ‰ (VPDB) (Stuiver & Polach 1977). O modelo de idades com a profundidade (Blaauw & Christen 2011), baseado na acumulação Bayesiana, foi realizado através do pacote Bacon do software R (R Development Core Team, 2013).

#### 4.2.5. Análise de DNA metabarcoding

A análise de DNA foi realizada apenas nos materiais mais preservados e com mais chances de sucesso, isto é, nos perfis S11C\_0041 e SB\_0064.

##### *Extração de DNA*

A extração do DNA das amostras de guano de morcego seguiu o recomendado pelo protocolo da fabricante do kit *DNeasy Power Soil Pro* (QIAGEN), utilizando 250 mg. A qualidade e quantidade de DNA extraído foi verificada no fluorímetro *Quantus*® (Promega) e por espectrofotometria em *Nanodrop*™ (Thermo Fisher Scientific).

##### *Amplificação de fragmentos*

O DNA extraído de cada amostra foi utilizado em reações de amplificação por PCR, utilizando a enzima high-fidelity Pfu DNA Polimerase (Promega) e primers (Tab. 2) para obtenção das regiões 12S (vertebrados) e ITS1/ITS2 (plantas). Os produtos da PCR foram verificados em gel de agarose e purificados utilizando beads magnéticas.

Para a região ITS em plantas, optou-se por fazer um pool de ITS1 e ITS2, dado que não se teve uma amplificação de sucesso com o DNA obtido nas amostras de guano de morcego para a região ITS integralmente, usando apenas um par de primers.

Tabela 2 – Sequência dos primers utilizados na amplificação das regiões alvo.

Alvo/Domínio	Nome do oligo	Sequência do oligo (5'-3')	Tamanho esperado do produto (pares de bases – pb)
12s (Vertebrados) <sup>1</sup>	12s_univ_F	AAAGCTTCAAACCTGGGATTAGATACC	~430 pb
	12s_univ_R	ACTGCAGAGGGTGACGGGCGGTGTGT	
ITS1 <sup>2</sup>	ITS-p5	CCTTATCAYTTAGAGGAAGGAG	~380 pb
	ITS-u2	GCGTTCAAAGAYTCGATGR TTC	
ITS2 <sup>2</sup>	ITS-p3	YGACTCTCGGCAACGGATA	~450 pb
	ITS-u4	RGTTTCTTTTCCTCCGCTTA	

1 Liu X, Du W, Wang C, Wu Y, Chen W, Zheng Y, Wang M, Liu H, Yang Q, Qian S, Chen L, Liu C. (2023) A multilocus DNA mini-barcode assay to identify twenty vertebrate wildlife species. *iScience* 26(11):108275.

2 Cheng T., Xu C., Lei L., Li C., Zhang Y., Zhou S. (2016). Barcoding the kingdom plantae: New PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. *Molecular Ecology Resources* 16(1):138–149.

#### *Preparação de biblioteca e sequenciamento de DNA*

Como estratégia ao insucesso obtido via plataforma Illumina, optou-se por gerar as informações a partir de sequenciamento em plataforma Oxford Nanopore Technologies (ONT). Os produtos purificados da PCR foram quantificados e utilizados na construção de uma biblioteca para sequenciamento do DNA em plataforma MinION (ONT). A biblioteca foi preparada com os kits de barcoding (EXP-PBC096) e ligação da ONT (SQK-LSK114) e enzimas da New England Biolabs - NEB.

A biblioteca preparada foi aplicada na Flow Cell R10.4.1 (ONT), inserida no dispositivo MinION (ONT) para o sequenciamento de DNA. Parâmetros de leitura e de qualidade de dados foram determinados no software de corrida e de análises MinKNOW (ONT) e, ao final do sequenciamento, os dados gerados seguiram para análises de bioinformática.

#### *Análise de Bioinformática*

Após o basecalling no modo fast, arquivos em fastq foram demultiplexados utilizando a ferramenta qcat v1.1.0 (<https://github.com/nanoporetech/qcat>). Os arquivos demultiplexados, ou seja, separados por amostras foram avaliados quanto a qualidade, tamanho de sequências e outras métricas utilizando a plataforma seqkit 2.3.1 (<https://github.com/shenwei356/seqkit>) e NanoPlot 1.0.0 (<https://github.com/wdecoster/NanoPlot>).

#### 4.2.6. Análises estatísticas

Para avaliar a simetria e semelhanças entre os dados polínicos, foram realizados histogramas e correlações (e.g. Pearson). O método de análise multivariada, como análise fatorial, também foi realizado para melhor visualizar a associação das assembleias polínicas dentro e entre cavernas. O método de extração foi a análise de componentes principais, e a rotação ortogonal varimax foi usada para simplificar os padrões de carga fatorial. As análises estatísticas foram realizadas usando dados padronizados e transformados em log no software Past (versão 4.11). Os gráficos obtidos foram importados para o Inkscape para pequenas edições.

## 4. Resultados e discussões

Quanto aos resultados planejados, vale destacar que dentre os quatro depósitos de guano coletados, dois perfis apresentaram grãos de pólen bem preservados, enquanto que os outros dois perfis das cavernas S11B\_0094 (105 cm) e S11B\_0168 (31 cm) apresentaram grãos de pólen muito degradados com boa preservação apenas nas camadas superficiais. Além das análises previstas, optou-se também por realizar a análise de DNA Metabarcoding com o intuito de identificar variações na composição das espécies de morcegos ao longo do tempo, bem como inferir mudanças na dieta alimentar.

### 4.1. Dados polínicos

#### 4.1.1. Guano superficial

Um total de 104 morfotipos foram identificados nas amostras das cinco cavernas estudadas (N5SM2\_0099, SB\_0064, SB\_0068, S11B\_0094 e S11B\_0168), dentre eles 78 elementos arbóreos e 12 herbáceos. Elementos arbóreos predominam nas amostras

modernas de guano de morcego, seguidos por formações pioneiras, táxons não-arbóreos, palmeiras e cipós. Táxons arbóreos com valores de até 97,1% incluem Moraceae/Urticaceae, Melastomataceae/Combretaceae, Malvaceae, *Mabea*, *Senna*, *Ceiba* e *Caryocar villosum*. Elementos pioneiros como *Cecropia*, *Alchornea*, *Piper* e *Schefflera* tiveram valores variando de 0,9% a 59,6%. Elementos não arbóreos como Poaceae, *Borreria*, *Mimosa* e Asteraceae exibiram valores de até 58,2%. Palmeiras (0–8%) e cipós (0–3%) também são encontradas nos depósitos de guano. Entre os morfotipos menos abundantes e que não foram incluídos no diagrama polínico estão *Sloanea*, *Cordia*, *Piptadenia*, *Licania*, *Roupala*, *Genipa*, *Clusia*, *Acalypha*, *Justicia*, *Alternanthera* e *Philodendron*. O diagrama polínico para as amostras superficiais pode ser observado na Fig. 7.

#### *Caverna S11C\_0041 (Inativa)*

O espectro polínico é dominado por táxons arbóreos que representam 88,4–96,3% da soma total de pólen (Fig. 7). Os principais táxons arbóreos incluem *Senna* (20–527,2%), *Caryocar villosum* (15,6–24,9%), *Ceiba* (14,9–21,7%), *Bauhinia* (7–11%) e *Pseudobombax* (5,9–9,4%). A proporção de táxons pioneiros varia de 1,1 a 4,9%, representados principalmente por *Alchornea* (0,3–3,9%). Lianas, táxons não arbóreos e palmeiras apresentam baixa abundância de pólen (<4%). A concentração de pólen atinge ~444.000 grãos/cm<sup>3</sup> (Fig. 8).

#### *Caverna SB\_0068 (Inativa)*

Os táxons arbóreos dominam a assembleia polínica da caverna SB\_0068 (Fig. 7), representando 91,1–97,1% da soma total de pólen. Entre os táxons dominantes estão *Mabea* (55,4–69,5%), *Senna* (3,8–13,4%), *Abutilon* (0–14,9%) e *Bauhinia* (3,2–8,3%). Os pioneiros são representados principalmente por *Cecropia* (0–4,4%) e *Alchornea* (0–1,3%), enquanto lianas, táxons não-arbóreos e palmeiras representam menos de 3% da soma total de pólen. A concentração de pólen sobe para ~270.000 grãos/cm<sup>3</sup> (Fig. 8).

#### *Caverna S11B\_0168 (Ativa)*

A assembleia polínica da caverna S11B\_0168 (Fig. 7) é dominada por elementos arbóreos (38,5–53,7%), compostos por Moraceae/Urticaceae (1–22,9%), *Pouroma* (4,9–6,5%) e Melastomataceae/Combretaceae (5,3–6,8%). Os pioneiros (*Cecropia*, *Alchornea*, *Piper* e *Schefflera*) representam 34–50,8% da soma total de pólen, seguidos

por táxons não arbóreos (4,9–10,5%) e palmeiras (1,7–5,3%). Nenhum táxon de liana foi encontrado. A concentração de pólen sobe para ~131.000 grãos/cm<sup>3</sup> (Fig. 8).



*Caverna N5SM2\_0099 (Ativa)*

A caverna N5SM2\_0099 exhibe dominância de táxons arbóreos (29–57,5%), com *Molopanthera* (6,2–10,2%), Melastomataceae/Combretaceae (5,1–9,7%) e *Pouteria* (4,7–6,4%) como os principais tipos de pólen (Fig. 7). Os pioneiros são o segundo grupo mais representativo (29,7–59,6%), com *Cecropia* (23,4–56,7%) e *Alchornea* (2,9–7%) como os táxons dominantes. A abundância de táxons não-arbóreos (Poaceae, *Borreria* e Asteraceae) e palmeiras (*Attalea*) chega a 9% e 5,1%, respectivamente. Lianas apresentam baixa abundância de pólen (<3%). A concentração de pólen é inferior a ~49.000 grãos/cm<sup>3</sup> (Fig. 8).

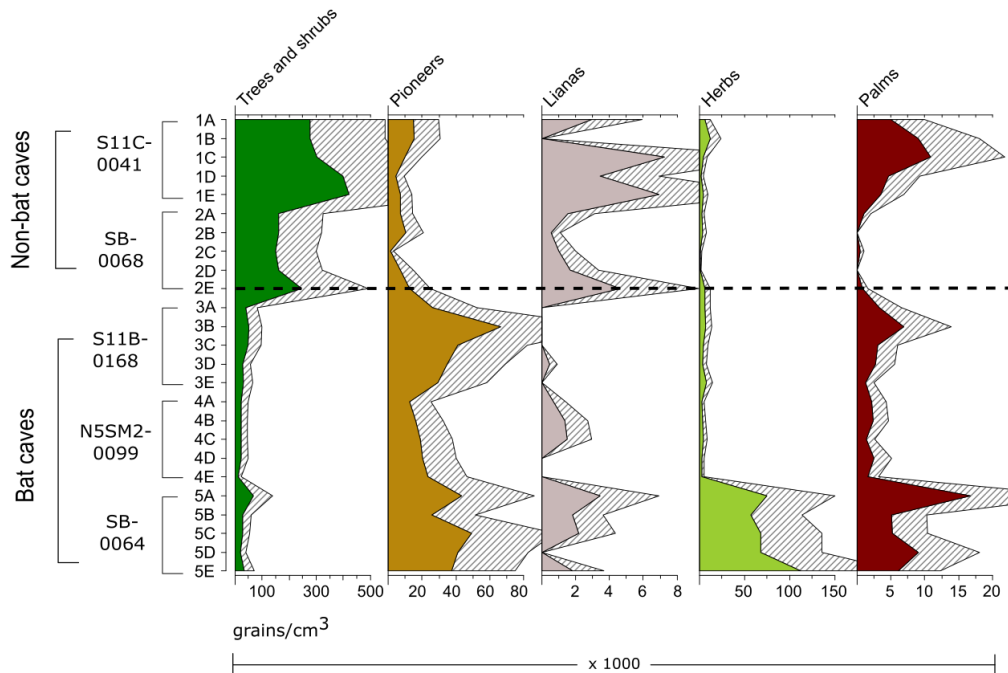


Figura 8 – Diagrama de concentração polínica para cada grupo ecológico baseado em amostras superficiais de guano.

### *Caverna SB\_0064 (Ativa)*

O espectro polínico (Fig. 7) é dominado por táxons não-arbóreos (36,2–58,2%), representado por *Borreria* (25,8–40,8%), Poaceae (3,4–14,6%) e Asteraceae (2,6–6,4%). Os elementos arbóreos representam 33,2% da soma polínica total, com predominância de Moraceae/Urticaceae (3–5,7%), *Pouroma* (0–5%) e *Gouania* (0–3,7%) e *Tapirira guianensis* (0–3,7%). Os elementos pioneiros (19,4–32,2%) são compostos por *Cecropia* (15,5–29,7%), *Alchornea* (0,6–4,6%), *Schefflera* e *Solanum* (<1%). Palmeiras (3,1–8%) e cipós (0–1,6%) também estão presentes. A concentração de pólen sobe para ~207.000 grãos/cm<sup>3</sup> (Fig. 8).

### *Dados estatísticos*

A correlação de Pearson mostrou uma correlação forte ( $r = 0,99-1$ ) entre amostras de guano de morcego. A análise PCA para as amostras superficiais de guano mostra dois grupos distintos no espaço de ordenação (Fig. 9). O Grupo 1 tem pontuações positivas no eixo componente 2. É composto pela caverna de morcegos SB\_0064 e está principalmente associado a elementos pioneiros (por exemplo, *Cecropia*, *Alchornea*) e não-arbóreos (ervas), por exemplo, *Borreria* e Poaceae (Fig. 9a, b). O Grupo 2, que apresenta pontuações positivas no componente eixo 1, é composto por cavernas remanescentes (N5SM2\_0099, S11B\_0168, SB\_0068 e S11C\_0041) e fortemente aparentadas com arbóreas (*Mabea*, *Caryocar*, *Ceiba*, *Senna*, Melastomataceae/Combretaceae e *Pseudobombax*), pioneiras, cipós e elementos de palmeira (Fig. 9a, b). Apesar da baixa correlação entre os registros de pólen de cavernas ativas e cavernas inativas (Fig. 9c), todas as amostras superficiais de guano apresentam uma maior diversidade de elementos florestais em comparação com táxons não-arbóreos. Além disso, as cavernas ativas apresentaram maior riqueza de espécies (até 52 táxons) em comparação com cavernas inativas (até 44 táxons).

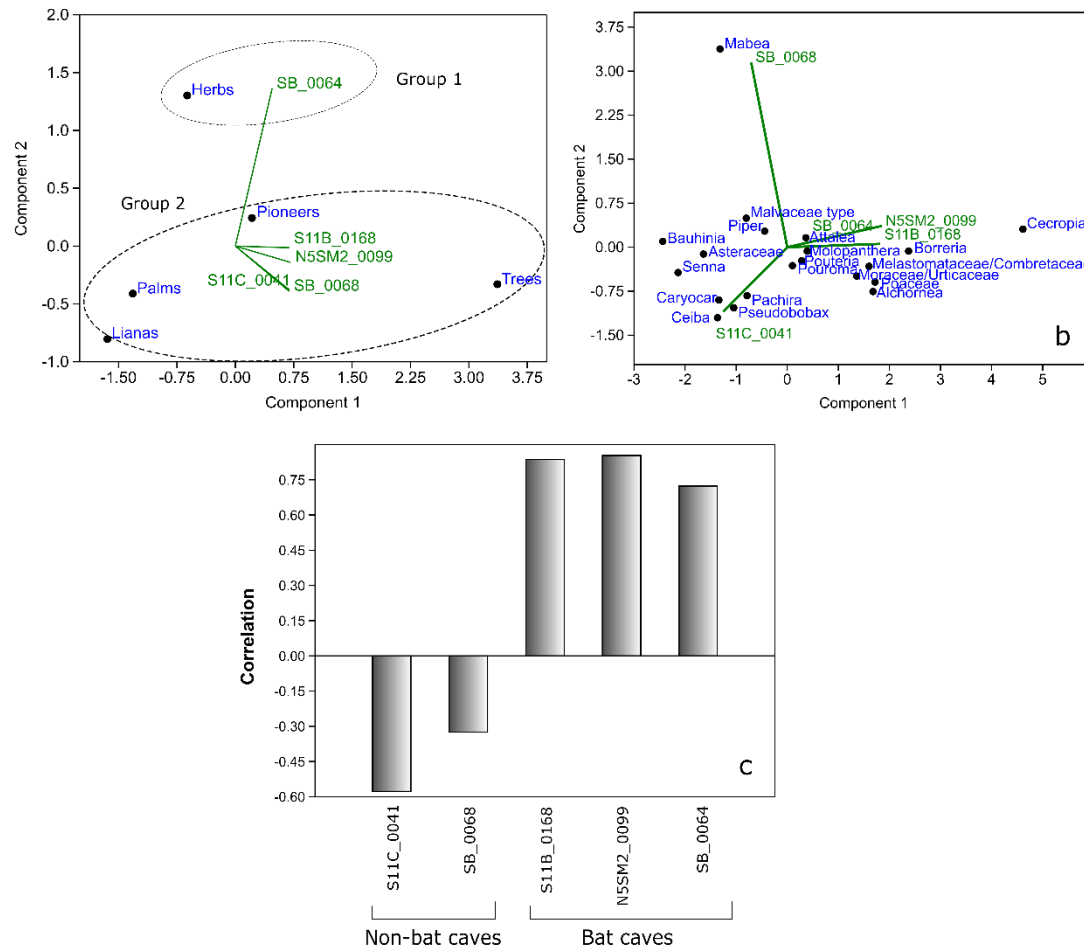


Figura 9 – Comparação entre amostras superficiais de guano de morcego em cavernas ferruginosas, no sudeste da Amazônia. a) Análise PCA das considerando os grupos ecológicos; b) análise PCA dos táxons polínicos encontrados nas amostras; c) análise de correlação entre as cavernas ativas e inativas.

### *Fatores que influenciam o transporte e deposição de pólen em depósitos de guano*

Apesar do fato de os táxons arbóreos prevalecerem em todas as cavernas, a composição e abundância do pólen diferem entre cavernas ativas e inativas. Táxons pioneiros e não arbóreos, por exemplo, são comuns em cavernas ativas (N5SM2\_0099, S11B\_0168 e SB\_0064) onde predominam morcegos insetívoros, refletindo a ingestão de pólen por insetos-presas (Pendleton et al. 1996), bem como as zonas de forrageamento que incluem vegetação fechada e aberta (Jeyaprabha et al. 2023). A dominância de táxons florestais em cavernas inativas (SB\_0068 e S11C\_0041) está fortemente ligada à estratégia de forrageamento (por exemplo, fitófaga) dos morcegos que habitam essas duas cavernas. Portanto, como a vegetação nas entradas de todas as cavernas é de floresta aberta, podemos sugerir que as variações nas assembleias polínicas das cinco cavernas refletem principalmente a dieta dos morcegos ao invés da flora adjacente.

Em geral, os morcegos fitófagos consomem uma variedade de frutas e flores que estão disponíveis para suas necessidades de forrageamento, incluindo espécies de plantas que não apresentam sinais de relação específica com os morcegos (Heithaus 1982). Como a disponibilidade de alimentos é determinada por padrões fenológicos, como a quantidade de pólen, néctar ou frutos maduros produzidos por planta por noite, as estratégias de forrageamento dos morcegos podem mudar sazonalmente e geograficamente, resultando em uma dieta mais ampla (incluindo insetos) em vez de uma dieta mais especializada (York & Billings 2009). Certos filostomídeos, por exemplo, incluindo *Glossophaga soricina* e *Phyllostomus hastatus*, são onívoros, alimentando-se de néctar, frutas, insetos e, no caso de *P. hastatus*, vertebrados (Fleming 1982). Da mesma forma, os morcegos insetívoros podem ter uma dieta mais específica e preferir um determinado grupo de insetos (por exemplo, Lepidoptera e Coleoptera; Kolkert et al. 2020). Mas quando a comida é escassa e ocorre uma diminuição na abundância de presas entre as estações seca e chuvosa, os morcegos insetívoros podem mudar a sua estratégia de alimentação, alimentando-se de qualquer inseto que esteja disponível (Willig et al. 1993). Esta mudança no comportamento de forrageamento dos morcegos pode ser refletida na assembleia de pólen observada no guano, presumivelmente devido a um aumento na riqueza do tipo de pólen como resultado de uma variedade mais ampla de insetos (polinizadores) em sua dieta.

A presença de uma infinidade de espécies de plantas entomófilas nas cinco cavernas indica uma alta incidência de insetos polinizadores na dieta dos morcegos. A mariposa, por exemplo, é ingerida pelo morcego durante o deslocamento e, quando o morcego retorna ao abrigo, elimina restos de insetos e grãos de pólen não digeridos. No caso de espécies polinizadas por morcegos (por exemplo, *Bauhinia*, *Caryocar*, *Hymenaea*, *Parkia*, *Pseudobombax*), comumente encontradas nas cavernas inativas SB\_0068 e S11C\_0041, o transporte e a deposição de grãos de pólen são provavelmente devidos ao contato direto dos morcegos com a planta na busca por alimentos (pólen ou néctar). Portanto, dada a importância dos morcegos na entrega de grãos de pólen para as cavernas estudadas, assumimos que o transporte de pólen via transporte aéreo (vento) e aquático (percolação) para o interior das cavernas é mínimo.

*O potencial dos espectros polínicos de depósitos de guano na Amazônia como registro de mudanças na cobertura vegetal*

Em termos de concentração geral e riqueza polínica, que inclui táxons (e.g., *Caryocar*, *Bauhinia*, *Parkia*) normalmente sub-representados em sedimentos, as amostras de guano provenientes de cavernas ferríferas na Amazônia têm grande potencial e podem ser indicadores ambientais valiosos para registrar uma ampla variedade de espécies de plantas. Os dados polínicos aqui apresentados revelam que, nas cinco cavernas estudadas (ativas e inativas; amostras modernas e antigas), a maior parte da assembleia polínica é dominada por táxons florestais, que apresentam maior diversidade polínica (>30 táxons polínicos) em comparação com elementos não arbóreos (até 8 táxons de pólen). Entre os elementos arbóreos, o guano de morcego reflete capões florestais compostos por *Alchornea* e *Miconia* (Guimarães et al., 2017). A presença de táxons perenes como *Caryocar*, *Parkia*, *Ceiba*, *Pouteria* e *Ficus* pode ser um bom indicador da densa cobertura florestal e das condições climáticas húmidas presentes na região. A ocorrência de pólen de *Mucuna* e *Serjania* (lianas) é bastante relevante e reflete o desenvolvimento de florestas ombrófilas abertas próximas às cavernas.

A presença de táxons de palmeiras (e.g., *Attalea*), embora comumente associada a ambientes pantanosos, é um bom indicador de florestas abertas em áreas úmidas onde são encontradas com mais frequência (Hiura & Da Rocha 2018). Além disso, *Attalea* também pode indicar perturbação ambiental devido à sua importância econômica e

cultural. Os táxons não arbóreos, por sua vez, são bons indicadores de vegetação aberta, seja associada à vegetação de canga (savana), no topo do platô, ou à abertura de vegetação causada por atividades antrópicas. Dentre as cavernas investigadas, o depósito de guano na caverna SB\_0064 apresentou a maior abundância de espécies não arbóreas e elementos pioneiros, refletindo uma abertura na paisagem em decorrência do crescimento de fazendas e áreas urbanas próximas ao Parque Nacional dos Campos Ferruginosos e a Floresta Nacional do Carajás nas últimas décadas.

#### 4.1.2. Perfis de guano

##### *Caverna SB\_0064*

Ao todo foram encontrados 138 morfotipos polínicos no perfil coletado na caverna SB\_0064. Porém, apenas os táxons que apresentaram contagem superior a cinco grãos por amostra foram incluídos no diagrama polínico. De forma geral, a assembleia polínica é dominada por elementos arbóreos (24.9-84.9%), seguidos por táxons não-arbóreos (2.7-43.6%), palmeiras (0-36.1%) e plantas pioneiras (6.1-32.5%). Considerando o grau de similaridade entre as diferentes profundidades, o perfil foi dividido em duas zonas polínicas (I e II; ver Figura 10).

A zona polínica I, que compreende os intervalos de 36 a 18 cm, é caracterizada pela predominância de elementos arbóreos (64.0-84.9%), entre os táxons mais abundantes estão Moraceae/Urticaceae (1.8-57.7%), Melastomataceae/Combretaceae (0-40.7%), Burseraceae (0-21.1%), *Molopanthera* (19.7-49.1%), *Protium* (0.8-68.5%), *Sloanea* (8-38%), *Pouroma* (3.8-22.2%), *Zanthoxylum* (2.6-53.7%), *Parkia* (0-12.5%), *Chrysophyllum* (0.8-14.8%) e *Soroceae* (4.7-20.5%). A proporção de plantas pioneiras variou de 8.4 a 32.5% e é principalmente composta por *Cecropia* (29.5-67.8%), *Piper* (0-17.1%), *Schefflera* (0-8.5%) e *Alchornea* (1.8-7%). As ervas (2.7-12%) são compostas por Poaceae (1.2-14%), Cyperaceae (0-11.1%) e *Voyria* (0-5.5%). Pteridófitas (0-1.1%) e lianas (0.3-2.3%) também estão presentes na assembleia polínica. A concentração polínica variou de 10170 a 23330 grãos por cm<sup>3</sup>.

Na zona polínica II, que compreende os intervalos de 18 a 0 cm, ocorre uma importante mudança na assembleia polínica. Nessa fase observa-se um declínio na abundância e riqueza de elementos arbóreos (24.9-51.5%), compostos predominantemente por Burseraceae (0-26.1%), Moraceae/Urticaceae (2.5-15.9%), *Sloanea* (1.2-16.6%) e *Zanthoxylum* (0-12.1%). Por outro lado, ocorre um aumento na abundância e riqueza de elementos típicos de vegetação aberta, tais como ervas e palmeiras. Entre as ervas (6.9-43.6%) estão Poaceae (2.3-38.2%), *Borreria* (0-27.2%) e Cyperaceae (2.3-13.1%). A proporção de palmeiras variou de 5.4 a 36.1%, sendo representada por *Euterpe* (0-21.4%), *Syagrus* tipo 2 (0-14.2%) e *Attalea insignis* (0-16.6%). As plantas pioneiras (6.1-13.8%) estão representadas por *Cecropia* (1.8-17.3%) e *Alchornea* (2.2-5.7%). Lianas representam menos de 2% da assembleia polínica. A concentração polínica variou de 2254 a 18187 grãos por cm<sup>3</sup>.

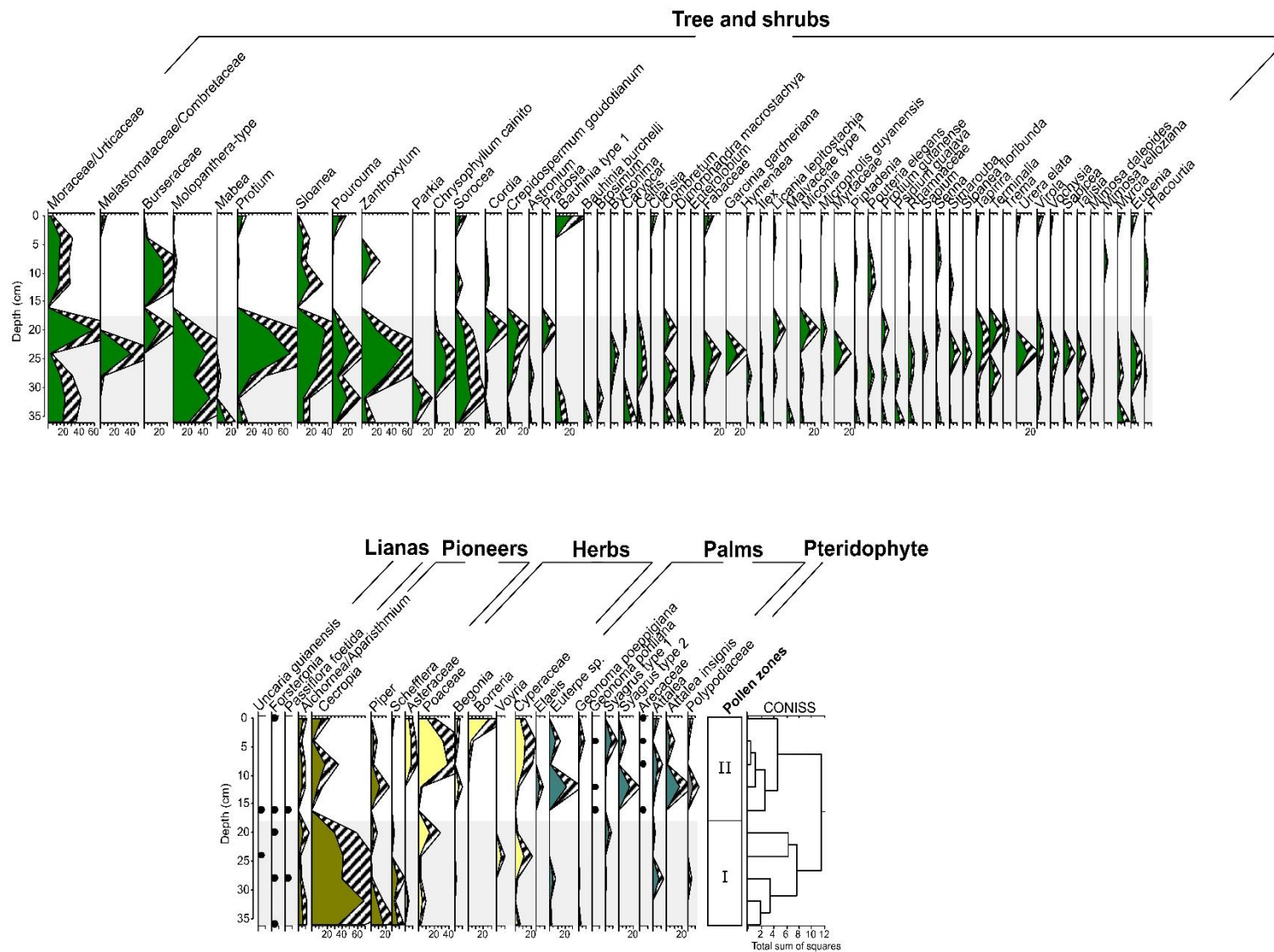


Figura 10 – Diagrama polínico do perfil de guano da caverna SB\_0064. Os táxons encontrados estão agrupados de acordo com a afinidade ecológica: arbóreos, lianas, pioneiras, táxons não-arbóreos (ervas) e palmeiras. Os pontos pretos representam porcentagens inferiores a 2%.

### *Caverna S11C\_0041*

Ao todo foram encontrados 151 morfotipos polínicos no perfil coletado na caverna S11C\_0041. Como destacado anteriormente, apenas os táxons com contagem superior a cinco grãos por amostras foram incluídos no diagrama polínico. De forma geral, houve uma dominância de elementos arbóreos (20-92.3%), seguidos por ervas (0-60%) e palmeiras (0-55.5%). Considerando o grau de similaridade entre as diferentes profundidades, o perfil foi dividido em três zonas polínicas (I, II e III; ver Figura 11).

A zona polínica I, que compreende os intervalos entre 50 e 40 cm, é caracterizada pela abundância relativamente alta de elementos arbóreos (20-71.3%), porém baixa riqueza (n=14). Nessa fase há também uma importante contribuição de ervas (0-60%), compostas por Poaceae (0-40%) e Cyperaceae (0-20%) e palmeiras (1.4-55.5%), representadas por *Euterpe* (1.1-44.4%) e *Attalea* (0-11.1%). Nessa fase encontra-se a maior contribuição de pteridófitas (0-28.5%), composta por *Trilete* (0-28.5%) e *Polypodiaceae* (0-16.6%). Pioneiras (0-18.2%) e lianas (0-1.1%) também compõem a assembleia polínica. A concentração polínica variou de 834 a 63742 grãos por cm<sup>3</sup>

A zona polínica II, que compreende os intervalos de 40 a 14 cm, é fortemente marcada pelo aumento na abundância e riqueza de todos os grupos ecológicos, exceto pelas pteridófitas. A contribuição de elementos arbóreos variou de 33.3 a 92.3%, com predominância de *Moraceae/Urticaceae* (0-66.6%), *Fabaceae* (0-24.6%), *Senna* (0-23%), *Sloanea* tipo 1 (0-16.1%) e tipo 2 (0-9.1%) e *Jacaranda* (0-12.3%); além de uma riqueza superior (n=47) a zona anterior. Nessa fase ocorre também uma contribuição relevante de lianas (0-33.3%; *Cissampelos*, *Forsteronia* e *Abuta*), seguidas de pioneiras (0-27.4%; *Cecropia*, *Piper* e *Alchornea*), palmeiras (0-26.3%; *Euterpe*, *Geonoma*, *Syagrus*, *Attalea*, *Arecaceae*) e ervas (0-18.5%; *Poaceae*, *Begonia*, *Asteraceae*, *Cyperaceae*). A concentração polínica variou de 834 a 169167 grãos por cm<sup>3</sup>

A zona polínica III, que compreende os intervalos de 14 a 0 cm, é caracterizada pela alta abundância de elementos arbóreos (39.5-90.3%), com riqueza similar (n=48) a zona anterior. Entre os elementos arbóreos mais abundantes estão *Eriotheca* (1.1-31.6%), *Moraceae/Urticaceae* (0-15%) e *Senna* (0-17.3%). Outra característica marcante dessa fase é a importante contribuição de táxons zoófilos (insetos e morcegos), tais como *Chrysophyllum* (0-12.5%), *Tabebuia* (0-12.5%), *Caryocar* (0-11%), *Sloanea* tipo 2 (0-9.6%), *Hymenaea* (0-9.1%), *Ceiba* (0-5.6%) e *Bauhinia* (0-4.5%).

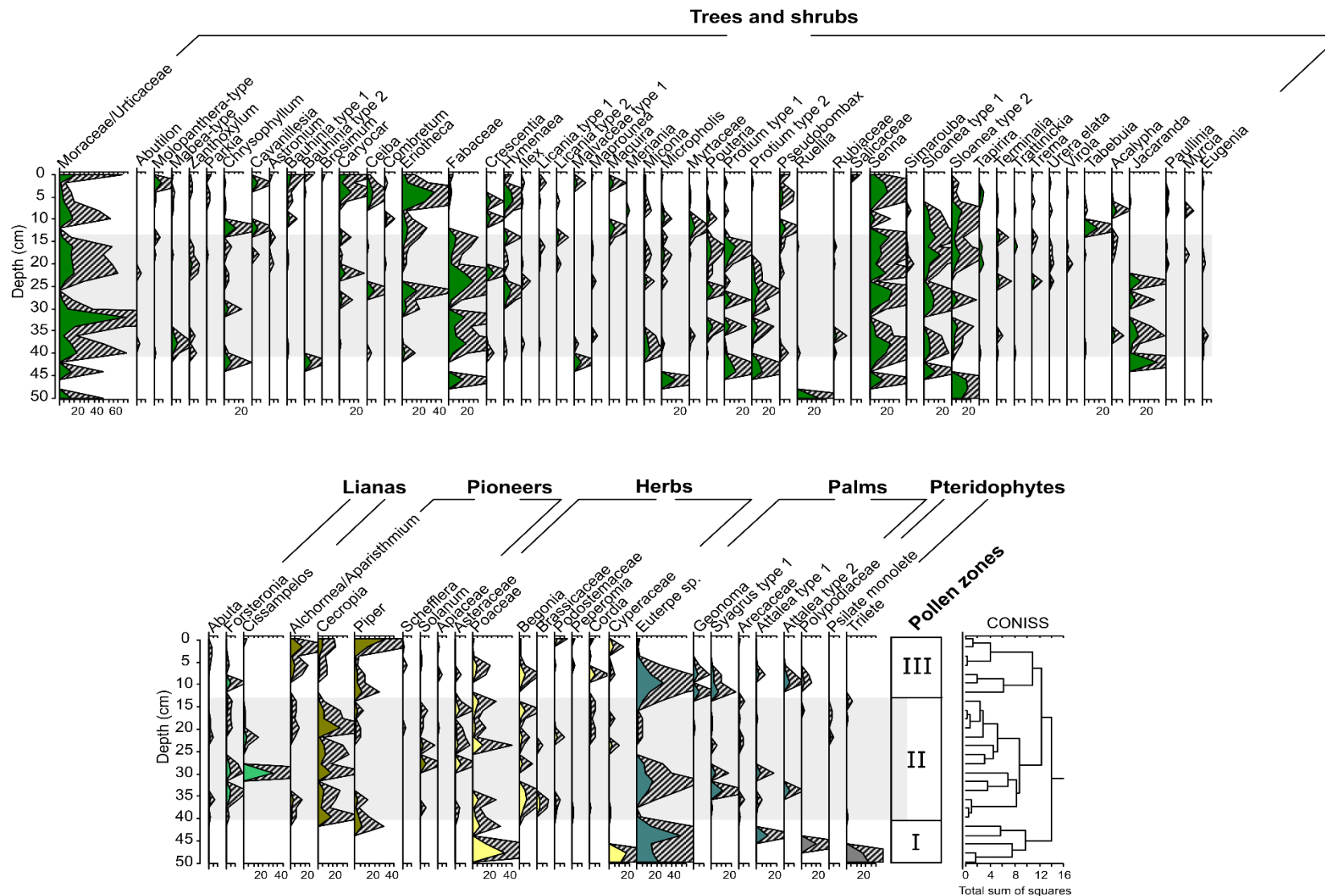


Figura 11 – Diagrama polínico do perfil de guano da caverna S11C\_0041. Os táxons encontrados estão agrupados de acordo com a afinidade ecológica: arbóreos, lianas, pioneiras, táxons não-arbóreos (ervas) e palmeiras. Os pontos pretos representam porcentagens inferiores a 2%.

Pioneiras são o segundo grupo mais representativo (2.5 a 34.9%), com *Piper* (0.7-29%) e *Alchornea* (0-11.7%). A abundância de palmeiras (e.g. *Euterpe*, *Geonoma*, *Syagrus* e *Attalea*) e ervas (e.g. *Poaceae*, *Begonia*, *Cordia* e *Cyperaceae*) variou de 0.3-33.3% e 0-18.6%, respectivamente. Lianas (0-5.1%; *Forsteronia*, *Abuta* e *Cissampelos*) e pteridófitas (0-2.5%; *Trilete*) apresentaram baixa abundância polínica. Nesse intervalo encontra-se altas concentrações polínicas, com valor máximo em torno de 1542752 grãos por cm<sup>3</sup>.

#### 4.2. Datação Radiocarbono (<sup>14</sup>C)

##### *Caverna SB\_0064*

O perfil da caverna SB\_0064 (36 cm) possui idade basal de aproximadamente 1760 anos AP (Tab. 3). A taxa de acumulação de guano variou de 0,004 a 0,021 cm/ano. As menores taxas de acumulação encontram-se no intervalo de 36 a 31 cm (0,004-0,009 cm/ano). A partir de 30 cm as taxas aumentam, apresentando valores máximos de 0,021 cm/ano entre 23 e 20 cm. A modelagem bayesiana de idade para o perfil assumiu uma distribuição gama (shape = 1,5), com 11 seções e uma taxa média de acumulação de 100 anos/cm (Fig. 12).

Tabela 3 – Idades radiocarbono para as amostras do perfil coletado na caverna SB\_0064, localizada na Serra da Bocaina.

ID Amostra	Profundidade (cm)	Material	Idade convencional	Erro	Idade Calibrada (2σ)
CENA 1512*	3-4	Guano	-	-	-
CENA 1513*	10-13	Guano	-	-	-
CENA 1514	20-21	Guano	12	29	-
CENA 1515	30-31	Guano	152	26	cal AD** 1806- 1950
CENA 1437	36-37	Guano	2026	42	cal BC**** 65- cal AD 118

\*Idades modernas; \*\* Anno Domini=Era Comum; \*\*\*Antes da Era Comum

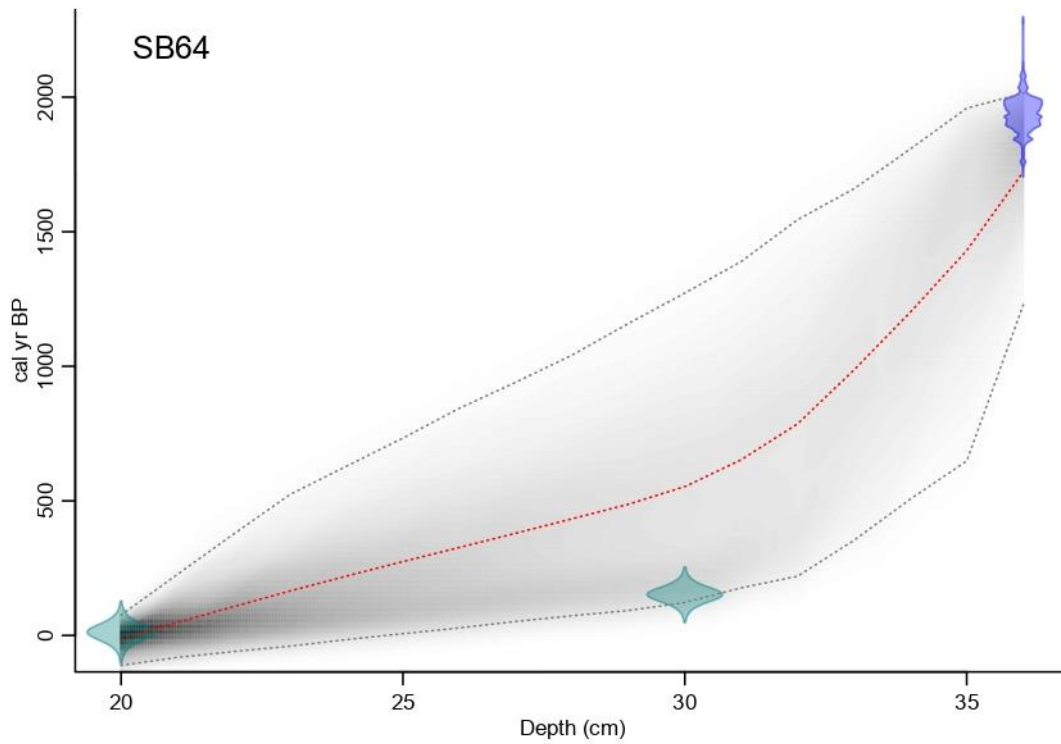
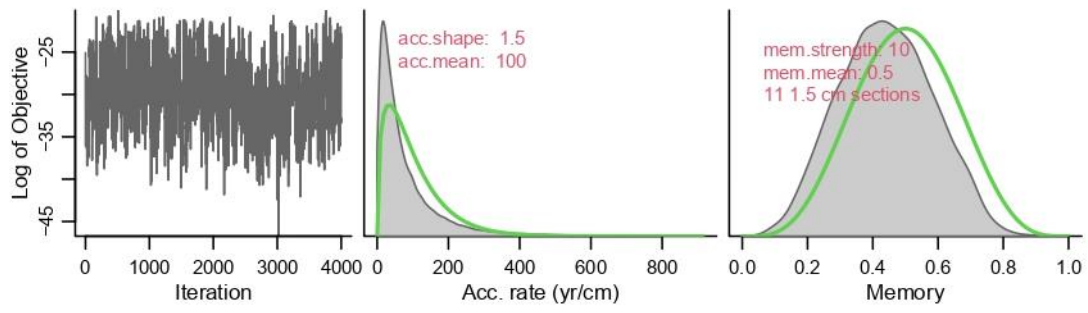


Figura 12 – Modelo de idades Bayesiano para o perfil de guano da caverna SB\_0064.

### *Caverna S11C\_0041*

O perfil da caverna S11C\_0041 (52 cm) apresentou idade basal de aproximadamente 2320 anos AP (Tab. 4). As taxas de acumulação variaram de 0,015 a 0,063 cm/ano. As maiores taxas de acumulação (0,05-0,63 cm/ano) são observadas entre 52 e 44 cm de profundidade. A modelagem bayesiana de idade para o perfil assumiu uma distribuição gama (shape = 1,5), com 12 seções e uma taxa média de acumulação de 50 anos/cm (Fig. 13).

Tabela 4 – Idades radiocarbono para as amostras do perfil coletado na caverna S11C\_0041, localizada na Serra Sul de Carajás.

ID Amostra	Profundidade (cm)	Material	Idade convencional	Erro	Idade Calibrada ( $2\sigma$ )
CENA 1507	2-4	Guano	432	27	cal AD* 1424- 1493
CENA 1508	12-14	Guano	1047	27	cal AD 973- 1033
CENA 1509	20-22	Guano	1402	25	cal AD 604- 661
CENA 1510	30-32	Guano	1877	26	cal AD 118- 234
CENA 1511	40-42	Guano	2186	27	cal BC** 362- 166
CENA 1440	52-54	Guano	2328	40	cal BC 519- 353

\* Anno Domini=Era Comum; \*\*Antes da Era Comum

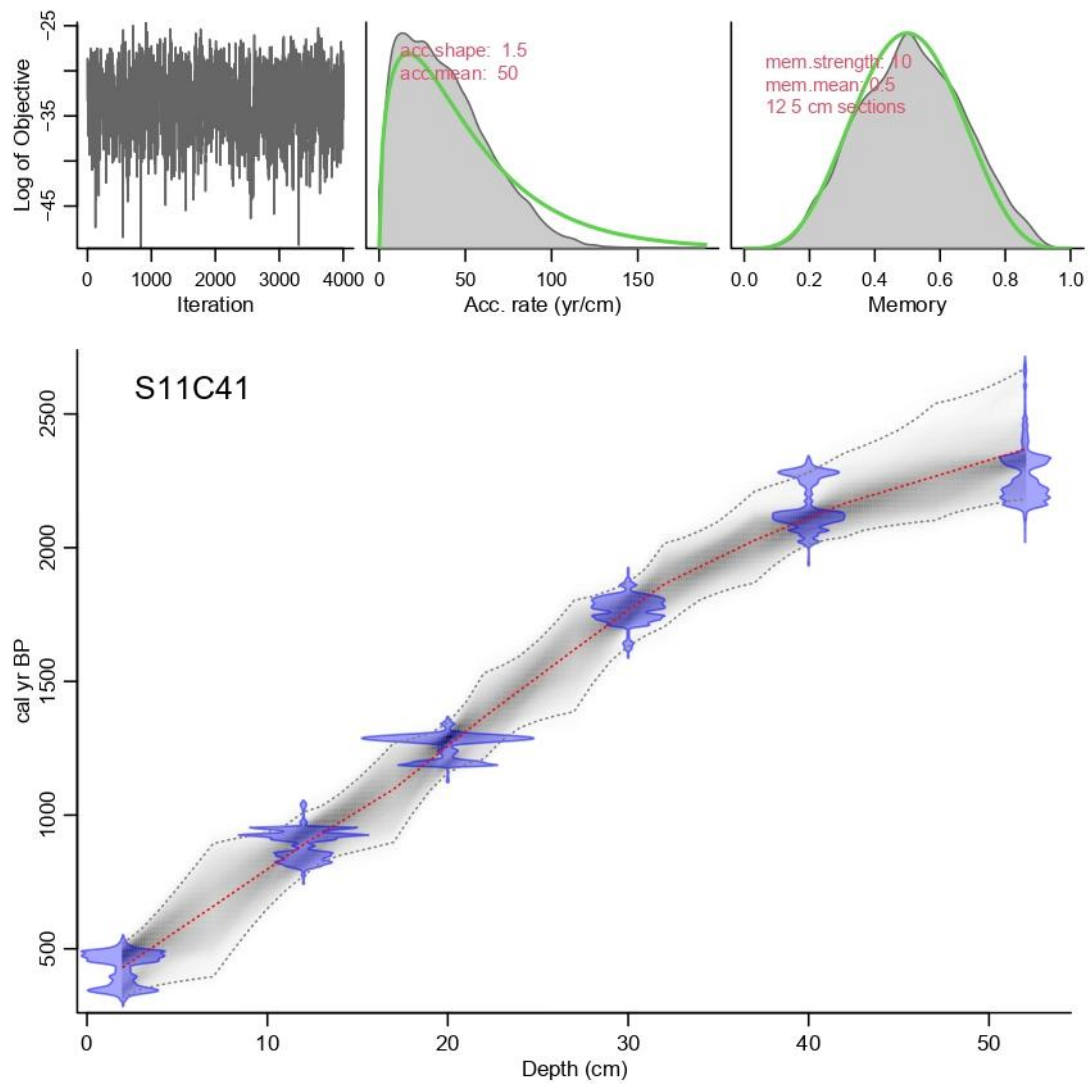


Figura 13 - Modelo de idades Bayesiano para o perfil de guano da caverna S11C\_0041.

### *Caverna S11B\_0094*

O perfil da caverna S11B\_0094 (105 cm) apresentou idade basal de aproximadamente 25.650 anos AP (Tab. 4). As taxas de acumulação variaram de 0,001 a 0,026 cm/ano. As maiores taxas de acumulação (0,013-0,026 cm/ano) são observadas entre 105 e 60 cm de profundidade. A partir de 60 cm, a taxa de acumulação diminuiu consideravelmente, alcançando valores mínimos (0,001 cm/ano) nos 10 cm superficiais. A modelagem bayesiana de idade para o perfil assumiu uma distribuição gama (shape = 1,5), com 22 seções e uma taxa média de acumulação de 200 anos/cm (Fig. 14).

Tabela 4 – Idades radiocarbono para as amostras do perfil coletado na caverna S11B\_0094, localizada na Serra Sul de Carajás.

ID Amostra	Profundidade (cm)	Material	Idade convencional	Erro	Idade Calibrada ( $2\sigma$ )
CENA 1516	0-2	Guano	7923	38	cal BC 6840- 6639
CENA 1517	20-22	Guano	14938	52	cal BC 16346- 16131
CENA 1518	40-42	Guano	19629	64	cal BC 21678- 21399
CENA 1519	61-63	Guano	23502	87	cal BC 25863- 25464
CENA 1520	81-83	Guano	24812	105	cal BC 27240- 26839
CENA 1521	101-103	Guano	25579	103	cal BC 28135- 27555
CENA 1439	103-105	Guano	25651	224	cal BC 28299- 27303

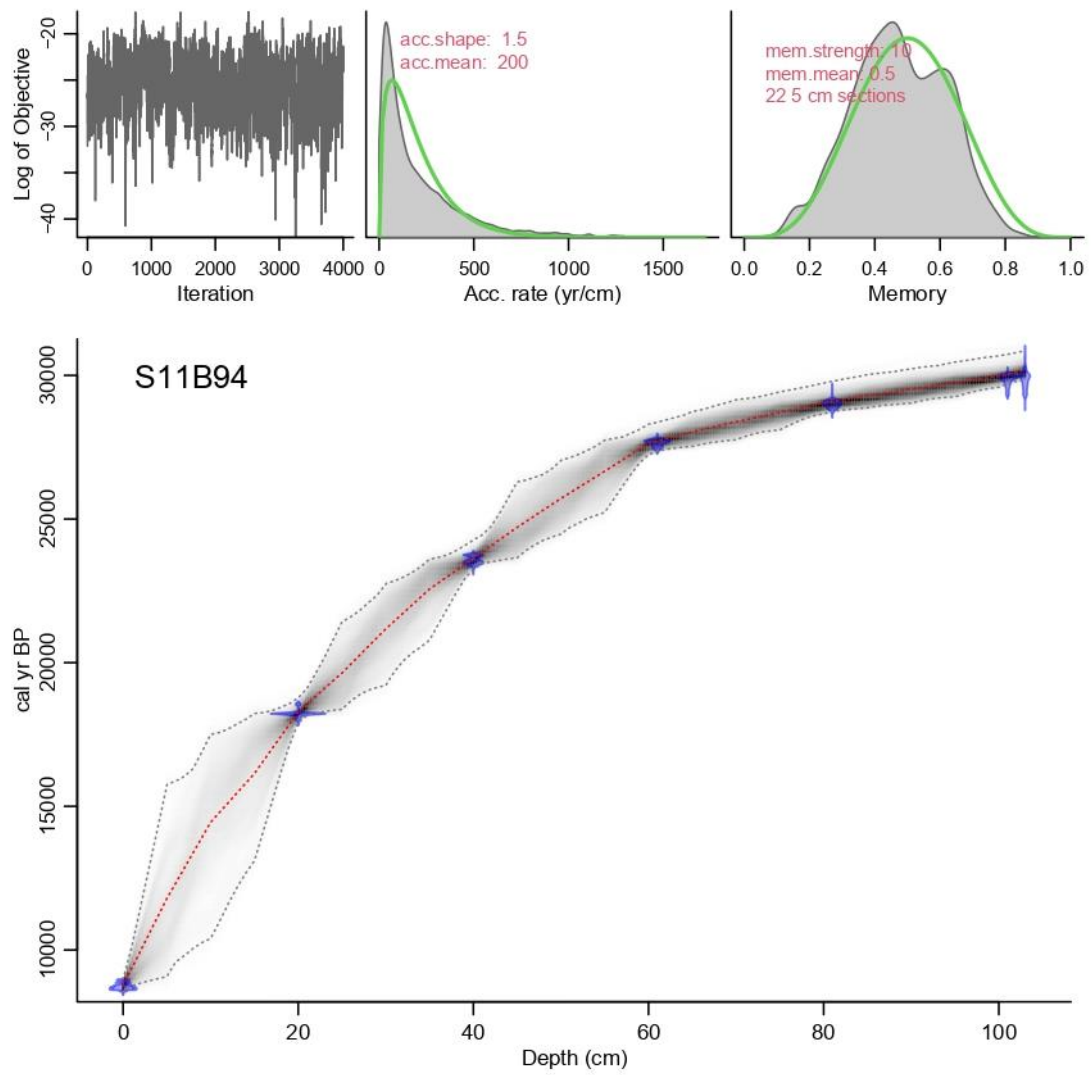


Figura 14 – Modelo de idades Bayesiano para o perfil de guano da caverna S11B\_0094.

### *Caverna S11B\_0168*

O perfil da caverna S11B\_0168 (31 cm) apresentou idade basal de aproximadamente 1080 anos AP (Tab. 5). As taxas de acumulação variaram de 0,01 a 0,05 cm/ano. As menores taxas de acumulação (0,01-0,02 cm/ano) são observadas entre 28 e 30 cm de profundidade, enquanto que as maiores taxas (0,04-0,05 cm/ano) são observadas entre 22 e 24 cm de profundidade. A modelagem bayesiana de idade para o perfil assumiu uma distribuição gama (shape = 1,5), com 11 seções e uma taxa média de acumulação de 50 anos/cm (Fig. 15).

Tabela 5 – Idades radiocarbono para as amostras do perfil coletado na caverna S11B\_0168, localizada na Serra Sul de Carajás.

ID Amostra	Profundidade (cm)	Material	Idade Convencional	Erro	Idade Calibrada ( $2\sigma$ )
CENA1534	13-15	Guano	135	27	cal AD 1809- 1949
CENA1535	22-24	Guano	225	27	cal AD 1724- 1810
CENA1438	28-30	Guano	1080	44	cal AD 956- 1051

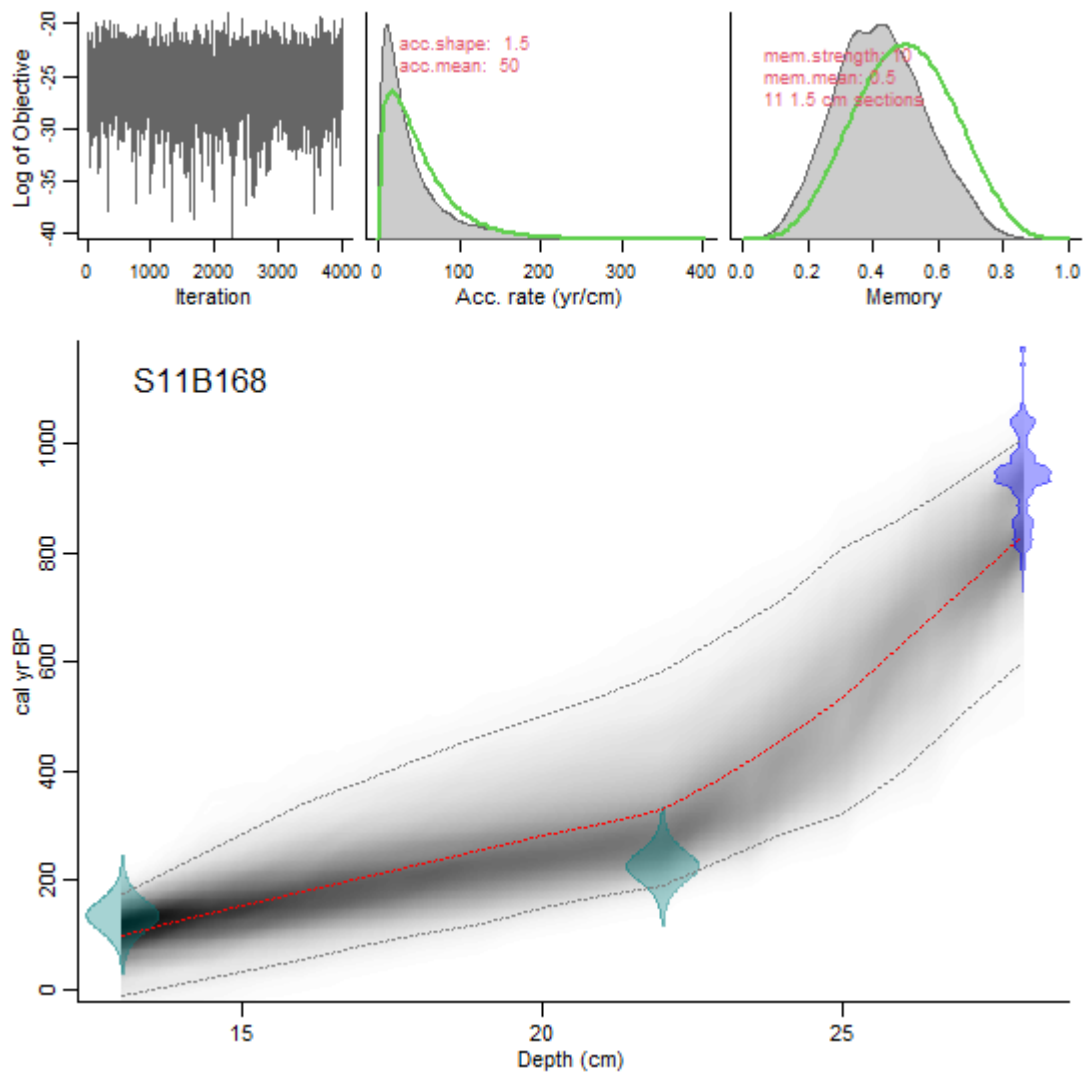


Figura 15 – Modelo de idades Bayesiano para o perfil de guano da caverna S11B\_0168.

#### 4.3. Análise elementar (COT, NT) e isotópica de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ )

##### *Variação de $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , COT, NT e razão C:N entre as cavernas*

Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  das amostras de guano variaram de -29.9‰ a -21.6‰, com média em torno de -27.6‰. De forma geral, as cavernas apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  predominantemente empobrecidos (<-25‰; Fig. 16). Valores mínimos de  $\delta^{13}\text{C}$  são observados na caverna SB\_0064 (<-29.0‰). Esta última também apresenta valores mais enriquecidos juntamente com a caverna S11B\_0094 (>-23‰).

As amostras de guano apresentaram valores de  $\delta^{15}\text{N}$  entre 11.2 e 33‰, com média em torno de 21.0‰. Os menores valores de  $\delta^{15}\text{N}$  são observados nas cavernas inativas S11C\_0041 (18.0‰) e S11B\_0094 (11.2‰), enquanto que os valores máximos encontram-se nas cavernas ativas SB\_0064 (33.1‰) e S11B\_0168 (32.2‰) (Fig. 16).

Os valores de COT apresentaram uma variação relativamente alta entre amostras de um mesmo perfil (e.g. SB\_0064) e entre cavernas. Na Fig. 15 observamos maiores valores de COT para as cavernas SB\_0064 (12.7-33.7%), S11C\_0041 (15.5-35.3%) e S11B\_0168 (13.1-32.1%), porém valores baixos para a caverna S11B\_0094 (4.8-21.1%). Já os valores de NT variaram consideravelmente entre as cavernas estudadas. Os maiores valores de NT são observados nas cavernas S11C\_0041 (9-12.7%) e S11B\_0168 (5.2-12.3%), enquanto que nas cavernas S11B\_0094 (1.4-5.4%) e SB\_0064 (2.1-9.6%) estão os menores valores de NT.

Os valores da razão C:N variaram de 1.7 a 7.6, com média em torno de 3.4. A caverna SB\_0064 apresentou os valores mais altos de C:N (2.8-7.6) em comparação as demais cavernas, que apresentaram valores máximos em torno de 4.7 (S11B\_0094), 4.4 (S11B\_0168) e 3.6 (S11C\_0041).

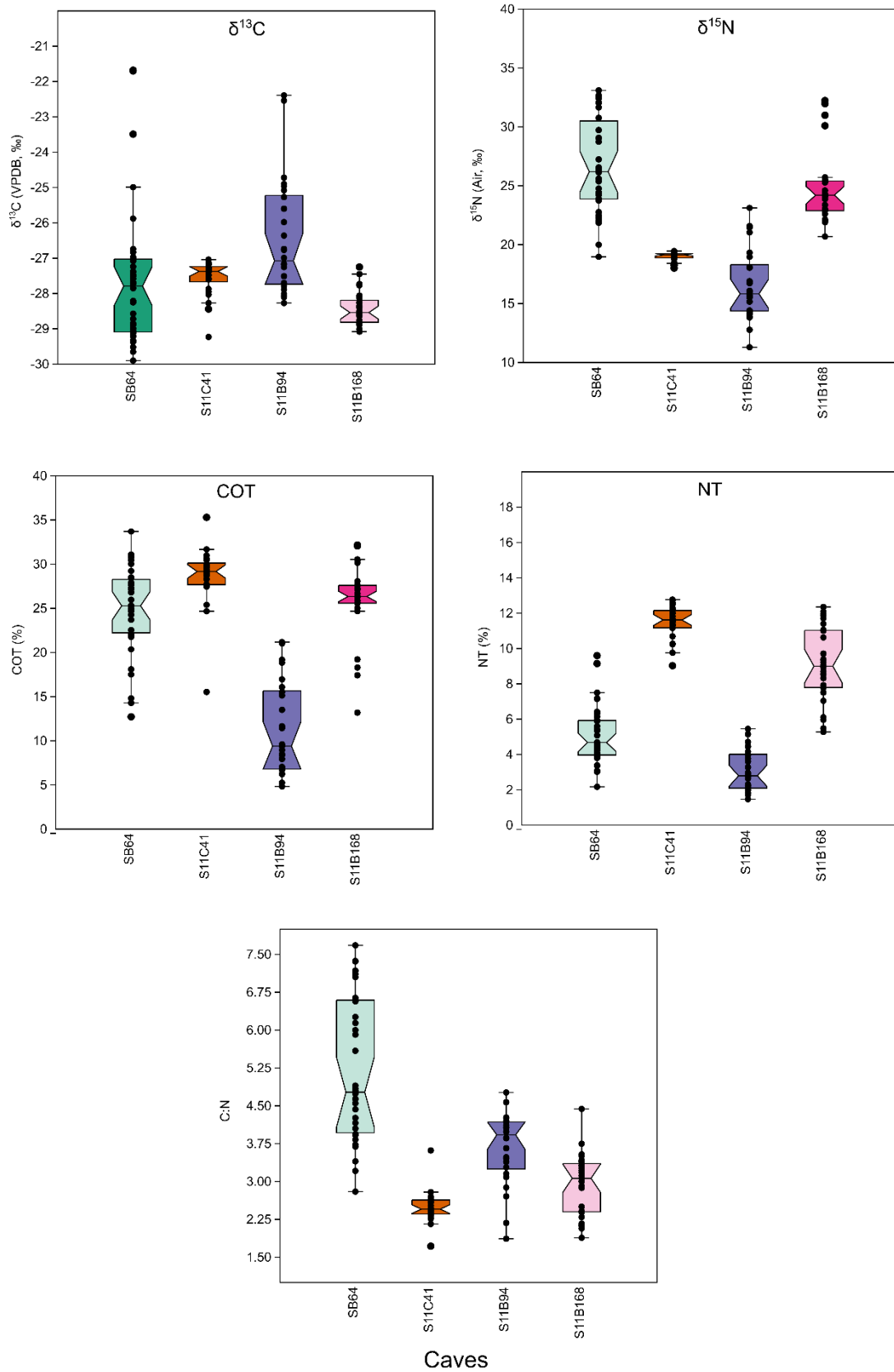


Figura 16 – Boxplot de  $\delta^{13}\text{C}$  (VPDB, ‰),  $\delta^{15}\text{N}$  (Ar atmosférico, ‰), COT (%), NT (%) e razão C:N das amostras de guano das cavernas SB\_0064, S11C\_0041, S11B\_0094 e S11B\_0168.

### *Variação de $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ , COT, NT e razão C:N nos perfis de guano*

No perfil SB\_0064, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  mostram uma tendência de empobrecimento na base do testemunho (-29.9 a -26.7‰), entre 36 e 15 cm (ver Fig. 17). A partir desse intervalo, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  tornam-se mais enriquecidos em direção ao topo do perfil (-29.5 a -21.6‰). Isto sugere uma possível mudança na cobertura vegetal no entorno da caverna, marcada pela abertura da vegetação e maior contribuição de plantas C4, tais como gramíneas. O oposto é observado no perfil S11C\_0041, no qual há um empobrecimento de  $\delta^{13}\text{C}$ , na ordem de 2‰, em direção ao topo (-27.4 a 29.2‰), o que indica uma dieta alimentar fortemente associada a ambientes florestais (plantas C3).

No perfil S11B\_0094, considerando a idade basal do depósito em torno de 30.000 anos, os valores enriquecidos de  $\delta^{13}\text{C}$  na base do perfil (103-57 cm; -26.9 a -22.3‰) podem estar associados a degradação microbiana e reciclagem, levando a perda de carbono mais leve ( $^{12}\text{C}$ ) através da respiração, na forma de  $\text{CO}_2$  (Ehleringer et al., 2000). A partir de 57 cm, ocorre um pequeno empobrecimento nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , na ordem de ~1‰. Os valores se mantêm empobrecidos (-27.1 a -28.2‰), sem grandes variações, até o topo do perfil. No perfil S11B\_0168, de forma geral, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  são empobrecidos, sem alterações relevantes da base (média de -28.3‰) ao topo (média de -27.7‰). Isto sugere que a dieta alimentar, bem como a área de forrageio dos morcegos, está fortemente associada ao ambiente florestal.

De forma geral, as cavernas ativas e inativas mostraram forte associação ao ambiente florestal, como pode ser visto pelos valores empobrecidos de  $\delta^{13}\text{C}$ . Exceto pela caverna SB\_0064 que mostrou uma associação relevante com paisagens mais abertas recentemente, possivelmente associada a expansão de fazendas no entorno da Serra da Bocaina ao longo das últimas décadas.

Variações consideráveis nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  são observados ao longo do perfil SB\_0064. Um enriquecimento, na ordem de 10‰, é observado entre 23 e 13 cm (28.8-33.1‰) e coincide com valores empobrecidos de  $\delta^{13}\text{C}$  (<-28‰). A partir de 5 cm, há uma diminuição gradual nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  em direção ao topo, indicando (a) uma possível mudança na dieta alimentar, como por exemplo, uma redução no consumo de insetos e inserção de outras fontes alimentares ou (b) variação intra- ou interespecífica na dieta, presença de morcegos com hábito alimentar generalista.

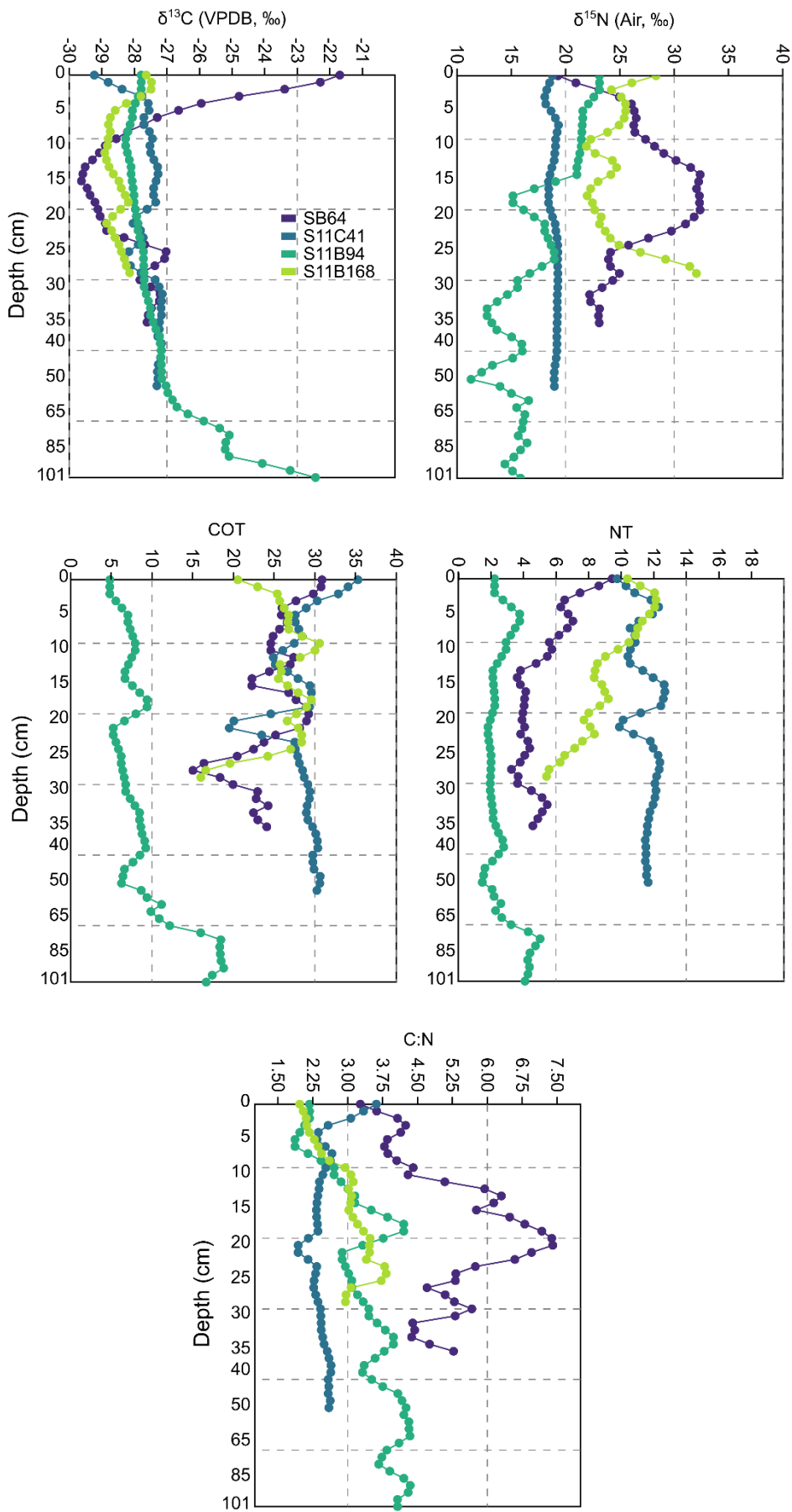


Figura 17 – Perfil elemental (C, N) e isotópico ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) dos depósitos de guano.

Os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  se mantem constantes ao longo de todo o perfil da caverna S11C\_0041, com valor médio em torno de 18.9‰. Isto indica que (a) não houve mudanças relevantes nos hábitos alimentares dos morcegos que habitam essa caverna e/ou que (b) não houve degradação microbiana ao longo do perfil. O perfil S11B\_0094, por sua vez, mostra um aumento gradual, porém não-contínuo nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  em direção ao topo. Da base até profundidades intermediárias (103-50 cm), observa-se valores inferiores a 19.3‰. Já na camada superior (50-0 cm), os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  aumentam, na ordem de mais de 3‰, alcançando valores máximos em torno de 23.1‰ no topo. Em profundidade (29 cm), o perfil S11B\_0168 apresenta valores altos de  $\delta^{15}\text{N}$  (até 32.2‰), que são seguidos por um intervalo (25-9 cm) no qual os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  diminuem consideravelmente, alcançando valores mínimos inferiores a 25‰. Os últimos 10 cm são marcados pelo aumento nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , similares aos encontrados na base do testemunho.

Com relação ao COT e NT, o perfil da caverna S11B\_0094 apresentou valores menores em comparação as demais cavernas, o que pode estar associado a degradação da matéria orgânica dada a idade do depósito. O perfil SB\_0064 apresentou valores mínimos de COT (12.7-14.2%) e NT (2.1-3.0%) entre 28 e 26 cm (396-285 anos AP), além de enriquecimento nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , o que aponta para uma fase de degradação da matéria orgânica. Na porção superior do perfil, os valores de COT e NT aumentam. A ocorrência de valores de C:N mais altos, entre 23 e 13 cm (6.1-7.6), indicam o consumo de plantas terrestres e frutas que possuem pouco nitrogênio e mais carbono na sua composição (Gallant et al. 2021). Isto é reforçado pelo aumento de COT e redução de NT durante o mesmo intervalo (Fig. 17).

No perfil S11C\_0041, não são observadas variações relevantes nos valores de COT e NT, exceto por uma rápida redução em ambos em torno de 20 cm (~1280 anos AP). A redução simultânea tanto no COT quanto no NT pode indicar (a) um episódio de abandono da caverna ou (b) mudança nas condições microclimáticas e hidrológicas (disponibilidade de água) no interior da caverna, além do pH do guano, que podem levar a degradação da matéria orgânica (Shahack-Gross et al. 2004).

O aumento de COT entre 25 e 10 cm corresponde também a valores mais altos de C:N na porção intermediária do perfil S11B\_0168, o que sugere o consumo de fontes alimentares alternativas, tais como plantas terrestres e frutos, durante esse intervalo. A posterior redução de C:N, associada ao decréscimo de COT e aumento de NT (>10),

sugere uma dieta alimentar predominantemente insetívora, como é observado no presente.

#### 4.4. Geoquímica multielementar

Os valores de Fe (2.1-23.3), Mn (0-1.0), Ti (0-0.2), K (308-1457), P (39.2-350) e S (177-1055) variaram consideravelmente ao longo do perfil da caverna SB\_0064 (Fig. 18), sendo K, P e S, os elementos mais abundantes no guano. Na caverna S11B\_0168 (Fig. 19), variações notáveis nos valores de Fe (0.6-105), Mn (0-0.3), Ti (0-0.1), K (493-1263), P (41-471) e S (109-1300). Um estudo mais aprofundado deverá ser feito de forma a identificar os fatores/mecanismos responsáveis pelas variações desses elementos ao longo dos perfis.

Estudos geoquímicos em depósitos de guano ainda são escassos na literatura científica, porém sabe-se que elementos como Fe e Al são provenientes do meio laterítico, enquanto que P, S, K e Ca possuem origem coprogênica (guano) (Maurity & Kotschoubey 1995). Quanto a proporção desses elementos no guano, a disponibilidade de K, Al e Fe podem aumentar com a degradação da matéria orgânica, enquanto que a disponibilidade de N e S diminui (Shahack-Gross et al. 2004).

Elementos, como Ti, são derivados do intemperismo local e primariamente imóveis após deposição, dessa forma pode ser usado para inferir variações na taxa de acumulação de guano. Segundo Bird et al. (2007), quanto maior os valores de Ti, menor é taxa de acumulação de guano.

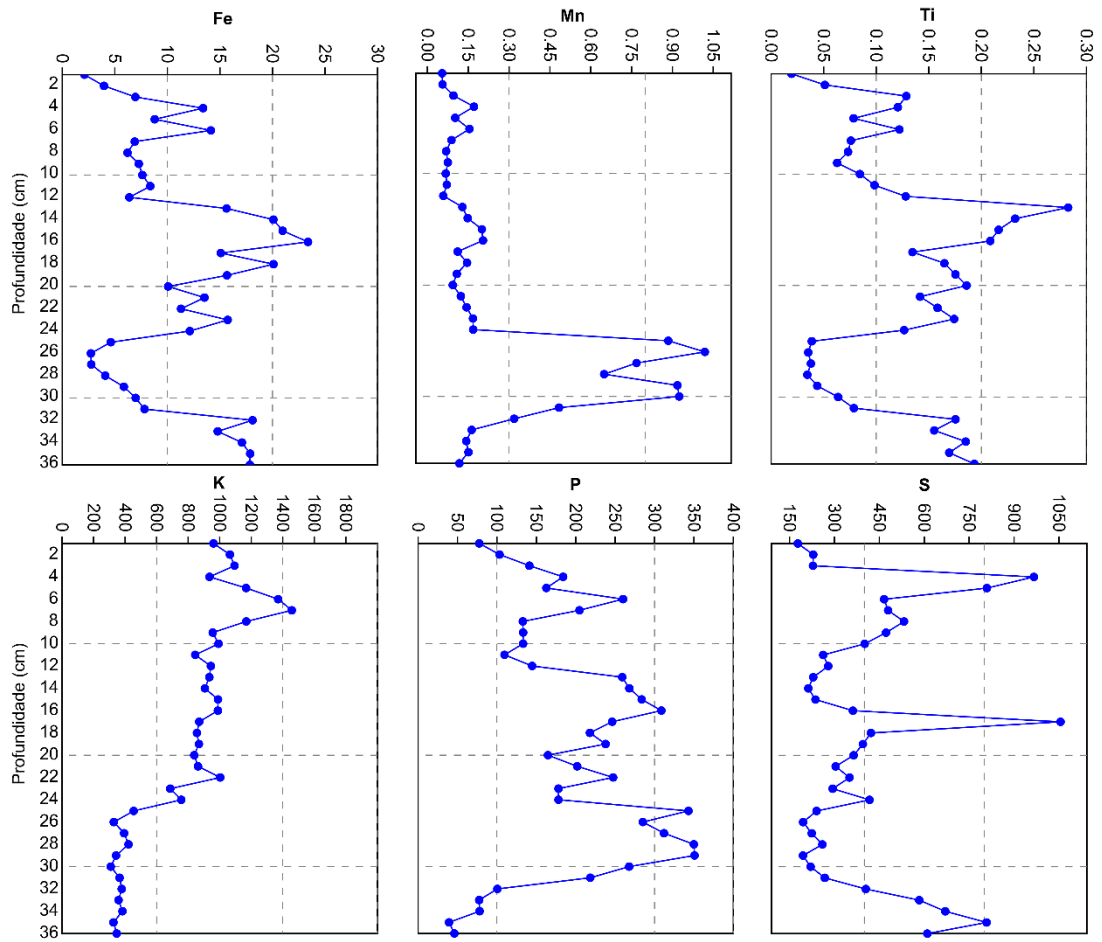


Figura 18 – Variação dos elementos Fe, Mn, Ti, K, P e S ao longo do perfil coletado na caverna SB\_0064.

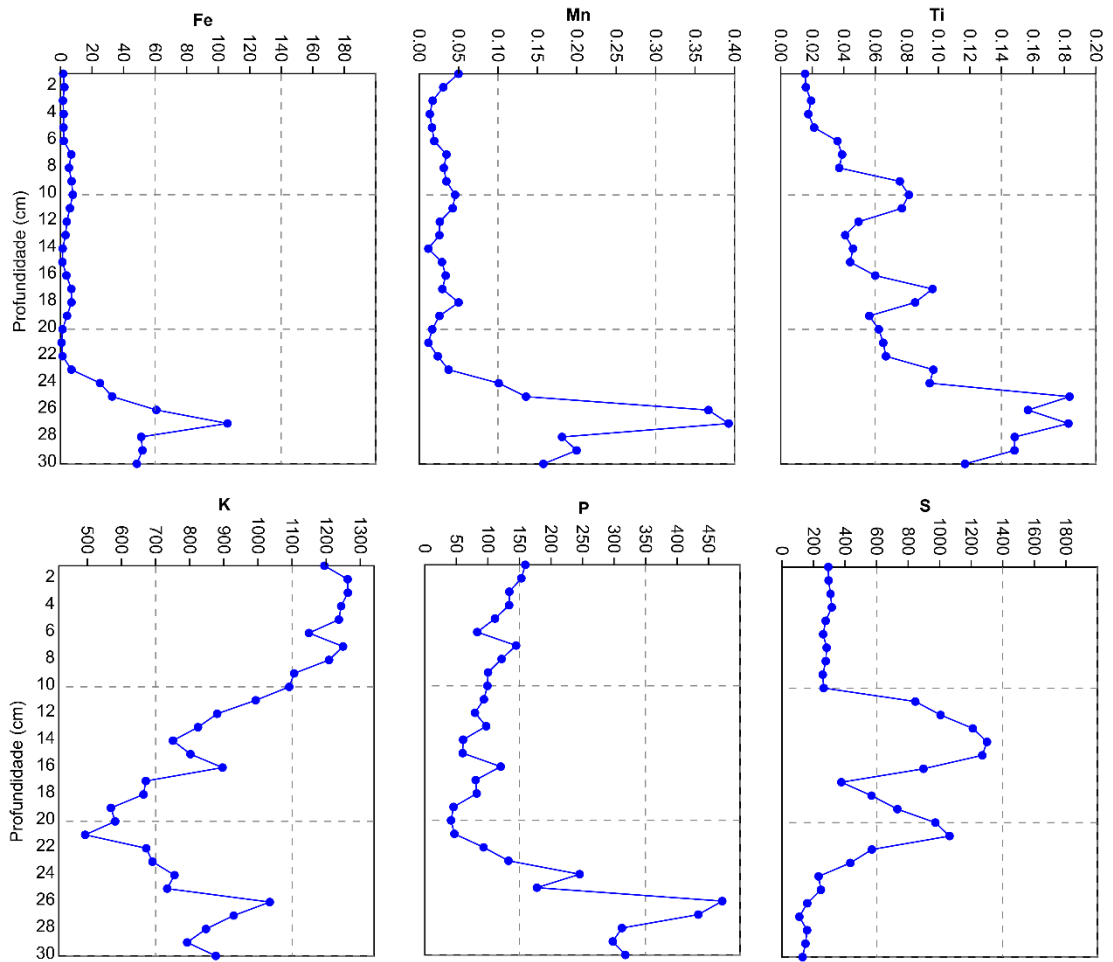


Figura 19 – Variação dos elementos Fe, Mn, Ti, K, P e S ao longo do perfil coletado na caverna S11B\_0168.

#### 4.5. Análise de DNA Metabarcoding

Com base na lista de espécies dos quirópteros do Brasil de 2020 (Lista de Espécies Oficial SBEQ), todas as amostras apresentaram DNA de gêneros/espécies de morcegos que ocorrem no Brasil. Algumas classificações foram de espécies e gêneros não registrados no Brasil, o que pode ser atribuído à falta de referências para 12S rDNA das espécies de ocorrência nacional: da lista de 181 espécies registradas e confirmadas, 47% (84 espécies) não possuem referência disponível para espécie; a nível de gênero, a falta de referências compreende 20% dos gêneros descritos em território nacional (14 gêneros dos 68 descritos e confirmados).

A diversidade e riqueza taxonômica referem-se à variedade de espécies e organismos presentes em um determinado ambiente ou amostra. A riqueza é uma medida da diversidade biológica, contando o número de diferentes espécies, enquanto a diversidade é uma medida que considera como ocorre a distribuição do número de espécies. O pacote *vegan* foi utilizado para avaliar a diversidade e riqueza nas amostras estudadas. A Figura 20, 22 e Tabela 6 apresentam os resultados para as amostras do ponto de coleta S11C\_0041, enquanto a Figura 21, 23 e Tabela 7, para SB\_0064.

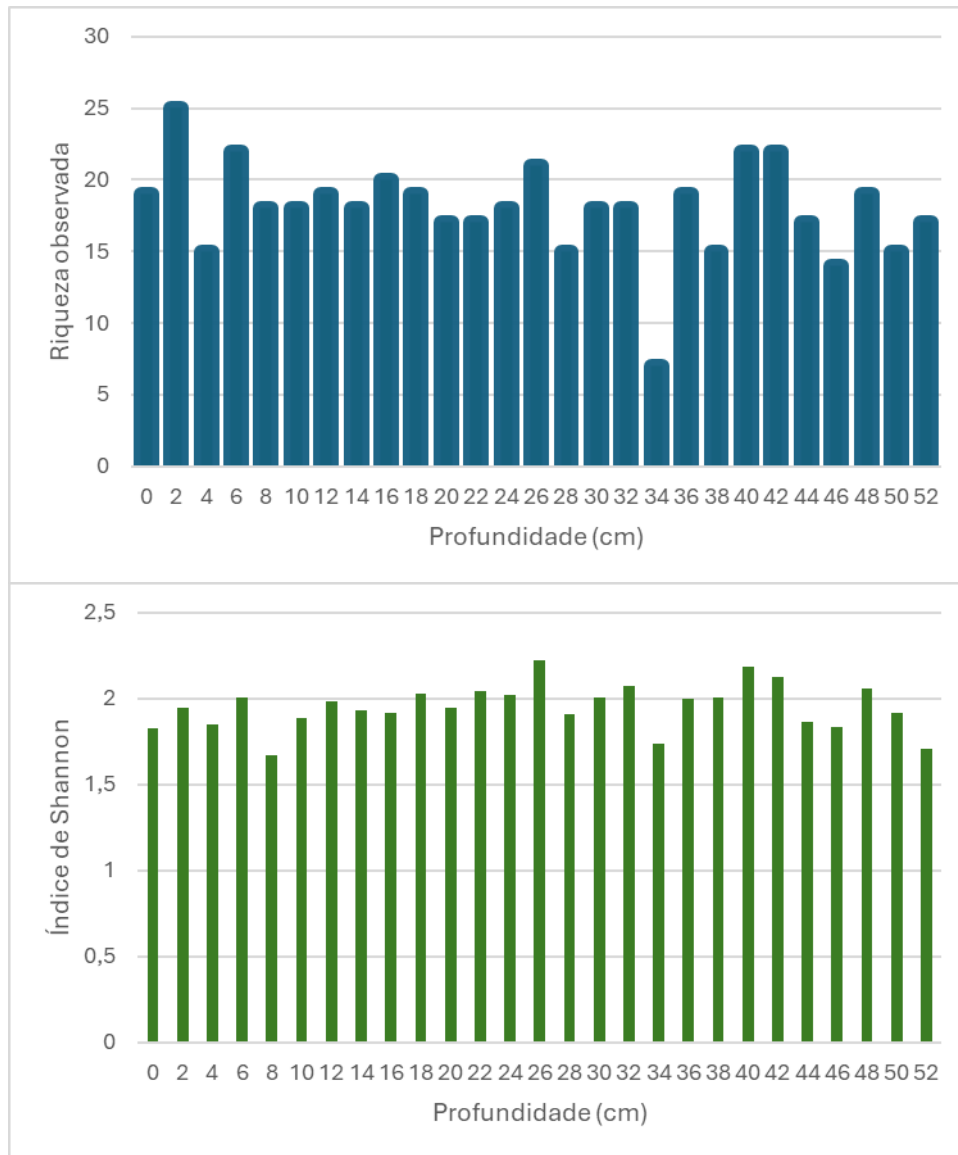


Figura 20 – Gráficos de barras indicando a riqueza de espécies e a diversidade para vertebrados baseados em 12S rDNA para o depósito de guano da caverna S11C\_0041.

Tabela 6 – Valores de riqueza de espécies e a diversidade para vertebrados baseados em 12S rDNA para o depósito de guano da caverna S11C\_0041.

<b>Profundidade (cm)</b>	<b>Riqueza</b>	<b>Índice de Shannon</b>
0	19	1,8295
2	25	1,9502
4	15	1,8522
6	22	2,008
8	18	1,6711
10	18	1,889
12	19	1,9824
14	18	1,9297
16	20	1,9195
18	19	2,0279
20	17	1,9448
22	17	2,045
24	18	2,0237
26	21	2,2256
28	15	1,9111
30	18	2,0057
32	18	2,0772
34	7	1,7365
36	19	2,0025
38	15	2,0059
40	22	2,1832
42	22	2,1228
44	17	1,8612
46	14	1,8355
48	19	2,0585
50	15	1,9192
52	17	1,7063

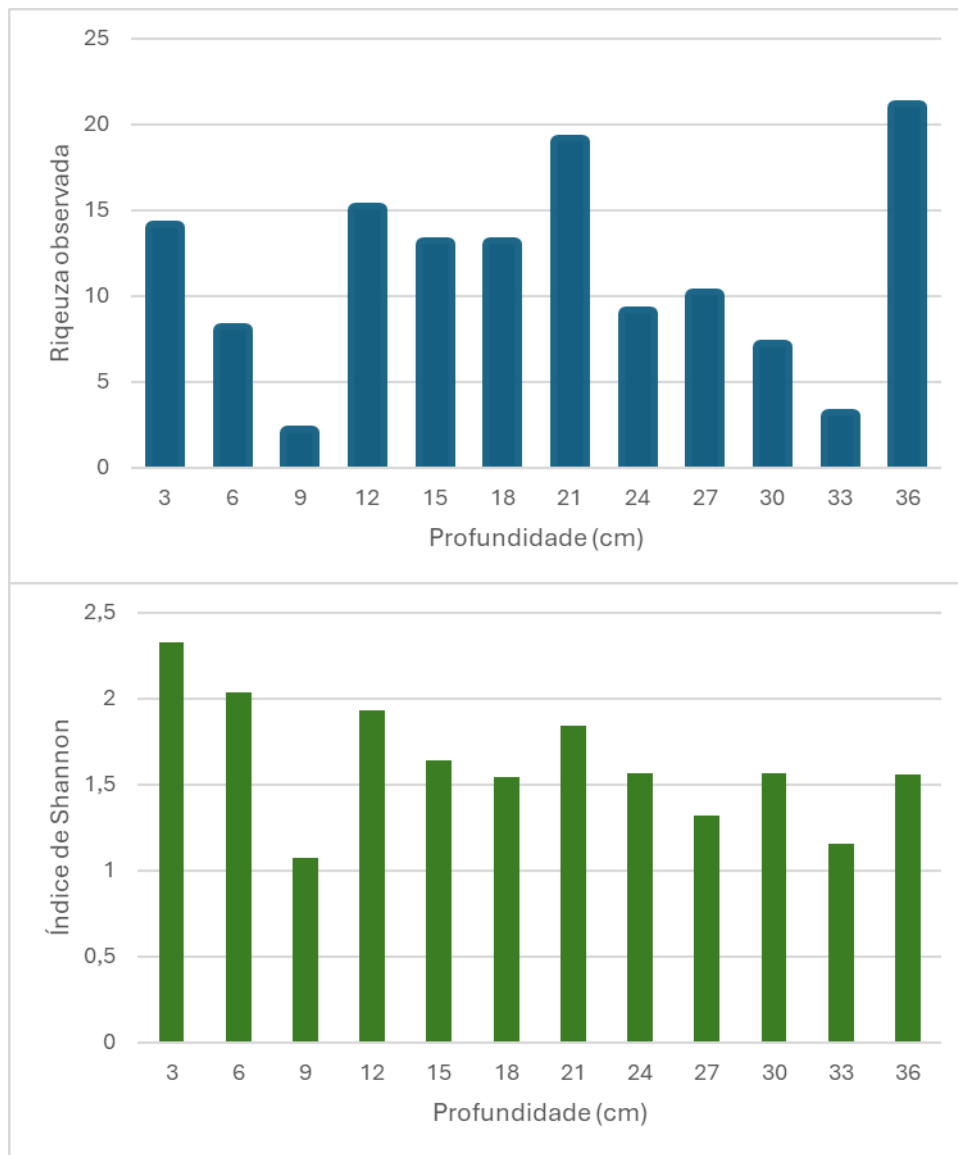


Figura 21 – Gráficos de barras indicando a riqueza de espécies e a diversidade para vertebrados baseados em 12S rDNA para o depósito de guano da caverna SB\_0064.

Tabela 7 – Valores de riqueza de espécies e a diversidade para vertebrados baseados em 12S rDNA para o depósito de guano da caverna SB-0064.

<b>Profundidade (cm)</b>	<b>Riqueza</b>	<b>Índice de Shannon</b>
3	14	2,32987386
6	8	2,03357842
9	2	1,07221897
12	15	1,92935805
15	13	1,63744136
18	13	1,54187506
21	19	1,84439821
24	9	1,56915442
27	10	1,3186719
30	7	1,5631769
33	3	1,15636733
36	21	1,55518413

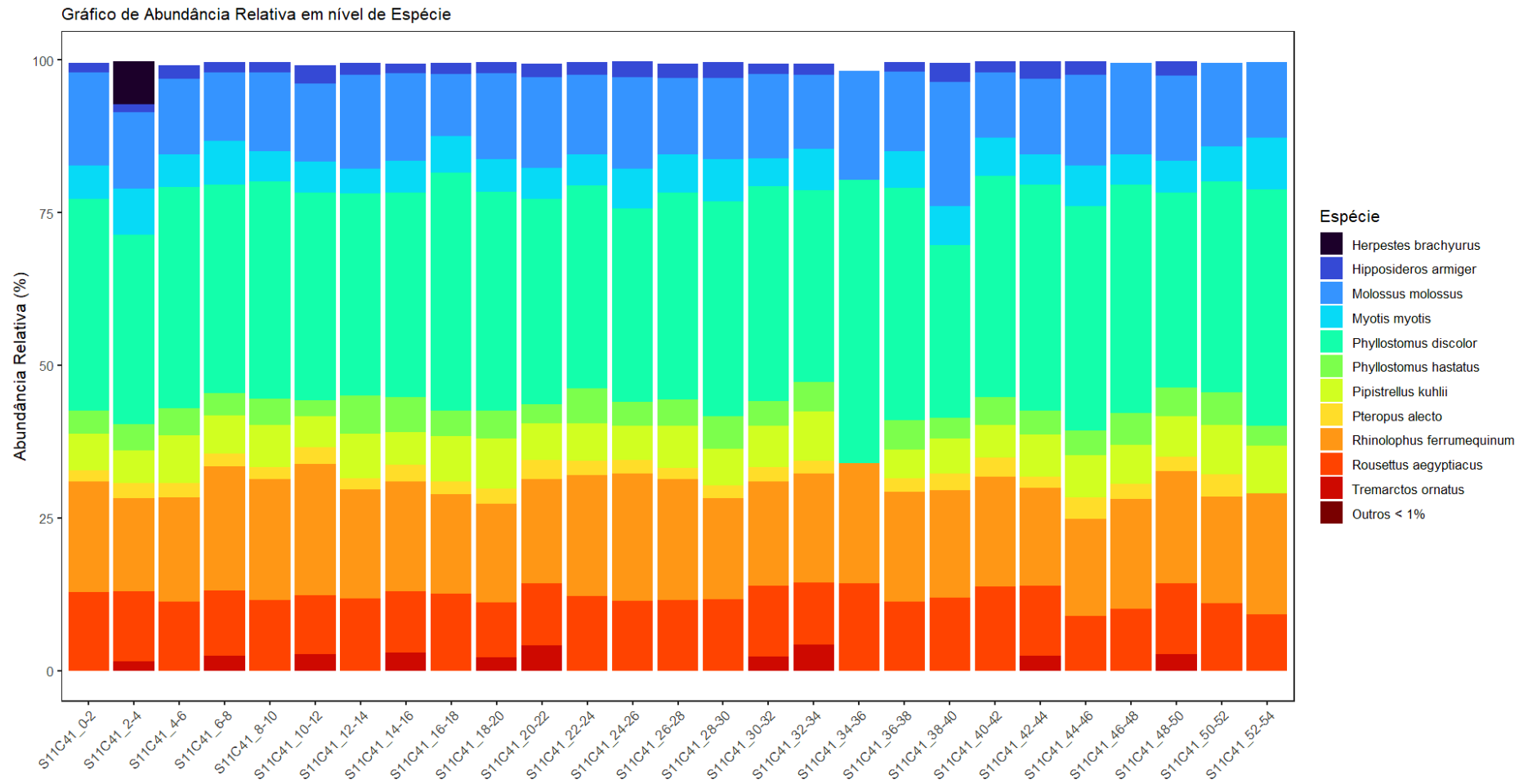


Figura 22 – Gráfico de barras representando a composição taxonômica de vertebrados baseados em 12S rDNA para o depósito de guano da caverna S11C\_0041 a nível de espécie, usando como referência a Classe Mammalia.

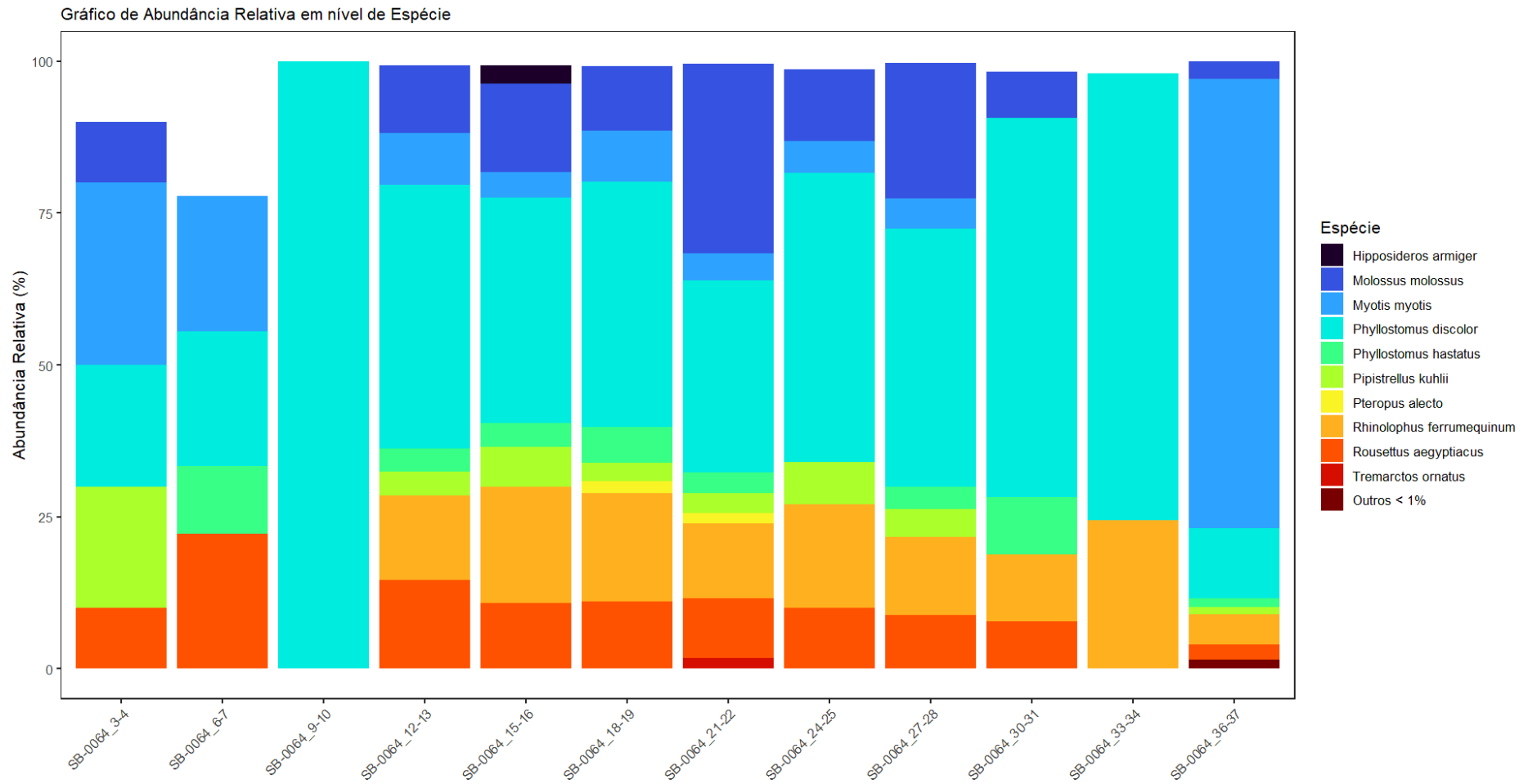


Figura 23 - Gráfico de barras representando a composição taxonômica de vertebrados baseados em 12S rDNA para o depósito de guano da caverna SB\_0064 a nível de espécie, usando como referência a Classe Mammalia.

As Figuras 24 e 25 apresentam as principais classificações observadas para o ITS1/ITS2 em plantas identificadas nas amostras dos perfis S11C\_0041 e SB\_0064, analisadas a nível de espécie, respectivamente.

## **5. Principais desafios encontrados**

Um dos principais obstáculos reside na concepção de uma estratégia de amostragem para os depósitos de guano. Ao contrário dos contextos sedimentares tradicionais, a natureza heterogênea do guano requer uma estratégia cuidadosa para garantir uma amostragem representativa. Equilibrar a acessibilidade com a sensibilidade ecológica representa um enigma, necessitando de uma abordagem que minimize as perturbações e, ao mesmo tempo, maximize a produção de dados.

Outro desafio diz respeito à necessidade de adaptar as técnicas de processamento químico. Os métodos clássicos adaptados à extração de pólen sedimentar podem revelar-se inadequados, necessitando de abordagens inovadoras para separar os grãos de pólen da matriz de guano. Superar este obstáculo requer um equilíbrio delicado entre preservar a integridade da amostra e maximizar as taxas de recuperação de pólen.

Além disso, a ausência de grãos de pólen em determinados intervalos dos perfis de guano acrescenta outra camada de complexidade. Definir uma contagem de pólen ideal torna-se uma tarefa desafiadora. Este desafio sublinha a necessidade de abordagens multiproxies para a interpretação dos dados.

Por fim, além dos aspectos palinológicos, o estabelecimento de uma matriz robusta de padrões para análise geoquímica multielementar de guano apresenta ainda outro obstáculo. A adaptação de metodologias comumente empregadas na análise de sedimentos à composição única do guano exige procedimentos meticulosos de calibração e validação.

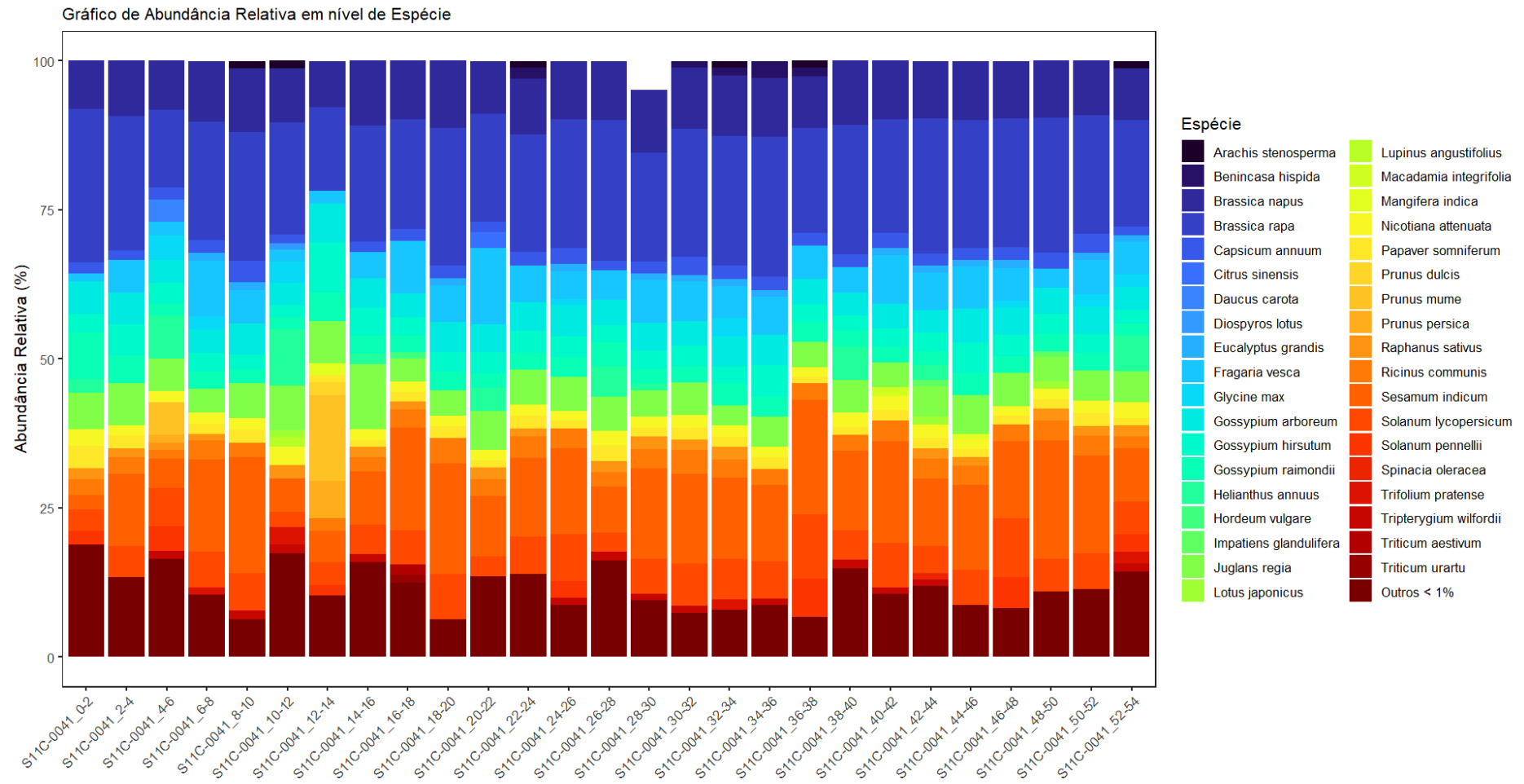


Figura 24 – Gráfico de barras representando a composição taxonômica de vertebrados baseados em ITS1/ITS2 de plantas para o depósito de guano da caverna S11C\_0041 a nível de espécie.

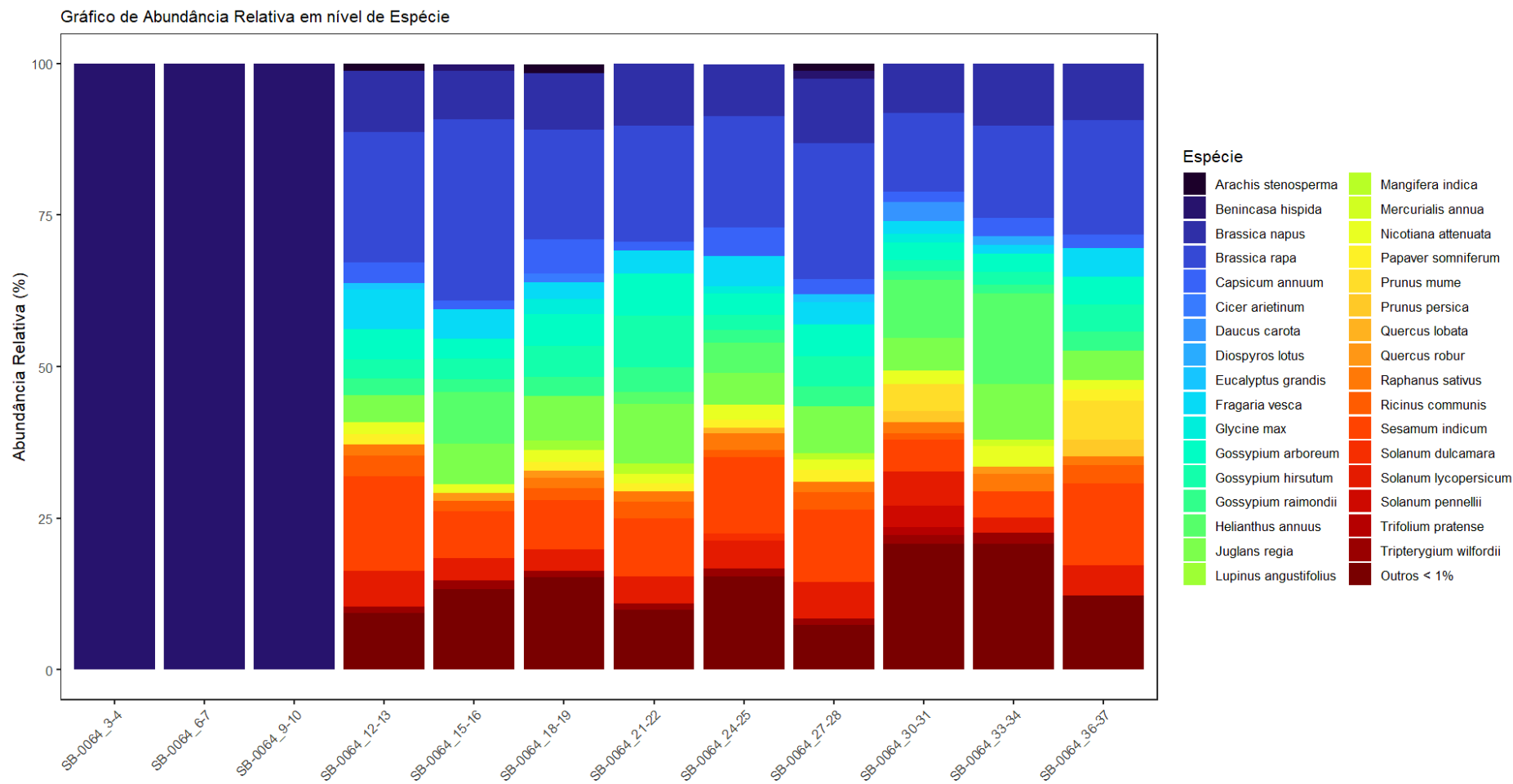


Figura 25 – Gráfico de barras representando a composição taxonômica de vertebrados baseados em ITS1/ITS2 em plantas para o depósito de guano da caverna SB-0064 a nível de espécie.

## 6. Formação de recursos humanos

Bolsas de Iniciação Científica foram oferecidas ao longo do desenvolvimento do projeto de pesquisa e ocupadas por discentes do Instituto de Geociências (IGc/USP). Dentre as atividades realizadas estão a extração, contagem e identificação de grãos de pólen preservados nos depósitos de guano. Além do processamento de botões florais coletados em herbário nacional (INPA) e internacional (Chicago, EUA) para a confecção de uma coleção de referência.

Bolsistas:

- Cecília Yuki Gomes de Sá;
- Fernanda Landim;
- João Guimarães Leão Caffagni.

## 7. Apresentação de trabalhos em eventos científicos

<b>Evento</b>	<b>Cidade/País</b>	<b>Título do trabalho</b>	<b>Formato</b>	<b>Responsável</b>
XXI International Union for Quaternary Research Congress (2023)	Roma/Itália	Implications of modern pollen records on bat guano for palaeoecological studies in southeastern Amazonia	Poster	Luiza Reis
Congresso de Gestão do Conhecimento e Sociobiodiversidade das Áreas protegidas de Carajás (2023)	Parauapebas/ Brasil	Espectros polínicos modernos de depósitos de guano de morcegos no sudeste da Amazônia	Poster	Luiza Reis
III Simpósio da Pós-Graduação do Instituto de Geociências da USP (2023)	São Paulo/ Brasil	As mudanças ambientais e climáticas do passado afetaram a distribuição e dieta alimentar dos morcegos no sudeste da Amazônia?	Oral	Cecília de Sá

## 8. Considerações acerca dos resultados obtidos

Os registros polínicos extraídos dos depósitos de guano preservados em cavernas ferríferas de Carajás apresentam uma grande riqueza de morfotipos que refletem mudanças ecológicas ao longo de milênios. A predominância de elementos arbóreos nas assembleias polínicas, juntamente com flutuações em táxons não arbóreos e plantas pioneiras, reflete a intrincada interação entre as comunidades de vegetação, as condições ambientais e os vetores antropogênicos.

Os perfis polínicos das cavernas SB\_0064, S11C\_0041 e S11B\_0094 revelam narrativas convincentes de mudanças na vegetação ao longo do tempo. Estes registros, delineados em zonas polínicas distintas, não só registam mudanças na composição da flora, mas também sugerem transformações ambientais mais amplas. Desde flutuações nas taxas de acumulação até variações isotópicas de carbono e nitrogênio, os perfis de guano codificam uma riqueza de informações ecológicas à espera de serem decifradas.

As variações isotópicas de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) nos perfis de guano oferecem informações extremamente relevantes acerca das preferências alimentares anteriores e das áreas de forrageamento dos morcegos. O enriquecimento ou empobrecimento nas assinaturas isotópicas sugere mudanças na cobertura vegetal, variações na dieta, bem como alterações nos comportamentos de forrageamento. Além disso, a correlação entre assinaturas isotópicas e registros palinológicos sublinha o potencial do guano de morcego como um arquivo da dinâmica dos ecossistemas e da evolução da paisagem.

No entanto, embora o guano de morcego seja imensamente promissor como arquivo ambiental, existem muitos desafios na interpretação e contextualização dos dados. Variações nas taxas de acumulação, nas assembleias polínicas, análises de DNA e assinaturas isotópicas necessitam de uma compreensão diferenciada acerca da dinâmica das espécies cavernícolas e dos processos ecológicos associados. Além disso, a falta de estudos anteriores sobre depósitos de guano na região amazônica impõe desafios na validação e extrapolação de dados.

Portanto, o guano de morcego surge como um valioso repositório de informações ambientais, oferecendo vislumbres de ecossistemas do passado, podendo alcançar ~30,000 anos calibrados AP. À medida que nos aprofundamos nas complexidades dos perfis de guano e refinamos as nossas metodologias, o potencial para desvendar os segredos de ambientes passados torna-se cada vez mais acessível.

Assim, o guano de morcego representa não apenas um testemunho da resiliência duradoura dos ecossistemas cavernosos, mas também uma ferramenta valiosa para desvendar redes de interações ecológicas atuais e passadas.

## **9. Conclusão**

A preservação de cavernas ferríferas na Serra dos Carajás, especialmente aquelas que abrigam depósitos de guano e espeleotemas com extensos registros ambientais, é crucial pelos seguintes motivos:

**1. Informações históricas:** Esses arquivos ambientais fornecem informações valiosas sobre a história natural da região, oferecendo uma janela para climas passados, mudanças ecológicas e impactos humanos. Ao estudar a composição e as camadas dos depósitos e espeleotemas de guano, os cientistas podem reconstruir as condições ambientais, incluindo variações de temperatura, padrões de precipitação e mudanças na cobertura vegetal, ao longo de milênios.

**2. Pesquisa Climática:** Os dados armazenados nessas cavernas podem contribuir significativamente para a pesquisa climática. Compreender as flutuações climáticas passadas pode ajudar os cientistas a prever e a preparar-se melhor para as futuras alterações climáticas, a avaliar o impacto das atividades humanas no ambiente e a desenvolver estratégias eficazes de mitigação e adaptação.

**3. Biodiversidade e Dinâmica de Ecossistemas:** Os depósitos de guano geralmente contêm informações valiosas sobre ecossistemas passados, incluindo a diversidade e distribuição de espécies. Ao analisar os restos de plantas e animais preservados nestes depósitos, é possível reconstruir padrões de biodiversidade passados e acompanhar as mudanças na composição das espécies ao longo do tempo. Esta informação é essencial para os esforços de conservação e gestão dos ecossistemas.

**4. Patrimônio Natural:** As cavernas da Serra dos Carajás servem de abrigo para diversas espécies de morcegos cavernícolas. A preservação destes locais garante a manutenção das redes de interações ecológicas e a perpetuidade dos serviços ecossistêmicos prestados pelos morcegos.

**5. Exploração Científica e Inovação:** Cavernas ferríferas com depósitos de guano bem preservados apresentam oportunidades únicas para investigação científica. Os

pesquisadores podem empregar técnicas avançadas, como análise isotópica, datação por radiocarbono, biologia molecular e análise de redes, para extrair informações detalhadas desses arquivos que podem fornecer desde informações sobre composição de espécies atuais a variações das redes de interações ecológicas ao longo do tempo.

Por fim, a preservação de cavernas com espessos e antigos depósitos de guano e espeleotemas na Serra dos Carajás é essencial para avançar na nossa compreensão sobre o funcionamento dos ecossistemas únicos dessa região. Ao salvaguardar estes valiosos arquivos ambientais, podemos continuar a desvendar os mistérios da história do nosso planeta e gerir melhor seus recursos naturais.

### **Referências**

- ALVARES, C.A., STAPE, J.L., SENTELHAS, P.C., DE MORAES GONÇALVES, J.L. & SPAROVEK, G. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol. Zeitschrift* 22(6):711–728.
- BAKER, P.A., DUNBAR, R.B., CROSS, S.L., SELTZER, G.O., GROVE, M.J., ROWE, H.D., FRITZ, S.C., TAPIA, P.M. & BRODA, J.P. 2001. The History of South American Tropical Precipitation for the Past 25 , 000 Years. *Science* (80-. ). 291640–643.
- BASUMATARY, S.K. & BERA, S.K. 2014. Modern pollen record on bat guano deposit from Siju cave and its implication to palaeoecological study in south Garo hills of Meghalaya, India. *J. Cave Karst Stud.* 76(3):173–183.
- BATINA, M.C. & REESE, C.A. 2011. A Holocene pollen record recovered from a guano deposit: Round Spring Cavern, Missouri, USA. *Boreas* 40(2):332–341.
- BIRD, M.I., BOOBYER, E.M., BRYANT, C., LEWIS, H.A., PAZ, V. & STEPHENS, W.E. 2007. A long record of environmental change from bat guano deposits in Makangit Cave, Palawan, Philippines. *Earth Environ. Sci. Trans. R. Soc. Edinburgh* 98(1):59–69.
- BIRD, M.I. & POUSAI, P. 1997. Variations of  $\delta^{13}\text{C}$  in the surface soil organic carbon pool. *Global Biogeochem. Cycles* 11(3):313–322.

- BLAAUW, M. & CHRISTEN, J.A. 2011. Flexible paleoclimate age-depth models using an autoregressive gamma process. *Bayesian Anal.* 6(3):457–474.
- BUSH, M.B. 2017. The resilience of Amazonian forests. *Nature* 541:167–168.
- BUSH, M.B., SILMAN, M.R. & URREGO, D.H. 2004. 48,000 Years of Climate and Forest Change in a Biodiversity Hot Spot. *Science* (80-. ). 303(5659):827–829.
- CARREIRA, L.M.M. & BARTH, O.M. 2003. Atlas de Pólen da vegetação de Canga da Serra de Carajás. First ed. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém.
- CARRIÓN, J.S., SCOTT, L. & MARAIS, E. 2006. Environmental implications of pollen spectra in bat droppings from southeastern Spain and potential for palaeoenvironmental reconstructions.
- CASTUERA-OLIVEIRA, L., DE OLIVEIRA-FILHO, A.T. & EISENLOHR, P. V. 2020. Emerging hotspots of tree richness in Brazil. *Acta Bot. Brasilica* 34(1):117–134.
- COLINVAUX, P., OLIVEIRA, P.E. de & PATIÑO, J.E.M.. 1999. Amazon Pollen Manual and Atlas. Harwood Academic Publishers.
- EHLERINGER, J.D., BUCHMANN, N., FLANAGAN, L.B. 2000. Carbon isotope ratios in belowground carbon cycle processes *Ecol. Appl.*, 10, pp. 412–422.
- FLEMING, T.H., 1982. Foraging strategies of plant-visiting bats. In: Kunz, T.H. (Ed.), *Ecology of Bats*. Springer, Boston, MA, pp. 287–325.
- GALLANT, L.R., FENTON, M.B., GROOMS, C., BOGDANOWICZ, W., STEWART, R.S., CLARE, E.L., SMOL, J.P. & BLAIS, J.M. 2021. A 4,300-year History of Dietary Changes in a Bat Roost Determined From a Tropical Guano Deposit. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 126(4):1–11.
- GNASPINI, P. & TRAJANO, E. 2000. Guano communities in tropical caves. In *Ecosystems of the World* p.251–268.
- GRIMM, E.C., 2019. Tilia Version 2.6.1. Illinois State Museum, Illinois.
- GUIMARÃES, J.T.F., RODRIGUES, T.M., REIS, L.S., DE FIGUEIREDO, M.M.J.C., DA SILVA, D.F., ALVES, R., GIANNINI, T.C., CARREIRA, L.M.M., DIAS, A.C.R., DA SILVA, E.F., SAHOO, P.K., SOUSA DA SILVA, M. & SOUZA-

- FILHO, P.W.M. 2017. Modern pollen rain as a background for palaeoenvironmental studies in the Serra dos Carajás, southeastern Amazonia. *The Holocene* 27(8):1055–1066.
- GUIMARÃES, J.T.F., SAHOO, P.K., DE FIGUEIREDO, M.M.J.C., DA SILVA LOPES, K., GASTAUER, M., RAMOS, S.J., CALDEIRA, C.F., SOUZA-FILHO, P.W.M., REIS, L.S., DA SILVA, M.S., PONTES, P.R., DA SILVA, R.O. & RODRIGUES, T.M. 2021. Lake sedimentary processes and vegetation changes over the last 45k cal a bp in the uplands of south-eastern Amazonia. *J. Quat. Sci.* 36(2):255–272.
- GUIMARÃES, J.T.F., SAHOO, P.K., SOUZA-FILHO, P.W.M., MAURITY, C.W., SILVA JÚNIOR, R.O., COSTA, F.R. & DALL'AGNOL, R. 2016. Late Quaternary environmental and climate changes registered in lacustrine sediments of the Serra Sul de Carajás, south-east Amazonia. *J. Quat. Sci.* 31(2):61–74.
- HEITHAUS, E.R., 1982. Coevolution between bats and plants. In: Kunz, T.H. (Ed.), *Ecology of Bats*. Springer, Boston, MA, pp. 327–367.
- HIURA, A.L. & DA ROCHA, A.E.S. 2018. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Arecaceae. *Rodriguésia* 69(1):41–48.
- IPCC, 2021. In: Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pirani, A., Connors, S.L., Péan, C., Berger, S., Caud, N., Chen, Y., Goldfarb, L., Gomis, M.I., Huang, M., Leitzell, K., Lonnoy, E., Matthews, J.B.R., Maycock, T.K., Waterfield, T., Yelekçi, O., Yu, R., Zhou, B. (Eds.), *Climate Change 2021: the Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
- JEYAPRABA, L., VIJI MARGARET, I., ADDLINE, D., et al., 2023. Prediction of foraging strategy of insectivorous bats through their wing morphology. *J. Surv. Fish. Sci.* 10 (3S), 1903–1917.
- KOLKERT, H., ANDREW, R., SMITH, R., RADER, R. & REID, N. 2020. Insectivorous bats selectively source moths and eat mostly pest insects on dryland and irrigated cotton farms. *Ecol. Evol.* 10(1):371–388.
- LAM, M.-Y., MARTIN-CREUZBURG, D., ROTHHAUPT, K.-O., SAFI, K. & YOHANNES, E. 2013. Tracking Diet Preferences of Bats Using Stable Isotope

- and Fatty Acid Signatures of Faeces. *PLoS One* 8(12):83452.
- LEDRU, M.P., BERTAUX, J., SIFEDDINE, A. & SUGUIO, K. 1998. Absence of Last Glacial Maximum Records in Lowland Tropical Forests. *Quat. Res.* 49(2):233–237.
- MAHER, L.J. 2006. Environmental information from guano palynology of insectivorous bats of the central part of the United States of America. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 237(1):19–31.
- MARENGO, J.A. & SOUZA, C. 2018. Climate Change: impacts and scenarios for the Amazon.
- MARTINELLI, L.A., OMETTO, J.P.H.B., FERRAZ, E.S., VICTORIA, R.L., CAMARGO, P.B. de & MOREIRA, M.Z. 2009. *Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis*. 1st edition ed. Oficina de textos, São Paulo.
- MAURITY, C.W. & KOTSCHOUBEY, B. 1995. Evolução recente da cobertura de alteração no platô N1 - serra dos Carajás-PA. Degradação, pseudocarstificação, espeleotemas. *Bol. do Mus. Para. Emílio Goeldi* 7331–362.
- MAYLE, F.E., BURBRIDGE, R. & KILLEEN, T.J. 2000. Millennial-scale dynamics of southern Amazonian rain forests. *Science* (80-. ). 290(5500):2291–2294.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente, 2018. Atualização das listas de espécies da fauna e flora ameaçadas de extinção no Brasil. <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/especies-ameacadas-de-extincao/atualizacao-das-listas-de-especies-ameacadas>
- NUNES, J.A., SCHAEFER, C.E.G.R., JÚNIOR, W.G.F., NERI, A. V., CORREA, G.R. & ENRIGHT, N.J. 2015. Soil-vegetation relationships on a banded ironstone ‘island’, Carajás Plateau, Brazilian Eastern Amazonia. *An. Acad. Bras. Cienc.* 87(4):1–14.
- DE OLIVEIRA, P.E., BARRETO, A.M.F. & SUGUIO, K. 1999. Late Pleistocene/Holocene climatic and vegetational history of the Brazilian caatinga: The fossil dunes of the middle Sao Francisco River. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 152(3–4):319–337.
- PADUANO, G.M., BUSH, M.B., BAKER, P.A., FRITZ, S.C. & SELTZER, G.O. 2003.

- A Vegetation and Fire History of Lake Titicaca since the Last Glacial Maximum. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 194259–279.
- PENDLETON, M.W., BRYANT, V.M., PENDLETON, B.B., 1996. Entomopalynology. In: Jansonius, J., McGregor, D.C. (Eds.), *Palynology: Principles and Applications*, American Association of Stratigraphic Palynologists Series, vol. 3. Dallas, Foundation, pp. 939–943.
- PESSENDA, L.C.R., GOMES, B.M., ARAVENA, R., RIBEIRO, A., BOULET, R. & GOUVEIA, S.E.M. 1998. The carbon isotope record in soils along a forest-cerrado ecosystem transect: implications for vegetation changes in the Rondonia state, southwestern Brazilian Amazon region. *The Holocene* 8,5599–603.
- PILÓ, L.B., AULER, A.S. & MARTINS, F. 2015. Carajás National Forest: Iron Ore Plateaus and Caves in Southeastern Amazon. In *Landscapes and Landforms of Brazil* Springer, p.273–283.
- PILÓ, L.B., CALUX, A.I., SCHERER, R. & BERNARD, E.I. 2023. Bats as ecosystem engineers in iron ore caves in the Carajás National Forest, Brazilian Amazonia J.-Z. Wan, ed. *PLoS One* 18(5):e0267870.
- PRADO, L.F., WAINER, I., CHIESSI, C.M., LEDRU, M.-P. & TURCQ, B. 2013. A mid-Holocene climate reconstruction for eastern South America. *Clim. Past* 92117–2133.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- REIS, L.S., BOULOUBASSI, I., MENDEZ-MILLAN, M., GUIMARÃES, J.T.F., DE ARAÚJO ROMEIRO, L., SAHOO, P.K. & PESSENDA, L.C.R. 2022. Hydroclimate and vegetation changes in southeastern Amazonia over the past ~25,000 years. *Quat. Sci. Rev.* 284.
- REIS, L.S., GUIMARÃES, J.T.F., SOUZA-FILHO, P.W.M., SAHOO, P.K., DE FIGUEIREDO, M.M.J.C., DE SOUZA, E.B. & GIANNINI, T.C. 2017. Environmental and vegetation changes in southeastern Amazonia during the late Pleistocene and Holocene. *Quat. Int.* 44983–105.
- REIS, L.S., DE OLIVEIRA, P.E. & YAO, Q. 2023. A comprehensive procedure for

- pollen extraction from bat guano deposits in organic and detrital matrices. *MethodsX* 11(August):102405.
- ROUBIK, D.W. & MORENO, J.E. 1991. Pollen and spores of Barro Colorado Island. Missouri Botanical Garden.
- SCHAEFER, C.E., CÂNDIDO, H.G., CORRÊA, G.R., PEREIRA, A., NUNES, J.A., SOUZA, O.F., MARINS, A., FERNANDES-FILHO, E. & KER, J.C. 2015. Solos desenvolvidos sobre canga ferruginosa no Brasil: uma revisão crítica e papel ecológico de termiteiros. In *Geossistemas Ferruginosos do Brasil: áreas prioritárias para conservação da diversidade geológica e biológica, patrimônio cultural e serviços ambientais* p.77–102.
- SHAHACK-GROSS, R., BERNA, F., KARKANAS, P. & WEINER, S. 2004. Bat guano and preservation of archaeological remains in cave sites. *J. Archaeol. Sci.* 31(9):1259–1272.
- SILVA JÚNIOR, R.O., DE SOUZA, E.B., TAVARES, A.L., MOTA, J.A., FERREIRA, D.B.S., SOUZA-FILHO, P.W.M. & DA ROCHA, E.J.P. 2017. Three decades of reference evapotranspiration estimates for a tropical watershed in the eastern Amazon. *Ann. Brazilian Acad. Sci.* 89(3):1985–2002.
- SIMMONS, N.B. & CONWAY, T.M. 2003. Evolution of ecological diversity in bats, p. 493-535. In: T.H. Kunz & M.B. Fenton (Eds). *Bat ecology*. Chicago, University of Chicago Press, 798p.
- STOCKMARR, J. 1971. Tablets with spores used in absolute pollen analysis. *Pollen et Spores* 13:615–621.
- STUIVER, M. & POLACH, H.A. 1977. Discussion: Reporting and Calibration of <sup>14</sup>C Data. *Radiocarbon* 19(03):355–363.
- TAVARES, A.L., CARMO, A.M.C. do, JÚNIOR, R.O. da S., SOUZA-FILHO, P.W.M. e, SILVA, M.S. da, FERREIRA, D.B. da S., JÚNIOR, W. da R.N. & DALL'AGNOL, R. 2018. Climate indicators for a watershed in the eastern Amazon. *Rev. Bras. Climatol.* 23: 389-410.
- TAVARES, V.C., PALMUTI, C.F.S., GREGORIN, R., et al., 2012. Morcegos. In: Martins, F.D., et al. (Eds.), *Fauna da Floresta Nacional de Carajás. Estudos Sobre*

Vertebrados Terrestres. Nitro Imagens, São Paulo, pp. 157–173.

- WELTJE, G.J. & TJALLINGII, R. 2008. Calibration of XRF core scanners for quantitative geochemical logging of sediment cores: Theory and application. *Earth Planet. Sci. Lett.* 274(3–4):423–438.
- WIDGA, C. & COLBURN, M. 2015. Paleontology and paleoecology of guano deposits in Mammoth Cave, Kentucky, USA. *Quat. Res. (United States)* 83(3):427–436.
- WILLIG, M.R., CAMILO, G.R. & NOBLE, S.J. 1993. Dietary overlap in frugivorous and insectivorous bats from edaphic cerrado habitats of Brazil. *J. Mammal.* 74(1):117–128.
- WURSTER, C.M., MCFARLANE, D.A., BIRD, M.I., ASCOUGH, P. & ATHFIELD, N.B. 2010. Stable isotopes of subfossil bat guano as a long-term environmental archive: Insights from a grand canyon cave deposit. *J. Cave Karst Stud.* 72(2):111–121.
- WURSTER, C.M., PATTERSON, W.P., MCFARLANE, D.A., WASSENAAR, L.I., HOBSON, K.A., ATHFIELD, N.B. & BIRD, M.I. 2008. Stable carbon and hydrogen isotopes from bat guano in the Grand Canyon, USA, reveal younger dryas and 8.2 ka events. *Geology* 36(9):683–686.
- YORK, H.A. & BILLINGS, S.A. 2009. STABLE-ISOTOPE ANALYSIS OF DIETS OF SHORT-TAILED FRUIT BATS (CHIROPTERA: PHYLLOSTOMIDAE: CAROLLIA). *J. Mammal.* 90(6):1469–1477.