

Recomendações para Amostragem e Extração de Microartrópodos de Solo

Introdução

Microartrópodos de solo são constituintes da mesofauna edáfica e populações de ácaros e colêmbolos são importantes indicadores de qualidade ambiental. Esta fauna habitante do solo tem hábito gregário (vive agrupada) e sua distribuição vertical (camadas do solo) e horizontal (ao longo de cada camada) é heterogênea (Butcher et al., 1971). Concentram-se em região mais próximas da superfície (0 – 10cm de profundidade) e sua presença, em maior ou menor escala, é condicionada ao equilíbrio desse meio, principalmente em relação a fatores do solo (pH, umidade, temperatura, textura, porosidade, matéria orgânica, fauna, flora e outros), à cobertura vegetal e a intervenções do homem, sem esquecer de efeitos do clima, da região geográfica e dos eventos naturais.

As alterações provocadas pela ação humana são as grandes geradoras de impactos ambientais no solo, ao se utilizar as terras para a indústria, mineração, habitação, agricultura e pecuária. Esses impactos podem atingir variados níveis negativos, dependendo, no caso da agropecuária, da maneira de uso do solo, do sistema de produção ou do manejo adotado.

Os impactos no solo podem ser medidos por meio de avaliações das populações de microartrópodos. Para esse estudo, certos cuidados devem ser tomados, desde a amostragem até a extração dos organismos, para obtenção de êxito no empreendimento, sendo este o objetivo das recomendações a seguir.

Amostragem

A coleta de amostras pode ser via solo ou via folheto e a decisão do método a ser empregado e do número de amostras a ser retirado é de extrema importância. Contudo, para a decisão devem ser considerados o objetivo do levantamento, que será determinante na escolha do equipamento de extração, e as condições do local a ser avaliado.

Via Solo

Há duas formas de amostras: uma, deformável, ou completamente desestruturada, e outra, mais estruturada, formando um torrão. A primeira forma é similar àquela realizada com a finalidade de enviar amostras para análises de fertilidade de solo para efeito de adubação e/ou calagem e pode ser retirada com auxílio de trados, vanga ou enxadão, obtendo-se muitas vezes "terra solta". A segunda maneira é a que utiliza anéis, pelos quais a amostra permanece mais íntegra e é comumente usada para a realização de análises físicas de solos.

3

**Circular
Técnica**

Jaguariúna, SP
Outubro, 2002

Autor

Luiz Antônio Silveira Melo
Eng. Agrônomo, Dr.
Embrapa Meio Ambiente
melo@cnpma.embrapa.br

A escolha da forma de retirada da amostra dependerá do equipamento ou método de extração da fauna que será utilizado. No caso de equipamento em que são extraídos indivíduos vivos e/ou mortos (ex. flotação), qualquer forma pode ser utilizada, mas, por esse método, a extração é extremamente trabalhosa. Método mais simples e eficaz é o que extrai somente exemplares vivos, como por exemplo “funil de Tullgren”. Neste caso, amostras retiradas por meio de anéis são preferidas, porque obtém-se resultados mais reais e número mais elevado de indivíduos, em comparação com a forma anterior, a qual, a simples desestruturação e manipulação da amostra ocasiona morte de muitos indivíduos. Por isso, a amostra de solo retirada com anel é a mais indicada para avaliação de impactos ambientais.

O anel pode ser de aço inoxidável ou confeccionado com tubo de PVC rígido (mais leve, mais barato e descartável), com um dos lados em bisel, tendo ou não tampas superiores e inferiores. Estas, em alumínio, são interessantes porque protegem a amostra e mantêm a sua umidade.

As dimensões do anel não devem ser grandes (recomenda-se 5cm de altura e 4,5cm de diâmetro) pois há implicações tanto em relação à distribuição horizontal das populações de Acari e Collembola, como do peso da amostra. A agregação implica em retirada de alto número de amostras por área (ex. uma amostra por profundidade para cada 50m²), para obtenção de melhores resultados. Por outro lado, como o processamento das amostras deve ser simultâneo para ser comparativo, para amostras grandes, e pesadas, seria necessário alto número de extratores ou redução do número de amostras, como por exemplo uma amostra/prof./200m². Então, amostras menores, e mais leves, possibilitam melhoria da amostragem, podendo ser processadas em conjunto, num só extrator, considerando-as como um ponto amostral (nos exemplos citados, seriam 4/prof./200m²).

Via Folheto

Este método emprega folhagem inserida em saquinhos de tela de náilon de malhas variadas de acordo com o grupo de artrópodos que se pretende avaliar. É internacionalmente conhecido como método do “litterbag” e foi desenvolvido por Crossley Jr. & Høglund (1962). Seu uso é baseado no comportamento de muitos artrópodos de solo, que procuram alimento (matéria orgânica) e outras condições mais favoráveis para desenvolvimento. O “litterbag” forma um bolsão orgânico no interior do solo, que atrai uma gama de organismos de variados hábitos alimentares, funcionando como uma armadilha.

O saquinho é de confecção simples, podendo as bordas serem fixadas utilizando grampeador comum, deixando aberta uma das laterais para introdução do folheto. Seu fechamento pode ser com clipe. Utiliza-se tela preta (tipo sombrite) com malha de, no máximo, 1mm, para avaliação de microartrópodos (malhas maiores possibilitarão a entrada de macroartrópodos, como o cupim, que causarão danos na amostra). O tamanho do saquinho deve ser compatível com o equipamento extrator, sugerindo-se que a parte útil tenha 9 x 9cm de lado (área total de 11 x 10cm), com capacidade para 4g de folheto seco.

A espécie do folheto influencia a população de microartrópodos (Melo, 2000) e por isso o “litterbag” deve conter a(s) mesma(s) espécie(s) de planta(s) existente(s) na área a ser avaliada, isto é, pode ter uma só espécie predominante ou uma composição proporcional das várias espécies. A folhagem colhida é picada em pedaços de aproximadamente 3cm de comprimento e no máximo 2cm de largura, sendo depois secada. A secagem é feita em estufa a 60°C, durante três dias. A secagem natural não é recomendada porque o material poderá ser “contaminado” por organismos do local.

Os saquinhos devem ser preenchidos com a mesma quantidade em peso de folheto e é conveniente que seu preparo seja em época próxima da introdução no campo, para evitar contaminação. Por este mesmo motivo, a folhagem seca remanescente, que poderá ser utilizada nas amostragens subsequentes, deve ser ensacada e armazenada em ambiente seco.

Aparentemente o método do “litterbag” é mais trabalhoso do que a amostragem de solo. Mas isto é apenas no seu preparo, pois o tempo gasto na introdução, retirada da amostra e extração é menor que pelo método do anel, além de mais eficiente, e seu uso independe das condições do solo.

Em amostras de “litterbags” pode-se obter cerca de 20 vezes mais microartrópodos do que em anéis. Em experimento realizado em 2000 na Embrapa Meio Ambiente, em cultura de milho, obtiveram-se nas parcelas testemunhas, em áreas de 200m², de 13 a 33 vezes mais ácaros e de 29 a 59 vezes mais colêmbolos em um “litterbag” de 9 x 9cm e com 4g de folheto de milho do que em solo coletado com um anel de 5 x 4,5cm. A maior quantidade desses microartrópodos em “litterbag” ocorre porque há o efeito de atratividade e de proporcionar um habitat mais favorável à fauna, ou seja, alimento, umidade e proteção, que influenciam também na reprodução. Assim, um “litterbag” substituiria 20 anéis e, considerando os exemplos anteriores (dos anéis), seria utilizado 1litt./1000m². Entretanto, como é desejável captura superior às obtidas com anel, recomenda-se utilizar 1 “litterbag” para área com até 500m².

COLETA DAS AMOSTRAS

O local de retirada da amostra em área com cultura situa-se na linha, próximo à planta (rizosfera), pois nessa região a fauna se concentra por encontrar condições mais favoráveis. A coleta de amostras, com anel ou "litterbag", tem uma série de particularidades que devem ser conhecidas para obtenção de sucesso.

Anel

O uso do anel não é indicado em áreas de solo seco com textura arenosa ou de solo desestruturado devido a operações de cultivo, porque a amostra se soltará do anel, prejudicando a fase de extração da fauna. Em áreas pedregosas seu uso também não é indicado, pela dificuldade de retirada da amostra. Nesses casos deve-se optar pelo "litterbag".

Os materiais necessários, além dos anéis são: uma marreta pequena, uma pazinha de jardim, um anel sem bisel e um pedaço de madeira resistente (tabuinha de 15 x 8cm). Deve-se ter também o recipiente para transporte das amostras (caixa e saco plástico).

A coleta inicia-se por uma limpeza da superfície e raspagem da terra solta. A introdução do anel é feita batendo-se a marreta na tabuinha colocada sobre ele; após isto, encaixa-se o anel sem bisel no "anel amostra", coloca-se a tabuinha sobre aquele e marreta-a até o anel amostra ser totalmente preenchido. Com a pazinha, cava-se o solo na região lateral do anel introduzido e o retira; limpa-se a terra excedente, tampa-se ou não o anel e este é colocado no recipiente para transporte, com o lado em bisel voltado para baixo. As amostras que porventura forem processadas no mesmo extrator devem permanecer agrupadas.

Saquinho com folheto

Essa técnica permite amostragem em qualquer tipo de terreno e condição, sobre ou sob o solo. Para esta última, o material necessário é pazinha de jardim, marreta, estacas, tesoura e sacos plásticos pretos.

Para introdução no solo é feita uma limpeza da superfície e aberta uma cavidade, na profundidade desejada, com fundo plano e lados pouco maiores que o saquinho. Este é depositado no fundo e recoberto com a terra, que será levemente afirmada. Sugere-se que a cavidade tenha aproximadamente 8cm de profundidade, cobrindo-se o "litterbag" com aproximadamente 4cm de terra. O local será marcado com uma estaca e, se for o caso, os detritos antes existentes devem ser repostos na superfície.

É recomendável que o "litterbag" seja inserido onde não será realizado cultivo do solo (para culturas anuais deve ser colocado entre plantas da linha) ou em local de passagem.

O tempo de permanência do "litterbag" no solo é variável em função do que se pretende, porém quatro semanas são suficientes para obtenção de resposta. A retirada, feita com pazinha, deve ser cuidadosa para não causar danos à amostra e à fauna; raízes atravessadas são cortadas com tesoura nas duas faces e mantidas no saquinho. Cada amostra será colocada em saco preto, identificado, que deve ser mantido à sombra.

Cada tipo de pesquisa tem característica própria. Por exemplo, para estudo de flutuação populacional é necessária a reposição do "litterbag" logo após uma coleta. É conveniente que o próximo seja introduzido na mesma cavidade do anterior (retira-se um e coloca-se outro), porque no local haverá população similar àquela que saiu no "litterbag" coletado. Em outro local as condições podem diferenciar do primeiro, influenciando na coleta.

TRANSPORTE E ARMAZENAGEM DAS AMOSTRAS

As amostras devem ser mantidas e transportadas abrigadas do sol, evitando-se o calor excessivo; com tempo muito quente é recomendável sua manutenção em caixa de isopor previamente resfriada.

Durante o transporte, devem ser evitados solavancos que possam prejudicar as amostras em anéis.

Tão logo sejam coletadas, as amostras devem ser encaminhadas para extração, pois armazenamento superior a 24 horas provavelmente causará morte de indivíduos mais sensíveis (não há informação sobre período e condição de armazenamento para a mesofauna brasileira).

Por essas razões, o local de amostragem não pode ser muito distante do local de extração.

EXTRAÇÃO

A extração de espécimes vivos pode ser realizada por funil de Tullgren modificado, método este que tem sido empregado em avaliações de experimentos da Embrapa Meio Ambiente (Melo & Ligo, 1999) e que é descrito neste trabalho, ou por funil de Berlese-Tullgren modificado que foi utilizado e descrito por Oliveira et al. (2001).

Os Extratores (funil de Tullgren modificado)

Cada extrator, visto de cima para baixo, é composto de

uma lâmpada incandescente de 60W; um tubo branco de PVC rígido de 150mm de diâmetro e 25cm de altura; um pedaço de gaze que não ultrapasse os lados do tubo; um pedaço de 22 x 22cm de tela de arame com malha de 2mm, encaixada nas bordas do funil e formando uma base côncava e plana; um funil de vidro de 25cm de altura e 18cm de boca e um frasco de vidro para recepção dos artrópodos (Figuras 1 e 2).

Foto: Luiz Antônio S. Melo



Figura 1. Detalhe do extrator: à direita o funil com a tela de arame e à esquerda com a gaze e quatro anéis com solo.

Foto: Luiz Antônio S. Melo



Figura 2. Extratores completos, em operação.

Os extratores são montados numa estante (estante de extração) que compõe-se de prateleiras com buracos circulares de 16cm de diâmetro e distanciados 15cm, onde são colocados os funis; 40cm acima dessas prateleiras há suportes para as lâmpadas e 25cm abaixo há suportes para os frascos receptores; inferiormente a estes suportes encontra-se outra fila de lâmpadas e assim sucessivamente (Figura 3). Cada suporte de lâmpadas contém externamente um interruptor para facilitar qualquer manuseio na fila de funis, sem haver necessidade de desligar todos os extratores.

É conveniente que a sala de extração não tenha aberturas para o exterior, de tamanhos que possam passar insetos noturnos como mariposas, besouros e outros. Esses insetos, atraídos pela luz, poderão causar danos nas amostras finais (frascos). Para contornar esse problema, a estante poderá ser envolvida com tela.



Foto: Luiz Antônio S. Melo

Figura 3. Estante extratora em operação, com 24 extratores em três prateleiras.

A Extração

A estante extratora deverá ser previamente preparada, de maneira que a extração, após a chegada das amostras, tenha início o mais rápido possível. Será colocado um "litterbag" ou até quatro anéis por funil, estes na posição inversa à da coleta, ou seja, a parte do bisel do anel ficará voltada para cima. Na saída do funil, o frasco, devidamente identificado, conterá solução de álcool 96 + glicerina + água, na proporção de 1:1:1 e o nível do líquido deverá ser de 2cm de altura. O terminal do funil deverá ficar cerca de 1cm abaixo do nível da boca do frasco, não tocando o líquido.

O preparo para extração inicia-se pela colocação do funil e sobre ele a tela de arame e a gaze; após isto, coloca-se a amostra, cuidadosamente (Figura 1); depois coloca-se o tubo de PVC sobre a tela de arame, tomando cuidado para que: (a) a lâmpada fique centralizada, (b) o tubo não tombe e (c) a gaze não fique para fora do tubo. Isto feito, coloca-se o frasco receptor. Após a estante estar completa, as lâmpadas são acesas.

O período de extração é de 24 horas para "litterbag" e 72 horas para anel. Diariamente, pela manhã, verifica-se se não há lâmpadas queimadas e também observa-se os níveis das soluções nos frascos, completando-os, se necessário, com álcool 70%, colocado por intermédio de piceta.

Encerrada a extração, primeiramente são retirados todos os frascos receptores. Só depois disso retiram-se os demais materiais. Este cuidado evita queda excessiva de terra no frasco, o que tornará mais difícil a observação dos artrópodos. Os frascos contendo os artrópodos terão os níveis da solução aumentados para cerca de 4cm de altura e serão armazenados para posterior identificação e contagem dos espécimes.

Finalmente, recomenda-se que os resultados obtidos em unidades amostrais não sejam extrapolados para "densidade" (número por m² ou por ha), pois a distribuição dos microartrópodos, no solo, não é homogênea.

Referências Bibliográficas

BUTCHER, J.W.; SNIDER, R.; SNIDER, R.J. Bioecology of edaphic Collembola and Acarina. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.24, p. 249-288, 1971.

CROSSLEY JR., D.A.; HOGLUND, M.P. A litter-bag method for the study of microarthropods inhabiting leaf litter. **Ecology**, Durham, v.43, n.3, p.571-573, 1962.

MELO, L.A.S.; LIGO, M.A.V. Amostragem de solo e uso de "litterbags" na avaliação populacional de microartrópodos edáficos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.3, p.523-528, 1999.

MELO, L.A.S. Influência do folheto na agregação de ácaros e colêmbolos. **Revista Científica Rural**, Bagé, v.5, n.2, p.46-49, 2000.

OLIVEIRA, A.R.; MORAES, G.J. de; DEMÉTRIO, C.G.B.; DE NARDO, E.A.B. Efeito do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatilis* sobre Oribatida edáficos (Arachnida:Acari) em um campo de soja. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 32p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa, 13).

Circular Técnica, 3

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA
E DO ABASTECIMENTO

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Meio Ambiente
Endereço: Rodovia SP-340 - Km 127,5
Tanquinho Velho - Caixa Postal 69
Cep.13820-000 - Jaguariúna, SP
Fone: (19) 3867-8700
Fax: (19) 3867-8740
E-mail: sac@cnpma.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2002): tiragem 400 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: Geraldo Stachetti Rodrigues
Secretário-Executivo: Nilce Chaves Gattaz
Secretária: Maria Cristina Tordin
Membros: Roberto Cesnik, Wagner Bettiol,
Shirlei Scramin, Júlio F. de Queiroz,
Aldemir Chaim, Heloisa F. Filizola,
Flávio Dynia

Expediente

Supervisor editorial: Nilce Chaves Gattaz,
Silvana Cristina Teixeira
Revisão de texto: Maria Cristina Tordin
Tratamento das ilustrações: Alexandre R. Conceição
Editoração eletrônica: Alexandre R. Conceição