

Método *bait-lamina* para a avaliação da atividade alimentar de invertebrados edáficos

Eficiência, limitações e adaptações para seu uso



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

DOCUMENTOS 392

Método *bait-lamina* para a avaliação da atividade alimentar de invertebrados edáficos

Eficiência, limitações e adaptações para seu uso

*Cintia Carla Niva
Karina Pulrolnik
Robélio Leandro Marchão
Arminda Carvalho
Cynthia Torres de Toledo Machado
Cícero Donizete Pereira
Juaci Vitoria Malaquias
Lourival Vilela
Jörg Römbke*

Exemplar desta publicação disponível gratuitamente no link: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>

Embrapa Cerrados
BR 020, Km 18, Rod. Brasília / Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73310-970, Planaltina, DF
Fone: (61) 3388-9898
embrapa.br/cerrados
embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações da Unidade

Presidente
Lineu Neiva Rodrigues

Secretária-executiva
Alessandra Duarte de Oliveira

Secretária
Alessandra Silva Gelape Faleiro

Membros
*Alessandra Silva Gelape Faleiro;
Alexandre Specht; Edson Eyji Sano;
Fábio Gelape Faleiro; Gustavo José Braga;
Jussara Flores de Oliveira Arbues;
Kleberson Worsley Souza;
Maria Madalena Rinaldi;
Shirley da Luz Soares Araujo*

Supervisão editorial
Jussara Flores de Oliveira Arbues

Revisão de texto
*Margit Bergener L. Guimarães
Jussara Flores de Oliveira Arbues*

Normalização bibliográfica
Shirley da Luz Soares Araújo

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica e
tratamento das ilustrações
Wellington Cavalcanti

Foto da capa
Cintia Carla Niva

Impressão e acabamento
Alexandre Moreira Veloso

1ª edição
1ª impressão (2021): tiragem (30 exemplares)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Cerrados

M593 Método *bait-lamina* para a avaliação da atividade alimentar de invertebrados edáficos: eficiência, limitações e adaptações para seu uso / Cintia Carla Niva... [et al.]. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2021.

39 p. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111, ISSN on-line 2176-5081, 392).

1. Qualidade do solo. 2. Biodiversidade. 3. Cerrado. I. Niva, Cintia Carla. II. Embrapa Cerrados. III. Série.

CDD (21 ed.) 595.146

Autores

Cintia Carla Niva

Bióloga, Ph.D. em Molecular Science (Ciências/ Fisiologia Geral), pesquisadora da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Karina Pulrolnik

Engenheira florestal, doutora em Solos e Nutrição de Plantas, pesquisadora da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Robélio Leandro Marchão

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Arminda Carvalho

Engenheira-agrônoma, doutora em Ecologia, pesquisadora da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Cynthia Torres de Toledo Machado

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Cícero Donizete Pereira

Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Bioquímica, pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Juaci Vitoria Malaquias

Estatístico, mestre em Ciência de Materiais em Modelagem e Simulação Computacional, analista da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Lourival Vilela

Engenheiro-agrônomo, mestre em Solos e Nutrição de Plantas, pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Jörg Römbke

Zoólogo, Ph.D. em Biologia, pesquisador da ECT Oekotoxikologie GmbH, Alemanha

Agradecimentos

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) pelo apoio financeiro por meio do projeto 193.000.904/2015 e à Embrapa por meio dos projetos 03.17.00.030.00.00 e 13.16.04.039.00.00.

Aos colegas do setor de laboratórios e de campo que auxiliaram no trabalho, sempre com muita dedicação e responsabilidade, em especial William de Matos Araújo, Ironei Rodrigues de Sousa e Maurivan Ribeiro Coelho.

Aos estagiários estudantes da Universidade de Brasília (UnB), União Pioneira de Integração Social (UPIS), Instituto Federal de Brasília (IFB), Instituto Avançado de Ensino Superior (IAESB/FASB) que auxiliaram neste trabalho.

À Carolina Musso, Vanessa Menezes Oliveira e Julia Niemeyer por compartilhar suas experiências e emprestar as *bait-laminas* na fase inicial do trabalho.

Apresentação

O presente documento descreve como utilizar o método *bait-lamina* na mensuração da atividade alimentar de invertebrados decompositores do solo. Tal método tem sido cada vez mais utilizado em diversas partes do mundo por ser simples e por se tratar de um indicador funcional da qualidade do solo relacionado à atividade biológica. Inicialmente a equipe adquiriu uma quantidade pequena de lâminas e testou o método de forma preliminar em pequenas áreas. Parte dos resultados são relatados neste documento. O aprendizado com a utilização do método, as dificuldades e as vantagens são relatadas. Uma parte do presente documento teve origem em algumas dificuldades que surgiram durante o seu uso em laboratório e campo e as dúvidas frequentes de usuários principiantes e potenciais ao longo de 3 anos de uso das *bait-laminas*. São poucos os indicadores disponíveis sobre o funcionamento do solo para os invertebrados, parte importante da biota do solo e que devem ser conservados para que não haja perda da biodiversidade. Portanto, esperamos que este documento e essa ferramenta sejam úteis para aqueles que queiram complementar seus estudos de monitoramento da qualidade do solo e de sistemas.

Sebastião Pedro da Silva Neto
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

Introdução.....	11
Preparo, aplicação e interpretação do método <i>bait-lamina</i>	12
Descrição e construção das lâminas.....	13
Material para a isca e o seu preparo	14
Preenchimento da lâmina com iscas.....	14
Material para o transporte e conservação das lâminas.....	16
Material para instalação no campo e equipamentos de proteção individual	16
Reagentes para higienização e limpeza	17
Equipamentos de laboratório	17
Instalação das lâminas.....	17
Retirada das lâminas.....	18
Desenho experimental e tempo de exposição das lâminas	20
Avaliação do consumo das iscas	22
Interpretação dos resultados e cálculo da atividade alimentar	25
Apresentação dos dados e análise estatística	26

Exemplos de aplicação e interpretação dos resultados	27
Composição da isca para avaliação da atividade alimentar de invertebrados.....	27
Aplicações do método <i>bait-lamina</i> : eficiência e limitações	29
Dúvidas frequentes.....	35
Considerações finais	37
Referências	37

Introdução

O solo é um recurso não renovável pois uma vez degradado pode levar várias gerações até que se recupere. Por meio do solo o homem obtém benefícios para a agricultura e a manutenção de ecossistemas terrestres na forma de serviços ecossistêmicos, tais como produtividade primária, provisão e ciclagem de nutrientes, sequestro e regulação do carbono, regulação e purificação da água e habitat para a biodiversidade. Esses serviços são desencadeados por complexas interações entre os micro e macroorganismos, plantas, animais e o componente mineral que mantêm o funcionamento do solo (Creamer et al., 2016).

A produção agropecuária sustentável tem sido cada vez mais demandada pela sociedade. Um dos desafios é encontrar indicadores que mensurem o quanto um determinado sistema agrícola (e os manejos utilizados) pode interferir nas funções do solo, prejudicando ou melhorando a provisão dos serviços ecossistêmicos. Proteger e deter a perda da biodiversidade é um dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável 15 sobre “Vida na Terra” da Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (Barroso et al., 2018). No caso do solo, isso implica manter ou criar condições favoráveis à sobrevivência e manutenção dos organismos para preservar a função habitat do solo.

Nesse contexto, uma ferramenta de pouca complexidade e diretamente relacionada com a atividade dos organismos vivos seria uma forma desejável de avaliação da qualidade biológica do solo para inferir a sustentabilidade do sistema agrícola. O *bait-lamina* (lâmina isca em inglês) é um método de avaliação funcional da qualidade do solo por meio da mensuração da atividade alimentar dos invertebrados edáficos criada por von Törne (1990). Pequenas lâminas retangulares com orifícios circulares preenchidos com uma isca à base de celulose são inseridas no solo onde permanecem por um determinado período. Ao consumirem a isca, os invertebrados decompositores ativos presentes no solo como, por exemplo, minhocas, enquitreídeos, ácaros e colêmbolos abrem cavidades ou a perfuram, (van Gestel et al., 2003). Assim, quanto maior o consumo, maior será a quantidade de orifícios abertos e, consequentemente, a atividade alimentar estimada dos invertebrados no local (von Törne, 1990; Musso et al., 2014). Os orifícios distribuídos verticalmente permitem uma avaliação por profundidade do solo até 8 cm. O método foi

aperfeiçoado por Kratz (1998) e padronizado e descrito internacionalmente na norma International Organization for Standardization 18311 (2016). O método, embora não permita fazer análise de abundância ou diversidade de invertebrados que se alimentam das iscas, tem sido cada vez mais citado na literatura científica como um indicador funcional da qualidade biológica do solo. A simplicidade de execução torna o método *bait-lamina* extremamente atrativo e interessante para avaliações expeditas da funcionalidade do solo do ponto de vista da atividade da fauna edáfica decompositora.

O *bait-lamina* já foi utilizado para comparar sistemas agrícolas sob diferentes manejos e auxiliar na avaliação da qualidade do solo em relação à sua função de habitat para os organismos habitantes do solo (Graenitz; Bauer, 2000; Birkhofer et al., 2011; Podgaisky et al., 2011; Tao et al., 2016; Pessoto et al., 2020). O método foi utilizado em vários trabalhos que estudaram os efeitos do uso de agrotóxicos e outros insumos sobre a atividade alimentar dos invertebrados (Casabé et al., 2007; Niemeyer et al., 2018; Alves et al., 2020). O método também foi usado para comparar diferentes condições de áreas naturais (Römbke et al., 2006; Musso et al., 2014) ou para prever os efeitos do aquecimento global na redução de taxas de decomposição da matéria orgânica do solo (Thakur et al., 2017).

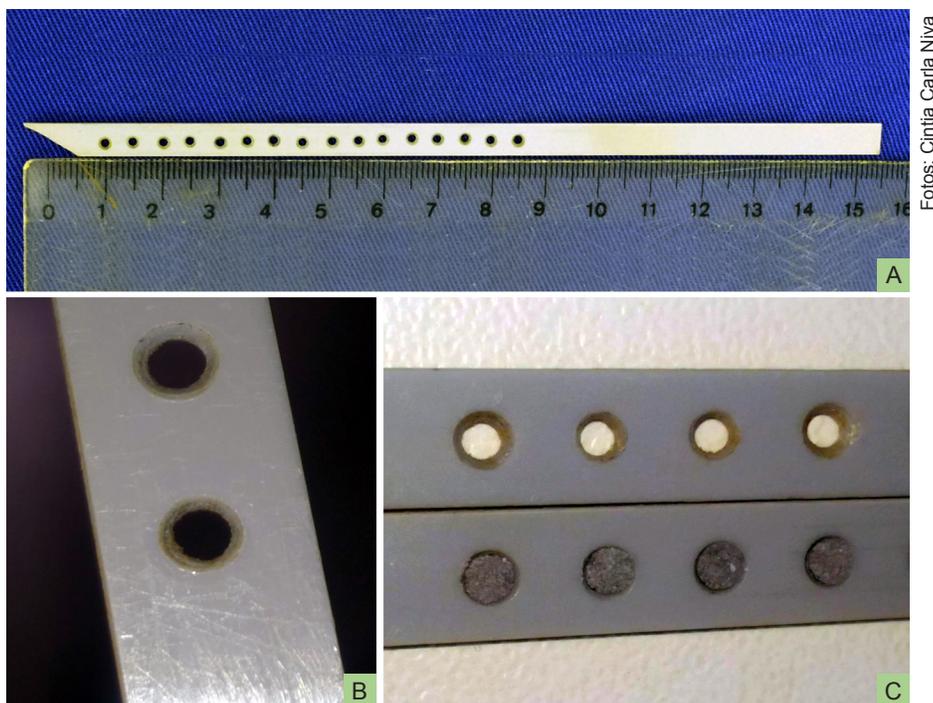
Neste documento, o método *bait-lamina* será descrito em detalhes, levando em conta necessidades de adaptações, bem como suas vantagens e limitações considerando resultados preliminares obtidos em áreas de lavoura e pastagem do Cerrado.

Preparo, aplicação e interpretação do método *bait-lamina*

O método *bait-lamina* está detalhado na norma ISO 18311 (International Organization for Standardization, 2016). A seguir, o método é descrito de maneira mais pormenorizada do que na norma em algumas etapas mais críticas em que normalmente os iniciantes têm dúvidas. Além dos materiais e equipamentos utilizados para montagem das lâminas e preparo da isca, serão descritos a seguir os procedimentos para instalação no campo, leitura e interpretação dos resultados e as adaptações adotadas.

Descrição e construção das lâminas

As lâminas são confeccionadas em PVC nas dimensões de 150 mm (comprimento) x 6 mm (largura) x 1 mm (espessura) perfuradas com 16 orifícios distantes 5 mm uma da outra a partir de 85 mm da extremidade inferior pontiaguda (Figura 1A). As perfurações devem ser cônicas em ambas as faces da lâmina para favorecer a fixação da isca (Figura 1B e 1C). O primeiro orifício corresponde à profundidade de 0,5 cm do solo, e o último, mais próximo da extremidade pontiaguda, corresponde a 8,0 cm de profundidade. Os resultados apresentados no presente estudo foram gerados utilizando-se lâminas fabricadas e comercializadas pela empresa alemã *terra protecta GmbH*, não são comercializadas no Brasil, mas que podem ser confeccionadas artesanalmente.



Fotos: Cintia Carla Niva

Figura 1. *bait-lamina* de PVC de 150 mm x 6 mm x 1 mm com 16 perfurações (A) ao lado de uma régua. Detalhe da cavidade perfurada em formato cônico (B). Detalhe de lâminas com perfurações vazias e preenchidas com isca (C).

Material para a isca e o seu preparo

- Celulose microcristalina (70%).
- Farinha de aveia (27%).
- Carvão ativado em pó (3%).
- Água deionizada.

As perfurações das lâminas de PVC descritas no item anterior (Figura 1) devem ser preenchidas com uma mistura de celulose microcristalina, farinha de aveia, carvão ativado em pó e água deionizada em quantidade suficiente para formar uma massa moldável (Figura 2A). Os componentes secos devem ser pesados, misturados na proporção indicada, acondicionados em frascos vedados e armazenados em local fresco e sem iluminação direta até o momento do preenchimento das lâminas, ocasião em que a água é adicionada.



Fotos: Cintia Carla Niva

Figura 2. Massa da isca pronta para o preenchimento das perfurações da lâmina (A). Preenchimento com isca (B).

Preenchimento da lâmina com iscas

Antes do procedimento, as mãos devem ser lavadas com detergente neutro e enxaguadas com água abundante para remover os vestígios de gordura, perfume ou outro produto. Alternativamente use luvas como, por exemplo, as

nitrílicas sem talco, por não possuírem cheiro que possa se impregnar na isca e interferir no comportamento dos invertebrados. A bancada deve estar limpa, sem sujeira, poeira ou outro resíduo que seja fonte de contaminação.

A mistura seca para a isca (30 g) deve ser umedecida com água deionizada, adicionada gota a gota com uma pipeta, até atingir uma consistência pastosa (semelhante à massinha de modelagem) que permita ser moldada (Figura 2A). Dependendo da eficiência no preenchimento, essa quantidade é suficiente para 15 lâminas. Uma massa com aspecto levemente farelado preencherá de forma mais eficiente. O excesso de umidade pode favorecer o surgimento de falhas na isca após o preenchimento e secagem, uma vez que a massa mais úmida fica menos espessa e rasga com mais facilidade devido à contração durante a secagem. A farinha de aveia pode ser substituída por outro material orgânico dependendo do objetivo do trabalho e da disponibilidade como, por exemplo, farelo ou farinha de trigo (Podgaisky et al., 2011; International Organization for Standardization, 2016), pó de folhas de *Urtica dioica* (Gongalsky et al., 2008), que é rica em proteína e de fácil obtenção nos países de clima temperado, ou outro material, mas isso pode alterar a capacidade de adesão da isca na lâmina.

As lâminas devem ser preenchidas manualmente sobre uma bancada limpa. Uma pequena esfera de aproximadamente 0,5 mm de diâmetro deve ser feita e pressionada contra os orifícios da lâmina, um a um, até preenchê-los (Figura 2A e B). É possível preencher 1-2 lâminas com essa quantidade. O procedimento deve ser repetido no verso da lâmina. As rebarbas e o excesso da massa ao redor das perfurações devem ser removidos. As lâminas preenchidas devem ser secas à sombra em local limpo, fresco e arejado por um período entre 12h e 24h. Após esse período, o preenchimento é refeito em todas as lâminas para cobrir as falhas que surgiram após a secagem com o intuito de padronizar a quantidade de isca. A observação das lâminas contra a luz ajuda a detectar falhas de preenchimento. Normalmente, duas camadas de massa são suficientes para o completo preenchimento. As rebarbas podem ser reutilizadas para preencher a lâmina seguinte umedecendo a massa novamente se necessário. Porém esse aproveitamento deve ser evitado depois de muitas horas ou após manuseio excessivo, uma vez que pode ocorrer o desenvolvimento de microrganismos na isca. Em geral, uma pessoa com

prática, é capaz de preencher uma camada de isca em 100–150 lâminas por dia de trabalho com facilidade.

As lâminas preenchidas estarão prontas para uso após secagem da isca por pelo menos 72 horas (Figura 1C), em local fresco e arejado. A sobreposição e o abafamento das lâminas recém preenchidas devem ser evitados devido ao risco do desenvolvimento de fungos sobre a isca, sobretudo nos dias mais quentes e em locais com maior umidade do ar.

Material para o transporte e conservação das lâminas

- Sacos plásticos.
- Papel alumínio para embalar e imobilizar as lâminas dentro dos sacos plásticos.
- Etiquetas autoadesivas para identificação das amostras.
- Canetas de tinta permanente para anotações no saco plástico.

Material para instalação no campo e equipamentos de proteção individual

- Placas de Petri para o preparo da massa de isca.
- Espátulas para misturar a massa de isca.
- Pipetas Pasteur ou conta gotas para umedecer a isca.
- Facas com lâmina reta de 15 cm a 20 cm de comprimento e não mais que 3 cm de largura, para abertura das fendas no solo (por exemplo: faca de pão, faca de desossa).
- Marreta ou martelo para auxiliar na abertura das fendas no solo.
- Luvas nitrílicas para preenchimento das iscas e instalação das lâminas no campo.
- Baldes para carregar as ferramentas e lâminas nos ensaios a campo.
- Caixa térmica para o transporte das lâminas do laboratório para o campo e vice versa.

- Estacas de marcação no campo para facilitar localização do ponto, preferencialmente finas, para evitar distúrbio no ambiente e. Em matas, fitas coloridas podem ser amarradas em árvores próximas ao ponto.
- Pinça de ponta fina ou estilete para limpeza e remoção das iscas das lâminas.
- Escova macia para limpeza das lâminas.

Reagentes para higienização e limpeza

- Hipoclorito de sódio a 10%, para limpeza das lâminas após uso em solo com algum tipo de contaminação.
- Detergente líquido neutro, para lavar as lâminas e as bancadas de trabalho.
- Etanol 70% para limpar as lâminas e as bancadas de trabalho.

Equipamentos de laboratório

- Balança analítica ou semianalítica.
- Geladeira, para conservação temporária das lâminas trazidas do campo.
- Lupa binocular, para auxiliar na identificação e contagem das iscas consumidas.

Instalação das lâminas

Em cada ponto amostral, o excesso de serapilheira ou palhada deve ser removido para que seja possível visualizar a superfície do solo e facilitar a inserção das lâminas. Em seguida, uma fenda perpendicular à superfície do solo deve ser feita com o auxílio de uma faca de lâmina estreita. No caso de solos mais compactados, o uso de uma marreta de borracha ou um martelo pode ser necessário para permitir a penetração adequada. A faca deve ser removida cuidadosamente para evitar desestruturação do solo movimentando-se a faca apenas no sentido do corte. Caso o orifício fique muito largo, deverá ser abandonado e refeito em outro local próximo. A lâmina deve ser inserida cuidadosamente na fenda de modo a permanecer na posição verti-

cal, perpendicular à superfície e com ambas as faces em contato com o solo. O movimento de inserção da lâmina deve ser feito segurando-a o mais perto possível da superfície do solo para evitar que ela se quebre ao meio ou que as iscas se soltem (Figura 3B). Todas as iscas devem ficar enterradas, sendo que a primeira (a mais distante da extremidade pontiaguda) deve corresponder a 0,5 cm de profundidade (Figura 3C). A distância entre uma lâmina e outra deve ser de aproximadamente 3 cm. Se houver alguma raiz ou qualquer outro obstáculo que atrapalhe a distribuição equidistante, a lâmina poderá ser deslocada o quanto for necessário.

Após a instalação das lâminas no ponto amostral, a palhada ou serapilheira deve ser recolocada para que o local mantenha a condição original. O uso de estacas de marcação do ponto é recomendável para facilitar a localização das lâminas após o período de exposição (Figura 3D).

Caso haja circulação de animais, pessoas ou maquinário na área a ser avaliada, é recomendável que as lâminas fiquem protegidas para evitar que sejam pisoteadas e danificadas. Alternativamente, um número maior de lâminas deve ser usado já prevendo possíveis perdas. A proteção pode ser feita por meio de gaiolas (por exemplo, gaiolas de exclusão), ou evitando-se a instalação das lâminas nos locais ou em períodos em que os animais e/ ou maquinário estarão presentes. Em áreas de vegetação natural, deve-se levar em consideração a presença de animais silvestres que, eventualmente, podem alimentar-se das lâminas ou retirá-las do local por curiosidade.

Retirada das lâminas

As lâminas de um mesmo ponto devem ser retiradas do solo cuidadosamente e embrulhadas em uma folha de papel alumínio dobrada em forma sanfonada (Figura 4C e 4D) e com tamanho suficiente para guardar em um saco plástico devidamente identificado. Em cada dobra é colocada apenas uma lâmina. Alternativamente as lâminas podem ser enroladas em papel alumínio imobilizando-as para que não se choquem umas com as outras no transporte o que poderá aumentar o risco de perda das iscas remanescentes nos orifícios (Figura 4). As lâminas devem ser mantidas em local fresco e sombreado dentro de caixas térmicas durante o transporte para evitar a formação de mofo, e no laboratório, colocadas sob refrigeração até a leitura.



Fotos e ilustração: Cintia Carla Niva

Figura 3. Procedimento de abertura de uma fenda no solo com auxílio de uma faca e martelo, antes da inserção da bait lâmina (A). Inserção das lâminas no solo (B). Desenho esquemático mostrando a posição da lâmina depois de inserida no solo (C). Estaca de identificação feita com haste de metal e fita colorida próxima ao conjunto de lâminas (D).



Fotos: Cintia Carla Niva

Figura 4. Lâminas retiradas do solo e embaladas em folha de papel alumínio para facilitar transporte e conservação até chegar ao laboratório para fazer a leitura. Individualização das lâminas em rolo (A e B) e em sanfona (C e D).

Desenho experimental e tempo de exposição das lâminas

A ISO 18311 (International Organization for Standardization, 2016) recomenda que entre 48 e 80 lâminas sejam distribuídas, a cada hectare, em três a cinco conjuntos (amostras) de 16 lâminas ou dez conjuntos de oito lâminas e menciona a possibilidade de usar até cinco lâminas por conjunto (Figura 5). A segunda opção é mais interessante estatisticamente pois promove uma co-

bertura maior da área estudada e aumenta o número amostral, e se o número de parcelas avaliado por tratamento for de pelo menos três, a estatística se torna ainda mais robusta. Na prática, essas recomendações têm por objetivo encontrar um equilíbrio entre esforço amostral e qualidade do resultado. As 16 lâminas de um conjunto no ponto amostral são distribuídas em um grid de 4 x 4 lâminas numa área aproximada de 30 cm x 30 cm dentro da parcela (Figura 5C). A distância entre os conjuntos deve ser de aproximadamente 10m–15 m, podendo ser menor se a quantidade de pontos amostrais em uma dada área for maior. Em parcelas de poucos metros quadrados a distância entre os conjuntos e a quantidade de lâminas em cada um deles deverá ser redimensionada proporcionalmente.

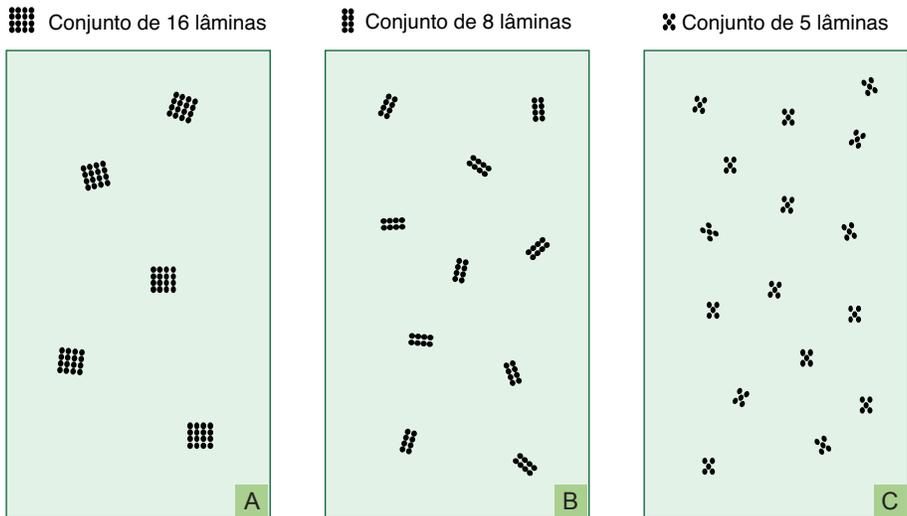


Ilustração: Cintia Carla Niva

Figura 5. Esquema hipotético de três padrões de distribuição de 80 *bait-laminas* em uma parcela de 1 ha. Cinco conjuntos de 16 lâminas (A); dez conjuntos de oito lâminas (B); 16 conjuntos de cinco lâminas (C). Cada conjunto de 16 lâminas é instalado a campo em uma pequena área de 30 cm x 30 cm, que corresponde ao ponto amostral.

O tempo de exposição ideal seria aquele que permita o consumo de aproximadamente 50% das iscas no controle ou área de referência, mas se houver pelo menos 30% de consumo das iscas em um dos níveis de profundidade das lâminas na parcela de referência (ou controle), o teste é considerado válido (Römbke, 2014; International Organization for Standardization, 2016).

Por outro lado, um consumo maior do que 90% no controle pode dificultar comparações entre os diferentes tratamentos e comprometer a sensibilidade do método por mascarar possíveis efeitos dos tratamentos sobre a atividade alimentar. O tempo de exposição das lâminas no solo é variável e dependerá de diversos fatores como temperatura, precipitação, tipo de solo cobertura e vegetação, e ainda, composição da isca. Considerando que todos esses fatores podem influenciar nos resultados, testes preliminares devem ser realizados para determinar o tempo ideal de exposição em cada condição (International Organization for Standardization, 2016). Este teste pode ser realizado utilizando 5 a 10 lâminas extras retiradas em intervalos regulares de dias até que se verifique o consumo mínimo das lâminas recomendado. No bioma Amazônia, Römbke et al. (2006) observaram que o tempo de exposição variando entre 4 e 8 dias foi suficiente para obtenção de resultados satisfatórios. Por outro lado, Musso et al. (2014) no bioma Cerrado e Silva et al. (2016) na região Sul indicam a necessidade de exposição de 10 e 40 dias, respectivamente.

Avaliação do consumo das iscas

Cada orifício deve ser observado cuidadosamente de ambos os lados para determinar o grau de consumo das iscas (Figura 6). Uma planilha deverá ser preparada, onde as linhas correspondem a cada profundidade das iscas, iniciando de 0,5 cm e cada coluna corresponderá a uma lâmina do conjunto (Tabela 1). O grau de consumo é categorizado conforme os seguintes padrões estabelecidos:

- 1) Padrão tudo ou nada (International Organization for Standardization, 2016):

A – cavidade aberta = isca consumida, ou seja, mais de 50% da massa do orifício consumida, somando os dois lados.

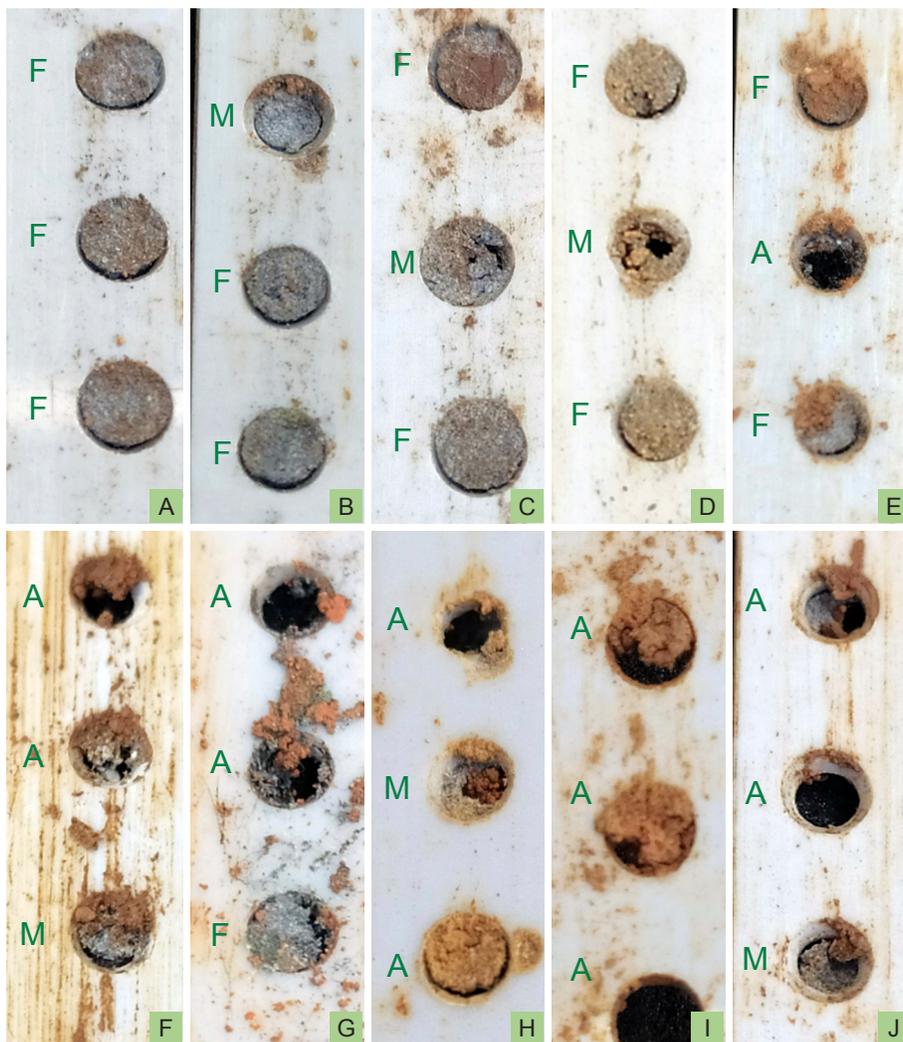
F – cavidade fechada = isca não consumida, ou seja, menos de 50% da massa do orifício consumida, somando os dois lados.

- 2) Padrão escalonado:

A – cavidade aberta = isca consumida = mais de 70% da massa do orifício consumida, somando os dois lados.

M – cavidade meio aberta = isca parcialmente consumida = 31 a 69% da massa do orifício consumida, somando os dois lados.

F – cavidade fechada = isca não consumida = menos de 30% da massa do orifício consumida, somando os dois lados.



Fotos: Cintia Carla Niva

Figura 6. Exemplos de categorização do consumo de iscas. A atribuição da categoria A, M ou F dependerá da quantidade consumida de isca levando-se em consideração o somatório das duas faces de cada cavidade.

Tabela 1. Exemplo de planilha para leitura do consumo de iscas utilizando o padrão escalonado de categorias. A planilha exemplifica a leitura de um conjunto de oito lâminas (Ponto 1) da “Lavoura 3”.

Lavoura 3		Lâminas do Ponto 1							
Profundidade	1	2	3	4	5	6	7	8	
0,5	A	A	A	F	A	A	A	A	
1	A	A	F	A	A	A	F	A	
1,5	A	A	A	A	A	A	A	M	
2	M	A	M	F	A	A	F	M	
2,5	A	A	M	F	F	A	M	F	
3	A	A	A	F	F	A	M	F	
3,5	A	A	A	F	F	A	A	F	
4	M	A	A	F	F	F	F	F	
4,5	M	A	A	A	M	F	M	F	
5	M	A	A	F	M	F	A	F	
5,5	A	A	A	F	F	A	A	F	
6	F	A	A	F	M	F	A	F	
6,5	F	A	F	F	A	F	A	F	
7	F	A	F	F	F	F	A	F	
7,5	F	A	F	F	F	F	A	M	
8	F	A	M	F	F	F	F	F	
Soma									

A planilha deve ser preenchida com os códigos A, F ou M correspondentes às categorias do consumo da isca para cada orifício (Tabela 1). A leitura do consumo da isca tem um certo grau de subjetividade e por isso pode haver dúvidas na classificação. Portanto, é recomendável que uma única pessoa faça a avaliação do consumo de todo o experimento, ou então é necessário o alinhamento dos membros da equipe no julgamento do que é considerado cavidade aberta, fechada ou meio aberta.

A isca nem sempre é consumida a ponto de causar uma perfuração completa que deixe a luz passar quando observada contra a claridade. Uma isca que foi consumida apenas parcialmente e mais superficialmente, o que é comum,

pode gerar dúvidas (Figura 6). A categoria M indicada nas Figuras 6B e 6C seria considerada F no padrão tudo ou nada se um dos lados da isca não tiver sinais de consumo, enquanto a categoria M representada na Figura 6D e 6H passaria a ser A, pois mais da metade da isca foi consumida. Pode ser necessário remover o conteúdo das perfurações para conferir se o solo não está bloqueando a visualização da quantidade de isca consumida. Por exemplo, na Figura 6H, observa-se uma perfuração completamente preenchida com solo o qual, após análise, foi constatado que não tinha resquício de isca. A coloração acinzentada da isca geralmente auxilia na distinção dos dois materiais.

O primeiro padrão descrito acima, padrão tudo ou nada, é o mais utilizado, mas a experiência com os dois padrões de classificação demonstrou que o segundo permite uma categorização do consumo de iscas por parte do avaliador mais fidedigna e com menos margem de divergência no caso de perfurações com iscas consumidas parcialmente. Podgaisky et al. (2011) compararam a atividade alimentar em pastagem pastejada e não pastejada com e sem a inclusão da categoria de consumo intermediário nos cálculos. Concluíram que a inclusão dos valores de consumo intermediário conferiu maior precisão na avaliação (com valores maiores de atividade alimentar), mas não demonstraram a diferença na influência do pastejo na atividade alimentar. Portanto, a adoção do padrão escalonado para avaliar a atividade alimentar pode otimizar o aproveitamento dos dados.

Interpretação dos resultados e cálculo da atividade alimentar

Para o cálculo do percentual de consumo de iscas em uma amostra, primeiramente é necessário converter as categorias do consumo das iscas em variáveis quantitativas, onde $A = 1$, $M = 0,5$ e $F = 0$. Em seguida, calcula-se o percentual de consumo por profundidade de cada amostra considerando o somatório de todas as lâminas do conjunto usadas no mesmo ponto amostral. Se foram usadas 8 lâminas por ponto, calcula-se o percentual de cada nível de profundidade considerando os oito valores. O valor do consumo de iscas daquele ponto (amostra) será o percentual de consumo de todas as lâminas do conjunto. O percentual de consumo da parcela (repetição do tratamento) será a média de todos os percentuais das amostras (Figura 7).

Na Figura 7, são apresentados os valores de consumo da isca de um dos pontos amostrais (conjunto de oito lâminas) da parcela “Lavoura 3”. Cada coluna branca corresponde a uma lâmina e cada linha corresponde a uma das dezesseis profundidades. Na Figura 7A, as colunas azuis à direita se referem à soma do valor de consumo das iscas (0, 1 ou 0,5) e o percentual calculado considerando-se os oito valores de cada linha. A última linha da coluna de percentual é o valor (52,3%) calculado de atividade alimentar do conjunto. Na Figura 7B, a mesma planilha de dados mostra a atividade alimentar obtida para a parcela por profundidade, e geral (30,3%, na última linha laranja), calculada como média dos percentuais de cada conjunto.

A														B						
Lavoura 3	Lâminas do Ponto 1								Lâminas do Ponto 2				Lavoura 3							
Profundidade	1	2	3	4	5	6	7	8	soma	%	1	2	3	4	6	7	8	soma	%	% média
0,5	1	1	1	0	1	1	1	1	7	87,5	1	1	1	1	1	1	1	31,3	31,3	34,4
1	1	1	0	1	1	1	1	0	6	75,0	0,5	1	0,5	1	1	0,5	1	31,3	31,3	33,3
1,5	1	1	1	1	1	1	1	0,5	7,5	93,8	0,5	1	1	1	1	1	1	31,3	31,3	32,3
2	0,5	1	0,5	0	1	1	0	0,5	4,5	56,3	0,5	1	1	1	1	0	1	25	25,0	31,3
2,5	1	1	0,5	0	0	1	0,5	0	4	50,0	0,5	1	1	1	1	1	1	3	31,3	33,3
3	1	1	1	0	0	1	0,5	0	4,5	56,3	1	1	1	1	0,5	1	1	2,5	25,0	27,1
3,5	1	1	1	0	0	1	1	0	5	62,5	1	1	1	1	1	1	1	3	18,8	28,1
4	0,5	1	1	0	0	0	0	0	2,5	31,3	1	0	1	1	1	1	1	3	18,8	27,1
4,5	0,5	1	1	1	0,5	0	0,5	0	4,5	56,3	1	0	1	1	1	1	0	2	25,0	25
5	0,5	1	1	0	0,5	0	1	0	4	50,0	1	0	1	0,5	1	1	0	2	25,0	28,1
5,5	1	1	1	0	0	1	1	0	5	62,5	1	0	1	1	1	0	0	1	18,8	31,3
6	0	1	1	0	0,5	0	1	0	3,5	43,8	1	0	1	1	1	0	0	1	31,3	33,3
6,5	0	1	0	0	1	0	1	0	3	37,5	1	0	1	1	1	0	0	1	12,5	30,2
7	0	1	0	0	0	0	1	0	2	25,0	1	0	1	1	1	0	0	1	18,8	30,2
7,5	0	1	0	0	0	0	1	0,5	2,5	31,3	1	0	1	1	1	1	0	2	6,3	31,3
8	0	1	0,5	0	0	0	0	0	1,5	18,8	1	0	1	1	1	1	0	2	6,3	28,1
soma	9	16	11	3	6,5	8	11	3,5	67	52,3	14	7	15,5	15,5	15,5	10,5	8	57	22,3	30,3

Figura 7. Vista parcial da planilha de cálculo da atividade alimentar de invertebrados a partir do percentual de consumo de iscas. Consumo de iscas de cada orifício das lâminas, conforme padrão escalonado, nas células de cor branca e o somatório e percentual de consumo nas colunas azuis à direita (A e B). Percentual médio de consumo para a parcela “Lavoura 3” na coluna alaranjada, por profundidade e geral na última linha (B).

Apresentação dos dados e análise estatística

A atividade alimentar de invertebrados é geralmente apresentada em valores percentuais da quantidade de iscas consumidas. A taxa de atividade alimentar de uma área é o valor do consumo geral observado na área em questão. Quando se deseja evidenciar o efeito nas diferentes profundidades, os dados podem ser apresentados em forma gráfica usando os percentuais de consumo de cada profundidade em barras ou linhas (Alves et al., 2020).

Os valores de atividade alimentar podem ser, ainda, reunidos em intervalos maiores, por exemplo, de 2 cm em 2 cm de profundidade (Pessoto et al., 2020). Dependendo do objetivo do trabalho a apresentação dos dados pode variar consideravelmente.

As análises estatísticas também podem variar conforme o objetivo do trabalho e forma de apresentação dos dados. É bastante comum o uso de análise de variância e quando os dados não atendem os pressupostos da Anova, um teste não paramétrico é recomendado. No caso de se comparar a atividade alimentar ao longo do perfil do solo, o Modelo Linear Geral é o recomendado pela ISO 18311 (International Organization for Standardization, 2016) e as comparações podem ser realizadas entre as médias de cada profundidade. Análises de regressão também podem ser aplicadas para avaliar o efeito da profundidade do solo em cada tratamento (Musso et al., 2014).

Exemplos de aplicação e interpretação dos resultados

Composição da isca para avaliação da atividade alimentar de invertebrados

Para a determinação da composição das iscas e procedimentos de preparo e instalação das lâminas, alguns testes foram realizados preliminarmente na época de chuvas a partir do final de 2015 até início de 2016. Dois tipos de lâminas foram testadas, a *bait-lamina* da terra protecta GmbH já preenchida com a isca de fábrica e a lâmina artesanal em PVC perfuradas em formato cilíndrico e preenchidas com isca à base de carboximetilcelulose de viscosidade média de grau farmacêutico, conforme citado por Musso et al. (2014). De imediato notou-se dificuldade no preenchimento das perfurações das lâminas com a isca, sendo necessário mais de cinco camadas da massa de isca até preencher as perfurações da lâmina por completo. Três conjuntos de dez lâminas foram instaladas em área de cerradão e da mesma forma em uma área de pastagem com *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã. Verificou-se que o consumo das iscas das lâminas originais e artesanais resultaram em consumos de iscas bastante semelhantes, atingindo em média 60% no cerradão e 70% na pastagem após 7 dias de exposição. Entretanto, numa ocasião de chuva

torrencial, as iscas das lâminas artesanais desapareceram por completo, enquanto que nas lâminas da terra protecta as iscas ainda estavam aderidas após 4 dias de exposição.

Testou-se então diferentes composições da isca a fim de aumentar a eficiência de preenchimento, durabilidade no campo e, ao mesmo tempo, que fossem consumidas de forma satisfatória pelos invertebrados. Foram usadas apenas as lâminas importadas adquiridas do fabricante, uma vez que as lâminas artesanais sem a cavidade cônica apresentaram uma frequência de perdas de isca maior que 30% após o período de secagem.

Foram testados seis tipos de combinações de isca variando apenas a fonte de matéria orgânica (aveia, trigo ou milho) e tipo de celulose (carboximetilcelulose ou celulose microcristalina) e o carvão ativado foi mantido na proporção recomendada em todas as combinações. As *bait-laminas* foram testadas em solo de uma área de cerradão, no final da época de chuvas em maio de 2016 (Figura 8). Observou-se que as iscas de carboximetilcelulose foram consumidas mais rapidamente do que as com celulose microcristalina, enquanto as iscas com farinha de milho foram menos consumidas do que aquelas com aveia e com trigo. Adicionalmente, no laboratório, três lâminas com farinha de aveia com carboximetilcelulose e três com celulose microcristalina foram inseridas em um gel aquoso de agar 1% para observar a dissolução das iscas ao longo do tempo. Após 24 horas, todas as iscas preparadas com carboximetilcelulose haviam se desmanchado, enquanto as iscas com celulose microcristalina permaneceram presas às perfurações das lâminas além de 72 horas. Inferiu-se que a isca preparada com celulose microcristalina, apesar de se degradar mais lentamente (38% versus 87% da isca com carboximetilcelulose), poderia gerar dados mais confiáveis e relacionáveis à atividade alimentar dos invertebrados, mesmo em condições chuvosas. Assim, optou-se também por continuar a utilizar farinha de aveia, pois em testes anteriores a campo esse material não havia apresentado problemas de consumo. O mínimo de 30% de consumo de isca é o recomendado pela norma International Organization for Standardization (2016) para considerar o teste válido, então o período de 9 dias poderia ser considerado aceitável para a aplicação do método *bait-lamina* com iscas à base de celulose microcristalina e farinha de aveia. Em um estudo feito no Parque Nacional de Brasília, Musso et al. (2014) verificaram um período de 10 dias como sendo ideal para o mesmo método.

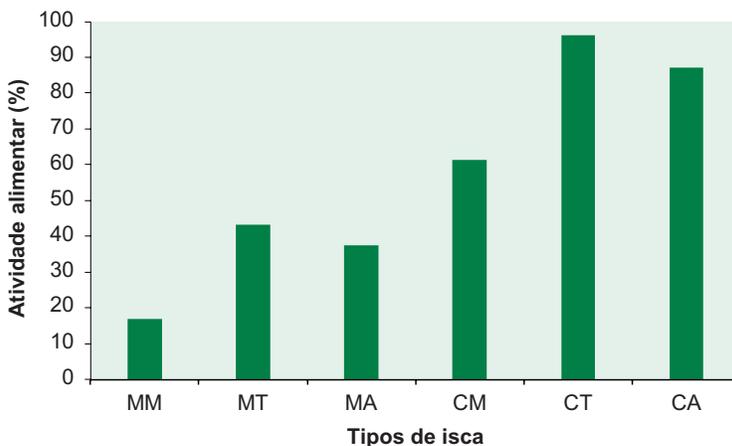


Figura 8. Atividade alimentar de invertebrados (percentual médio de iscas consumidas) mensurada com *bait-laminas* preenchidas com iscas de diferentes composições expostas por 9 dias em solo de área de cerrado do Campo Experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF em maio de 2016. MM - celulose microcristalina e farinha de trigo; MT, celulose microcristalina e farinha de trigo; MA - celulose microcristalina e farinha de aveia; CM - carboximetilcelulose e farinha de milho moído; CT - carboximetilcelulose e farinha de trigo e CA - carboximetilcelulose e aveia (n= 10 lâminas por tipo de isca, exceto CA com 7).

Aplicações do método *bait-lamina*: eficiência e limitações

O método *bait-lamina* foi descrito no documento ISO 18311 (International Organization for Standardization, 2016) como uma ferramenta para avaliar o efeito de atividades antrópicas sobre a atividade alimentar de invertebrados do solo, mas também com a possibilidade de ser usado no monitoramento da qualidade biológica do solo. Os resultados apresentados a seguir são de testes realizados no contexto de monitoramento da qualidade biológica do solo e serão utilizados para ilustrar e discutir a eficiência do método e suas limitações, e ao mesmo tempo, validar o tempo de exposição de 9–10 dias em diferentes ambientes.

Com o intuito de verificar se as formações de vegetação natural do Cerrado influenciam a atividade alimentar de invertebrados no solo de forma diferente, áreas de Mata de Galeria (MG), cerrado sentido restrito (CSR) e campo cerrado (CC) foram avaliadas no Parque Nacional de Brasília (Figura 9). Quanto ao consumo geral, independente das profundidades, as três fitofisionomias

não diferiram significativamente entre si, mas nas profundidades 1 cm e 1,5 cm a atividade alimentar em MG, considerada como a área de referência, foi superior ao verificado no CSR e CC. Entretanto, nos três ambientes, não se observou um gradiente claro de consumo em função da profundidade do solo como relatado em outros trabalhos na Amazônia (Römbke et al., 2006), na Alemanha (Marwitz et al., 2014) e em campos naturais no Cerrado durante a seca (Musso et al., 2014). O teste foi realizado em maio, num período de transição entre chuva e seca, e resultou em uma atividade alimentar em função da profundidade com padrão condizente com o observado por Musso et al. (2014) na época chuvosa. O teor de matéria orgânica no solo em MG foi de 18,2%, quatro a cinco vezes o valor observado nas outras fitofisionomias, e a umidade do solo (MG= 65%; CSR= 33%; CC= 32%) foi praticamente o dobro (Figura 9), fato que pode ter favorecido a maior atividade de invertebrados edáficos em comparação às outras fitofisionomias. Em MG, o solo apresentava uma camada espessa de matéria orgânica com alta umidade, enquanto nas outras duas fitofisionomias, a superfície do solo era mais exposta ao sol durante boa parte do dia, favorecendo a evaporação.

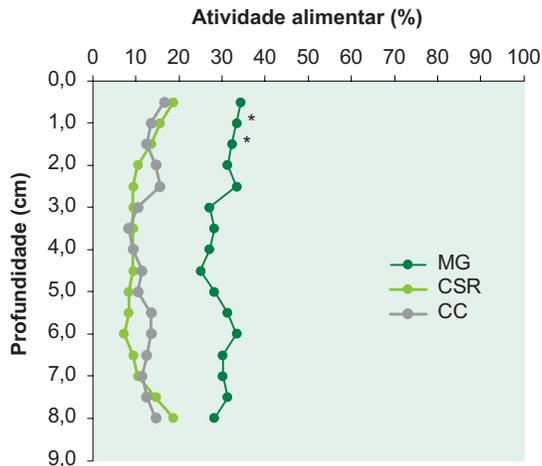


Figura 9. Atividade alimentar (percentual médio de iscas consumidas) por invertebrados mensurada com *bait-laminas* expostas por 9 dias em solo de área de Mata de Galeria (MG), cerrado sentido restrito (CSR) e campo cerrado (CC) no Parque Nacional de Brasília, em maio de 2017. Iscas de celulose microcristalina, farinha de aveia e carvão ativado (n= 4, seis conjuntos de 16 lâminas por fitofisionomia). Os asteriscos indicam a diferença significativa da atividade alimentar entre MG e as demais fitofisionomias na profundidade indicada (Kruskal-Wallis; $p < 0,05$).

Em outro teste realizado em uma área de soja e cerrado, com o mesmo período de exposição que o anterior (9 dias), a atividade alimentar não alcançou 30% em nenhum dos dois ambientes, embora o consumo de iscas tenha sido substancialmente menor na área de soja do que no cerrado sentido restrito, mas a umidade do solo (Cerrado= 27% e na Soja= 33%) foi semelhante nos dois locais (Figura 10). Comparando-se o consumo de iscas nos dois ambientes naturais, CSR e Cerrado (Figura 9 e 10), os valores foram bem próximos. Não obstante, pelo critério de validade do teste de pelo menos 30% das iscas consumidas em uma das profundidades na área de referência (ISO, 2016), este teste não seria considerado válido e seria recomendável repeti-lo usando um período de exposição mais longo.

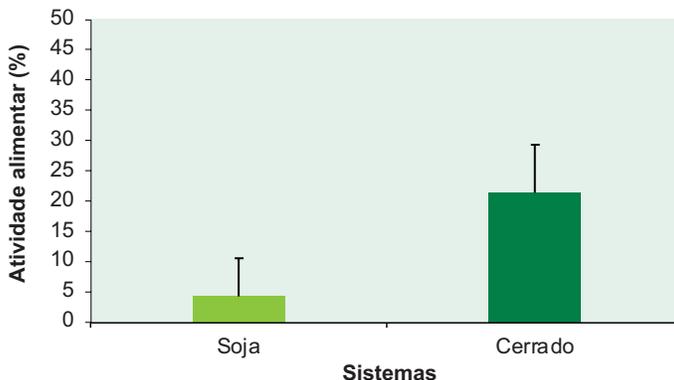


Figura 10. Atividade alimentar (percentual médio de iscas consumidas e desvio padrão) de invertebrados mensurada com *bait-laminas* expostas por 9 dias em latossolo de área de soja e cerrado no Campo Experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF em maio de 2017. Iscas de celulose microcristalina, aveia e carvão ativado (n = 4 conjuntos de 16 lâminas).

A avaliação de atividade alimentar foi realizada também em uma fazenda agroecológica em Catalão, estado de Goiás (Figura 11), por um período de exposição de 14 dias. Comparou-se uma área de corredor agroecológico (área com variedade de plantas de plantas de cobertura e outras espécies vegetais) com uma área de plantação de milho no início da época de chuvas. Devido ao período maior de exposição, o consumo médio de iscas foi próximo ou acima de 90% e a umidade do solo foi de 24% nos locais amostrados, o que dificultou avaliar a diferença entre elas. A atividade alimentar no corredor

agroecológico (área com maior diversidade de plantas de cobertura e outras espécies vegetais) foi levemente menor do que a área cultivada com milho ao longo do gradiente de profundidade do solo, além de apresentar um padrão menos regular. Devido à presença de plantas com diferentes características no corredor agroecológico, inclusive no sistema radicular e na produção de exsudatos, o padrão de consumo de iscas ao longo da profundidade pode ter variado mais. Possivelmente, um período menor de exposição, revelaria com mais clareza a diferença da atividade alimentar nas duas áreas. Nessas condições, também não foi observado um gradiente de consumo das iscas em função da profundidade, o que pode estar relacionado ao recente revolvimento do solo realizado nas duas áreas.

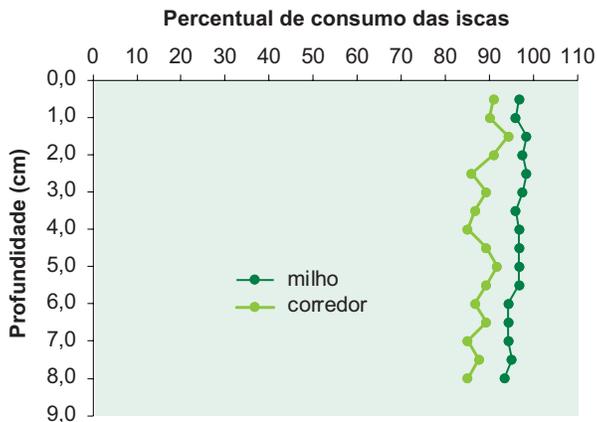


Figura 11. Atividade alimentar (percentual médio de iscas consumidas e desvio padrão) de invertebrados mensurada com *bait-lamina* expostas por 14 dias em áreas de cultivo agroecológico de milho e corredores agroecológicos na Fazenda Corinalves, Catalão, GO, em novembro de 2018. Iscas de celulose microcristalina, farinha de aveia e carvão ativado em pó ($n = 3$, 15 amostras de oito lâminas por sistema). Não houve diferença significativa entre os sistemas (Anova, LSD; $p < 0.05$).

Um ensaio com número maior de repetições e lâminas extras para o monitoramento do consumo das iscas foi realizado no Campo Experimental da Embrapa Cerrados em áreas de pastagem (P), integração pecuária floresta (IPF) e cerradão (CD) com um número maior de conjuntos de lâminas por sistema (18 conjuntos divididos em três repetições de cada sistema e 13 lâminas por conjunto) e lâminas extras para o monitoramento do consumo das iscas,

no final da época de chuvas em fevereiro de 2017. Os dois primeiros sistemas são compostos por *Urochloa brizantha* cv. Piatã, e o segundo apresenta renques com fila dupla de *Eucalyptus urograndis* espaçadas a cada 22 m de entrerenques. Para o monitoramento do consumo de iscas, dois conjuntos de cinco lâminas foram instalados na área de CD e dois conjuntos na área de P. Após 5 dias de exposição, um conjunto de lâminas foi retirado para verificar o consumo das iscas. As lâminas do CD e P apresentaram aproximadamente 35 e 37% das iscas consumidas e, no décimo dia, as lâminas apresentaram 52 e 65% das iscas consumidas. Se as lâminas tivessem sido retiradas em qualquer um dos dois momentos, o teste provavelmente seria considerado válido, mas ao retirar as lâminas no quinto dia, o risco do não alcance do critério de 30% de consumo em uma das profundidades seria maior. Dessa forma, decidiu-se por retirar as lâminas no 12º dia de exposição para elevar um pouco mais o consumo e tentar aumentar a sensibilidade dos resultados.

O consumo geral médio em CD, P e IPF variou de 66 a 82% e não apresentou diferença significativa entre os sistemas, enquanto a umidade do solo foi maior em CD (Umidade do solo, P= 22,5%; IPF= 22%, CD= 35,5%) (Figura 12). A análise dos dados por profundidade revelou que IPF e P se diferenciaram de CD nas camadas mais superficiais, ou seja, a atividade alimentar foi maior em IPF e P até 1,5 cm de profundidade do solo. O IPF e P apresentaram atividade alimentar e perfil de consumo em profundidade bastante semelhantes. Em ambos os sistemas a mesma gramínea foi introduzida há cinco anos da presente avaliação enquanto o eucalipto foi introduzido no IPF oito anos antes. Essa semelhança nos dois sistemas e o manejo associado a cada um não influenciaram a atividade alimentar dos invertebrados de forma significativa. Inclusive, comparando-se os dados coletados nos renques e entrerenques, observou-se 78% e 79% de consumo de iscas, respectivamente, e com padrão em profundidade semelhante (Figura 12).

O presente estudo reforça a importância de testes preliminares, ou o uso de lâminas extras durante o experimento para o acompanhamento do consumo de iscas, na determinação do período de exposição ideal das *bait-laminas* no campo. Os resultados apresentados confirmam o período de 9, e não mais que 12 dias, como aceitável para a aplicação do método *bait-lamina* no Cerrado, ao menos nos ambientes testados até o momento.

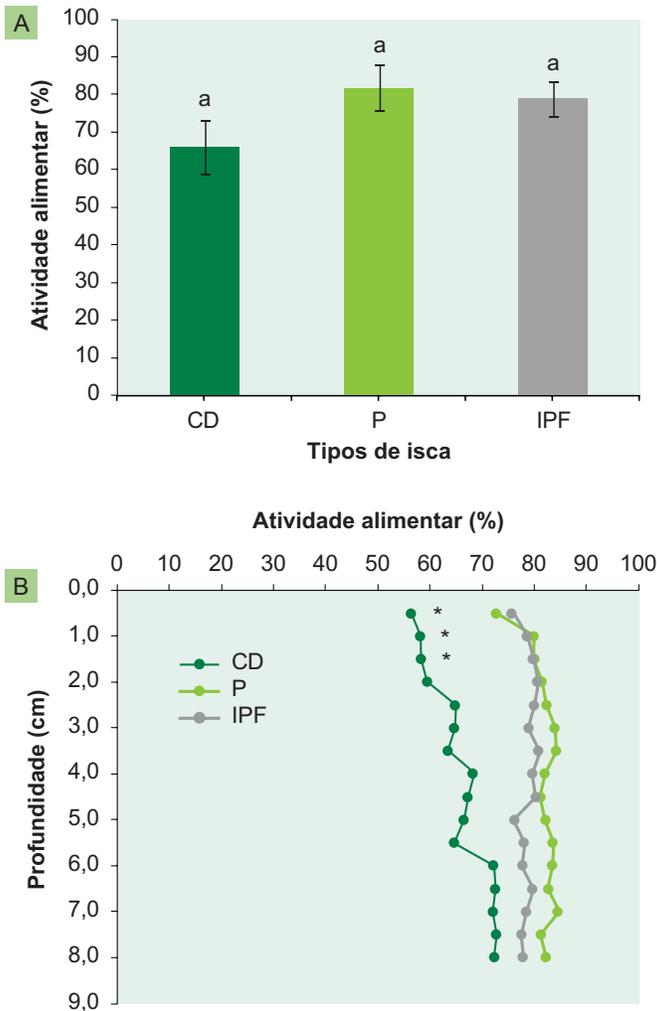


Figura 12. Atividade alimentar geral (A) e por profundidade (B) (percentual médio de iscas consumidas e desvio padrão) de invertebrados mensurada com *bait-lamina* expostas por 12 dias em Latossolo ($n = 3$; 6 conjuntos de 13 lâminas por parcela). Teste realizado em experimento de longa duração do campo experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF em fevereiro-março de 2017 usando lâminas preenchidas com iscas de celulose microcristalina, farinha de aveia e carvão ativado. CD, cerradão; P, Pastagem de *Urochloa brizantha* cv. Piatã; IPF, Sistema de Integração Pecuária-Floresta composto de *U. brizantha* cv. Piatã e *Eucalyptus urograndis*. Asteriscos indicam as profundidades que apresentaram diferença significativa de CD para os outros sistemas e letras diferentes indicam diferença significativa entre sistemas (Anova, LSD; $p < 0.05$).

Esperava-se que em área natural a atividade alimentar dos invertebrados fosse maior, no entanto, os resultados obtidos até o momento apontam para uma atividade relativamente baixa, às vezes menor do que em sistemas com pastagens. É possível que os invertebrados edáficos no Cerrado natural estejam distribuídos até camadas mais profundas do que 8 cm, que é o alcance máximo da lâmina. Outra possível explicação seria o abundante sistema radicular da pastagem, que cria microhabitats favoráveis à atividade alimentar na sua rizosfera. Além disso, é possível que em determinadas condições a oferta de recursos alimentares para invertebrados nos sistemas naturais seja bem maior, deixando a isca de celulose e aveia menos atrativa, resultando assim numa atividade alimentar menor. Essa hipótese ainda deverá ser testada utilizando-se iscas preparadas com resíduos orgânicos provenientes do local estudado. Dados sobre a diversidade de invertebrados dos locais estudados também auxiliarão a compreender o quanto a abundância e diversidade existentes no local foram determinantes na atividade alimentar.

Dúvidas frequentes

- 1) Há diferença entre as lâminas comercializadas e as confeccionadas artesanalmente?
 - Em geral, sim. Mas depende da forma que as perfurações foram feitas na lâmina. Os orifícios feitos com furadeira, vazando a lâmina de um lado para o outro, não seguram a isca eficientemente depois de secas, pois com a perda da água, a isca se contrai e perde a aderência com a lâmina, saindo com facilidade do orifício. Apesar de serem muito mais baratas, aproximadamente 30%–40% das lâminas perdem alguma isca após secagem e não podem ser utilizadas. O formato cônico das perfurações (Figura 1B), como é o caso das lâminas comercializadas, é um detalhe essencial para a otimização do método.

- 2) As lâminas podem ser feitas com outro material?
 - Sim, mas sua eficiência deve ser avaliada. Por exemplo, as iscas não se fixam bem em lâminas de metal e há o agravante de absorverem calor quando exposto ao sol, o que pode interferir no comportamento

da biota abaixo do solo. Materiais que se degradam ou quebram com facilidade também devem ser evitados.

- 3) Qualquer tipo de celulose em pó pode ser usado para fazer a isca?
 - Sim, mas a celulose microcristalina é mais barata e permite preenchimento mais rápido. A carboximetilcelulose pode ser utilizada, mas ela é muito mais solúvel em água e precisa de mais camadas para preencher completamente os orifícios da lâmina.

- 4) Por quanto tempo as lâminas devem ficar inseridas no solo?
 - Em geral, entre 9 e 12 dias (considerando os dados no bioma Cerrado), mas esse período pode variar dependendo do material das iscas ou das características do local. O tempo ideal deve ser testado previamente ou monitorado com lâminas extras paralelamente ao ensaio em andamento.

- 5) Qual é o período máximo que as lâminas trazidas do campo podem ficar armazenadas?
 - O ideal é fazer a leitura das lâminas logo após a retirada, no mesmo dia, mas nem sempre é possível. Na geladeira, podem ficar por cerca de duas ou três semanas envoltas em papel alumínio e dentro de um saco plástico, pois a atividade dos invertebrados é inibida devido à baixa temperatura. Porém, quanto maior o tempo, maior a quantidade de fungos que se desenvolvem sobre a lâmina. Além de dificultar a avaliação, a taxa de consumo da isca pode se alterar. Com a avaliação das lâminas realizada no mesmo dia de sua retirada do solo, além de diminuir as incertezas, permite a observação de invertebrados ainda vivos que eventualmente ficaram presos dentro da isca.

- 6) O método *bait-lamina* sozinho é eficiente para avaliar a qualidade biológica do solo a campo?
 - Não. O *bait-lamina* é um método de princípio simples que permite uma avaliação rápida da qualidade biológica do solo do ponto de vista funcional, mas para um diagnóstico mais preciso, deve ser acompa-

nhado, preferencialmente, de outros métodos como a amostragem de monólitos, amostragem por funil ou armadilhas de queda, que geram dados sobre a abundância e diversidade de invertebrados. O método funcional é complementar aos métodos que estudam a comunidade de invertebrados do solo. Análises químicas e físicas do solo, entre as quais matéria orgânica e umidade, também são desejáveis, uma vez que podem ajudar na interpretação dos resultados. Todavia, o método *bait-lamina* também pode ser uma ferramenta exploratória interessante para apoiar tomadas de decisão em relação a aplicação (ou não) de métodos mais laboriosos e dispendiosos de avaliação da qualidade biológica do solo relacionada à fauna edáfica.

Considerações finais

O método *bait-lamina* é, de fato, uma ferramenta de simples manuseio para medir a atividade alimentar de invertebrados do solo de forma rápida, mas não permite a identificação dos invertebrados envolvidos. Em poucas semanas, é possível preparar e aplicar o método a campo e analisar os dados, a depender do período recomendado de exposição da lâmina ao solo, que neste trabalho foi de 9–12 dias. O método pode se tornar mais eficiente se os cuidados descritos neste documento forem adotados, tais como cuidado com os detalhes no preparo da isca e preenchimento das lâminas, um teste preliminar ou paralelo para determinar o período de exposição das lâminas no campo e cuidados na avaliação do consumo das iscas. Espera-se que este documento possa auxiliar aqueles que queiram utilizar o uso do método *bait-lamina* como indicador funcional na avaliação ou no monitoramento da qualidade biológica do solo, tanto em ecossistemas naturais como agroecossistemas, ou em áreas expostas a algum outro tipo de estresse de origem antrópica.

Referências

ALVES, P. R. L.; CASSOL, P. B.; SEGANFREDO, M. A.; SPAGNOLLO, E. Contribuição da fauna do solos para os serviços ambientais. In: MIRANDA, C. R. de; MONTICELLI, C. J.; MATTHIENSEN, A.; SEGANFREDO, M. A. **Produção intensiva de animais e serviços ambientais: Estratégias e Indicadores**. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2020. p. 164-182. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 211).

BARROSO, P. A. V.; OLIVEIRA, Y. M. M. de; MATTOS, P. P. de. ODS 15 nos contextos mundial e brasileiro e no âmbito da Embrapa. In: VILELA, G. F.; BENTES, M. P. de M.; OLIVEIRA, Y. M. M. de; MARQUES, D. K. S.; SILVA, J. C. B. (ed.). **Vida terrestre: contribuições da Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. Cap. 1. E-book. (Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, 15).

BIRKHOFFER, K.; DIEKÖTTER, T.; BOCH, S.; FISCHER, M.; MÜLLER, J.; SOCHER, S.; WOLTERS, V. Soil fauna feeding activity in temperate grassland soils increases with legume and grass species richness. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 10, p. 2200-2207, 2011.

CASABÉ, N.; PIOLA, L.; FUCHS, J.; ONETO, M. L.; PAMPARATO, L.; BASACK, S.; GIMENEZ R.; MASSARO, R.; KESTEN, E. Ecotoxicological assessment of the effects of glyphosate and chlorpyrifos in an Argentine soya field. **Journal of Soils and Sediments**, v. 7, n. 4, p. 232-239, 2007.

CREAMER, R. E.; HANNULA, S. E.; VAN LEEUWEN, J. P.; STONE, D.; RUTGERS, M.; SCHMELZ, R. M.; RUITER, P. C.; HENDRIKSEN, N. B.; BOLGER, T.; BOUFFAUD, M. L.; BUEE, M.; CARVALHO, F.; COSTA, D.; DIRILGEN, T.; FRANCISCO, R.; GRIFFITHS, B. S.; GRIFFITHS, R.; MARTIN, F.; MARTINS DA SILVA, P.; MENDES, S.; MORAIS, P. V.; PEREIRA, C.; PHILIPPOT, L.; PLASSART, P.; REDECKER, D.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J. P.; WOUTERSE, M.; LEMANCEAU, P. Ecological network analysis reveals the inter-connection between soil biodiversity and ecosystem function as affected by land use across Europe. **Applied Soil Ecology**, v. 97, p. 112-124, 2016.

GONGALSKY, K. B.; PERSSON, T.; POKARZHEVSKII, A. D. Effects of soil temperature and moisture on the feeding activity of soil animals as determined by the *bait-lamina* test. **Applied Soil Ecology**, v. 39, n. 1, p. 84-90, 2008.

GRAENITZ, J.; BAUER, R. The effect of fertilization and crop rotation on biological activity in a 90-year long-term experiment. **Bodenkultur - Wien and München**, v. 51, n. 2, p. 99-106, 2000.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 18311**: soil quality: method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms: *bait-lamina* test. Geneve, 2016.

KRATZ, W. The *bait-lamina* test. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 5, p. 94-96, 1998.

MARWITZ, A.; LADEWIG, E.; MÅRLÄNDER, B. Response of soil biological activity to common herbicide strategies in sugar beet cultivation. **European Journal of Agronomy**, v. 54, p. 97-106, 2014.

MUSSO, C.; MIRANDA, H. S.; SOARES, A. M.; LOUREIRO, S. Biological activity in Cerrado soils: evaluation of vegetation, fire and seasonality effects using the "*bait-lamina* test". **Plant and soil**, v. 383, n. 1-2, p. 49-58, 2014.

NIEMEYER, J. C.; DE SANTO, F. B.; GUERRA, N.; RICARDO FILHO, A. M.; PECH, T. M. Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. **Chemosphere**, v. 198, p. 154-160, 2018.

PESSOTTO, M. D. F.; SANTANA, N. A.; JACQUES, R. J. S.; FREIBERG, J. A.; NASCIMENTO MACHADO, D. do; PIAZZA, E. M.; ROSA NETO, L.; ANTONIOLLI, Z. I. Relação do uso do solo com a diversidade e a atividade da fauna edáfica. **Nativa**, v. 8, n. 3, p. 397-402, 2020.

PODGAISKI, L. R.; SILVEIRA, F. S.; MENDONÇA JR, M. Avaliação da atividade alimentar dos invertebrados de Solo em Campos do Sul do Brasil—*bait-lamina* test. **Entomo Brasilis**, v. 4, n. 3, p. 108-113, 2011.

RÖMBKE, J.; HÖFER, H.; GARCIA, M. V.; MARTIUS, C. Feeding activities of soil organisms at four different forest sites in Central Amazonia using the *bait-lamina* method. **Journal of Tropical Ecology**, v. 22, n. 3, p. 313-320, 2006.

SILVA, D. M. D.; JACQUES, R. J. S.; SILVA, D. A. A. D.; SANTANA, N. A.; VOGELMANN, E.; ECKHARDT, D. P.; ANTONIOLLI, Z. I. Diversidade e atividade da biota do solo na avaliação dos efeitos da aplicação de dejetos de suínos em áreas de pastagem. **Ciência Rural**, v. 46, n. 10, p. 1756-1763, 2016.

TAO, H. H.; SLADE, E. M.; WILLIS, K. J.; CALIMAN, J. P.; SNADDON, J. L. Effects of soil management practices on soil fauna feeding activity in an Indonesian oil palm plantation. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 218, p. 133-140, 2016.

THAKUR, M. P.; REICH, P. B.; HOBBIE, S. E.; STEFANSKI, A.; RICH, R.; RICE, K. E., EDDY, W.C; EISENHAUER, N. Reduced feeding activity of soil detritivores under warmer and drier conditions. **Nature Climate Change**, v. 8, n. 1, p. 75-78, 2018.

VAN GESTEL, C. A. M.; KRUIDENIER, M.; BERG, M. P. Suitability of wheat straw decomposition, cotton strip degradation and *bait-lamina* feeding tests to determine soil invertebrate activity. **Biol Fertil Soils**, v. 37, 115-123, 2003.

VON TÖRNE, E. Assessing feeding activities of soil-living animals. I. *Bait-lamina*-tests. **Pedobiologia**, v. 34, n. 2, p. 89-101, 1990.

Embrapa

Cerrados

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL