

Autores

Khalil de Menezes Rodrigues
Bolsista de Mestrado em
Agronomia - Ciência do Solo
UFRRJ/EMBRAPA. E-mail:
agrokhalil@yahoo.com.br

Maria Elizabeth F. Correia
Pesquisadora da Embrapa
Agrobiologia, BR 465, Km 7,
Caixa Postal 74505,
CEP 23851-970, Seropédica-
RJ. E-mail:
ecorreia@cnpab.embrapa.br.

Liane Barreto Alves
Dra. em Agronomia – Ciência
do Solo
e-mail: lianepin@hotmail.com

Adriana Maria de Aquino
Pesquisadora da Embrapa
Agrobiologia, BR 465, Km 7,
Caixa Postal 74505,
CEP 23851-970, Seropédica-
RJ. E-mail:
adriana@cnpab.embrapa.br.

Funis de Berlese-Tüllgren modificados utilizados para amostragem de Macroartrópodes de Solo

Introdução

O uso da mesofauna e da macrofauna como bioindicadoras da qualidade do solo está amplamente difundido tanto em ambientes temperados quanto tropicais (FRANKLIN et al., 2005; LOBRY DE BRUYN, 1999; PARISI et al., 2005; VAN STRAALLEN, 1998). No entanto, um grande desafio para a bioindicação é a escolha de metodologias adequadas, que tenham sido amplamente utilizadas e criticamente avaliadas (ANDRE et al., 2002). Por outro lado, principalmente em países com poucos recursos para a pesquisa e de grande diversidade biológica, é necessário que se busquem adaptações de metodologias consagradas, que possam ser obtidas a baixo custo.

A fauna de solo abrange um grande número de espécies animais, pertencentes a diversas ordens de invertebrados, que variam de seres unicelulares a artrópodes com vários centímetros de comprimento. A fauna edáfica é um dos principais agentes dos processos de decomposição e ciclagem de nutrientes, atuando na fragmentação de material vegetal, na regulação de populações microbianas e na predação de pragas do solo. Atua também na transformação física do ambiente, criando novos microhabitats e nichos, possibilitando a colonização de novas espécies de microrganismos, fauna e até vegetais, aumentando consideravelmente a biodiversidade (WAID, 1999).

O resultado dessa diversidade taxonômica é uma imensa variabilidade de tamanhos e de metabolismos no sistema do solo (CORREIA & ANDRADE, 1999). Em geral divide-se a fauna do solo em grandes categorias de tamanho, que são: a microfauna, a mesofauna e a macrofauna, com funcionalidades próprias e diferentes níveis de sensibilidade aos impactos sobre o solo (CORREIA & OLIVEIRA, 2000).

O objetivo desta publicação é sugerir um modelo de baixo custo e de fácil confecção de extratores Berlese-Tüllgren para amostragem de macroartrópodes de solo.

Vantagens e Limitações da metodologia de extração por funis de Berlese-Tüllgren

Este método é um dos mais usados para a obtenção de amostras de micro e macroartrópodes do solo e em geral representa uma adaptação do original proposto por Berlese, em 1905 e modificado por Tüllgren, em 1917 (GARAY, 1989) (Figura 1).

É composto por uma bateria de funis que no topo apresentam uma fonte de calor e embaixo um recipiente coletor. Já foram propostas inúmeras variações na forma, tamanho e composição de materiais, mas que obedecem ao mesmo princípio, a formação de um gradiente de temperatura, que faz com que os artrópodes migrem para baixo e caiam em um recipiente com líquido fixador (Figura 2). É um método seletivo onde os animais se movem na amostra por tactismos proporcionados por estímulos térmicos e luminosos (VANNIER, 1970). Os invertebrados da fauna do solo são responsivos à umidade relativa

do solo e à temperatura e são estimulados a migrarem da parte superior da amostra no funil de Berlese-Tüllgren para a parte inferior pelo gradiente de umidade do solo e temperatura que este método proporciona (SILVA, 2006).

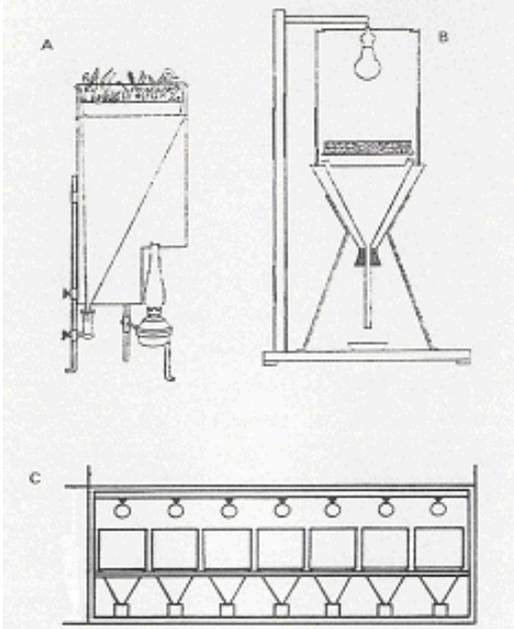


Figura 1- A) Extrator de fauna de solo elaborado por Berlese (1905); B) posteriormente modificado por Tüllgren (1917) e C) esquema geral de uma bateria de extratores de Berlese-Tüllgren (modificado a partir de GARAY, 1989).

A maior vantagem desta metodologia é que necessita de pouca mão-de-obra, já que os invertebrados saem da amostra de solo ou serrapilheira espontaneamente, quando comparada a metodologias em que é necessária a retirada manual dos mesmos. Outra vantagem é a amostragem de uma grande diversidade de artrópodos, tanto da mesofauna quanto da macrofauna.

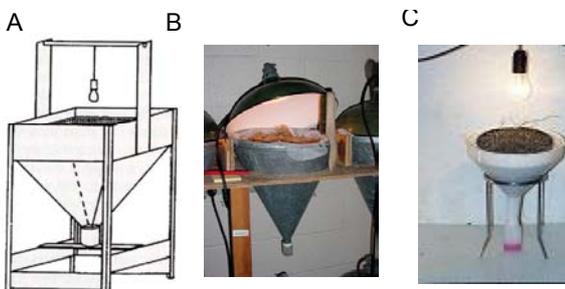


Figura 2- Imagens de diferentes modelos de funis de Berlese-Tüllgren, disponibilizadas nos seguintes sites:

A- http://www.aip-suoli.it/biomonitoraggio/bioindicazione_1.htm

B- <http://www.esf.edu/resorg/rooseveltwildlife/Research/soilbiodivers/soilbiodivers.htm>

C- <http://www.arpa.vda.it/index.cfm?ambiente=1,4,243,0>

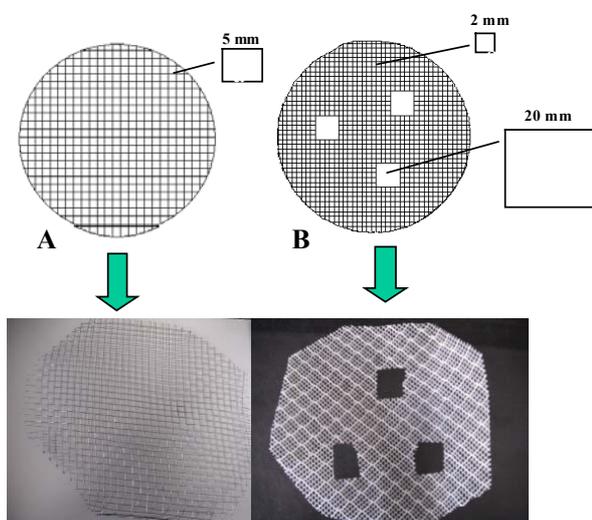
As limitações do método estão relacionadas com o seu princípio de extração, já que alguns invertebrados de pouca mobilidade podem não ser capazes de deixar a amostra antes que ela seja totalmente desidratada, morrendo antes de chegar ao recipiente coletor. Isto é particularmente verdadeiro para animais que não possuam exoesqueleto, como os Gastropoda, ou que não tenham pernas como as larvas de Diptera (OLIVEIRA, 1997). Outros como os Oligochaeta apresentam esses dois tipos de características, o que faz com que raramente sejam capturadas minhocas com esta metodologia. Outra limitação de caráter logístico é que a bateria de funis permanece fixa em um local, limitando a abrangência das amostragens, já que se recomenda que as amostras sejam transferidas para a bateria no mesmo dia de coleta. Se houver muita contaminação da amostra com terra proveniente da câmara de incubação, o processo de triagem no laboratório ficará mais demorado, assim como o aparecimento de fungos que danificam os espécimes.

Composição do Funil Berlese-Tüllgren

O funil de Berlese-Tüllgren é composto por uma lâmpada de 40 watts que fornece luminosidade e calor ininterruptamente para promover o gradiente constante da câmara de incubação, local onde é colocada a amostra. De acordo com GARAY (1989) a câmara de incubação deve possuir duas temperaturas distintas, uma na parte superior com 33° C e outra na parte inferior com 22° C para promover o gradiente, não ocorrendo a morte dos organismos da fauna edáfica. Sob a câmara de incubação, temos duas telas sobrepostas: a primeira de malha de 2 mm é de polietileno com 3 orifícios no formato de um quadrado com 20 mm de lado e a segunda é feita em arame galvanizado com malha de 5 mm (Figura 3). Esta composição de telas tem como função dar sustentação à amostra, impedir que partículas minerais e orgânicas sejam a amostra e ao mesmo tempo, permitir a passagem do maior número possível de invertebrados da fauna do solo.

O funil é posicionado embaixo da câmara de incubação e serve para conduzir os invertebrados até o recipiente coletor que contém a solução fixadora. É conveniente cobrir a câmara com um

tecido de trama fina fixado com o auxílio de um barbante para não permitir a entrada de insetos, que atraídos pela luz, venham a contaminar a amostra.



Fotos: K.M. Rodrigues

Figura 3. A- Tela em metal galvanizado. B- Tela em polietileno

As amostras devem ser identificadas duplamente com uma etiqueta na parte exterior do frasco e outra na parte interior em papel vegetal escrita em caneta nanquim. Para não ocorrer a contaminação do frasco com organismos não provenientes da amostra, é colocado entre o recipiente coletor e a parte inferior do funil um pedaço de espuma ou filme de PVC. O importante é que todo o sistema seja vedado, não permitindo a entrada ou saída de organismos.

Na literatura são citados vários tipos de solução fixadora, tais como: formol a 1% (FRANKLIN et al., 2005), álcool etílico a 75% (FINNAMORE et al., 2008) e solução de ácido acetilsalicílico saturada (OLIVEIRA, 1997). Recomendamos o uso de álcool etílico a 50% por ser eficiente e de fácil obtenção.

Amostragem

O desenho amostral deverá ser definido em função dos objetivos do estudo em questão, mas se recomenda que o número de pontos amostrais não seja inferior a cinco, em função da alta variabilidade espacial da fauna de solo. Em cada ponto amostral são retiradas com o auxílio de um gabarito quadrado de 25 cm de lado, duas sub-amostras: a serapilheira ou palhada depositada

sobre o solo (Figura 4 A e B) e o solo até 5 cm de profundidade (Figura 5A-D). Após o posicionamento do gabarito no ponto amostral é feita a limpeza da serapilheira que está ao redor para não contaminar a amostra após a retirada do quadrado (Figura 4A). Retira-se então a serapilheira que é acondicionada em um saco plástico previamente identificado (Figura 4B).



Fotos: K.M. Rodrigues

Figura 4 – A- Quadrado metálico de 25 x 25 cm na área amostrada com a marcação de uma linha em todas as dimensões na altura de 5 cm. B- Serapilheira coletada e identificada na área do quadrado.

Para a retirada do solo, o gabarito metálico é encaixado à profundidade de 5 cm e com auxílio uma cavadeira reta, é cortado o solo verticalmente nas bordas internas do quadrado (Figura 5A). Faz-se a abertura de uma pequena trincheira ao lado da área amostrada com 5 cm de profundidade para facilitar o corte horizontal do solo na área amostrada. Com o auxílio de uma pá reta corta-se o solo por debaixo do quadrado (Figura 5B) retirando-se a amostra inteira (Figura 5C) e colocando-a em um saco plástico previamente identificado (Figura 5D). A coleta deve ser realizada preferencialmente de manhã entre 9 e 11 horas e deve-se evitar condições de encharcamento do solo (CORREIA & OLIVEIRA, 2000). Os sacos plásticos contendo as amostras de serapilheira e solo devem ser fechados para evitar o escape de animais, tomando-se o cuidado de deixar um pequeno volume de ar em seu interior.

Após este processo de coleta, as amostras devem ser transferidas para a bateria de extratores Berlese-Tüllgren no mesmo dia. Deve-se evitar o empilhamento das amostras de solo e a exposição ao sol e calor excessivos, para que não ocorra a morte dos invertebrados edáficos.



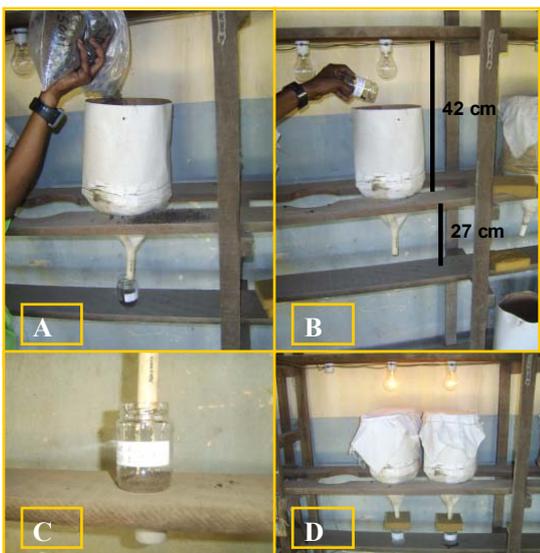
Fotos: K.M. Rodrigues

Figura 5. A- Quadrado metálico enterrado a profundidade de 5 cm sendo cortado com a cavadeira reta. B- Pá reta utilizada para cortar o solo na horizontal embaixo do quadrado. C- Pá reta sendo utilizada para retirar a amostra previamente cortada. D – Amostra de solo sendo colocada em saco plástico previamente identificado.

Tempo de permanência, montagem e triagem

Na transferência das amostras para os funis de Berlese-Tüllgren deve-se proceder da seguinte forma:

1. na parte inferior do funil, colocar um frasco vazio e na câmara de incubação colocar o solo ou serapilheira (Figura 6A). Sempre cairá uma pequena porção de solo ou serapilheira no frasco (Figura 6B), que deverá ser devolvida para a câmara de incubação (Figura 6C);

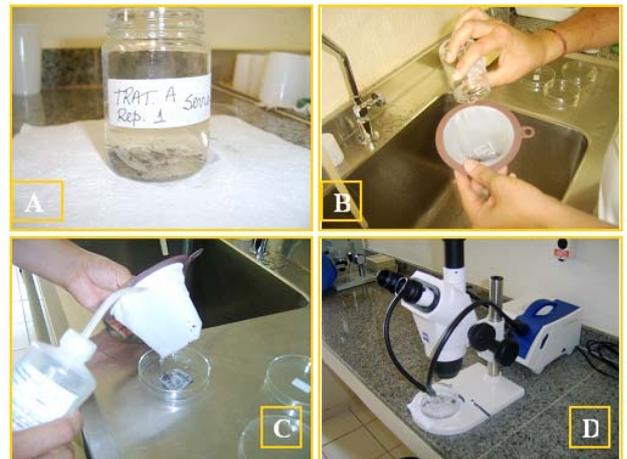


Fotos: K.M. Rodrigues

Figura 6. A- Amostra de solo sendo colocada na câmara de incubação. B- Frasco com solo proveniente da amostra. C- Devolução do solo na câmara de incubação. D- Amostras prontas no funil de Berlese-Tüllgren.

2. Coloca-se então a espuma e o frasco com solução fixadora e na parte superior da câmara de incubação, a cobertura de tecido fixado com barbante (Figura 6D) e poderá ser acionada a luz dos funis de Berlese-Tüllgren. Fazendo este processo, a amostra irá com menos solo para o laboratório, facilitando o processo de triagem. As amostras deverão passar por monitoramento constante, verificando o nível da solução fixadora e se todas as lâmpadas estão funcionando normalmente.

Percorridos 15 dias das amostras no extrator de Berlese-Tüllgren, os frascos serão retirados e levados para o laboratório (Figura 7A) onde o conteúdo será transferido para um coador com tela em poliéster (Figura 7B). Com o auxílio de um pissete com álcool a 70% e um funil plástico comum, serão transferidos para frascos de plástico e armazenados para realização da identificação da fauna do solo. Quando ocorrer a classificação das amostras, estas serão transferidas para a placa de Petri (Figura 7C) e avaliadas em grandes grupos taxonômicos sob lupa binocular no laboratório (Figura 7D).



Fotos: K.M. Rodrigues

Figura 7. A- Amostra de invertebrados edáficos oriunda do funil de Berlese-Tüllgren. B- Amostra sendo transferida para a peneira em poliéster. C- Amostra sendo transferida para a placa de Petri. D- Amostra pronta para triagem em lupa binocular.

Confecção de um extrator de Berlese-Tüllgren simplificado

Material Necessário para a confecção de um funil extrator

- 2 folhas de papel cartão branco

- 2 metros de plástico adesivo transparente
- 10 cm de cano de PVC de ½ polegada
- 1 quadrado de 10 cm de lado de espuma com 5 cm de espessura
- tecido de algodão de trama fina medindo 50 cm x 50 cm
- 1 m de barbante
- tela de arame galvanizado com 24 cm de diâmetro (tela de peneira de obra)
- tela plástica com 20 cm de diâmetro
- grampeador
- cola quente

Procedimento

Dobrar uma das folhas de papel cartão no sentido transversal e desenhar um semi-círculo com raio de 25 cm (Figura 8 A). Recortar e em seguida forrar com o plástico adesivo as partes interna e externa do funil (Figura 8 B-C). Dobrar na forma de um cone, fechar com grampeador e cola quente e em seguida vedar com uma tira de plástico adesivo (Figura 8 D). Fazer um pequeno corte na ponta do cone para permitir a entrada do cano de PVC, que deve ficar bem ajustado e ser fixado com cola quente (Figura 8 E). Na parte externa a junção do cano e o funil deve ser vedada com o plástico adesivo (Figura 8 F). Recortar metade da outra folha de cartolina no sentido longitudinal, fechar em forma de cilindro e ajustar para que encaixe no funil. No funil deverão ser feitos pequenos recortes como mostra a Figura 8 G para que forme uma aba de cerca de 4 cm que será fixada ao cilindro com cola quente. Após a fixação entre a parte superior e inferior, é recomendável que seja feita a vedação com uma tira de plástico adesivo.

São inseridas as duas telas, primeiro a de metal e sobreposta a ela a de plástico (Figura 8 G). O funil está pronto para ser usado (Figura 8 H). É recomendável que os funis sejam dispostos em estantes ou armários de madeira com uma lâmpada para cada funil, como apresentado na figura 6 B, a fim de garantir uma boa sustentação e organização dos funis.

Este tipo de funil de Berlese-Tüllgren adaptado tem a grande vantagem de contar com materiais fáceis de encontrar e de baixo custo, possibilitando a vários professores e pesquisadores que não disponham de recursos para investimento, iniciar a sua pesquisa em fauna do solo.



Fotos: M.E.F. Correia

Figura 8- Passo a passo da confecção de um extrator de Berlese-Tüllgren simplificado.

Referências Bibliográficas

ANDRE, H.M.; DUCARME, X.; LEBRUN, P. Soil biodiversity: myth, reality or conning? *Oikos*, Copenhagen, v. 96, n. 1, p. 3-24, jan. 2002.

CORREIA, M.E.F.; ANDRADE, A. G. Formação de serapilheira e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. p.197-225.

CORREIA, M. E. F.; OLIVEIRA, L. C. M. de. **Fauna de solo: aspectos gerais e metodológicos.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000. 46 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 112).

FINNAMORE, A. T.; WINCHESTER N. N.; BEHAN-PELLETIER, V. M. Protocols for measuring biodiversity: arthropod monitoring in terrestrial ecosystems. 2008. Disponível em: <<http://www.eman-rese.ca/eman/ecotools/protocols/terrestrial/arthropods/soil-litt.html>>. Acesso em: 29 jan. 2008.

FRANKLIN, E.; MAGNUSSON, W. E.; LUIZÃO F. J. Relative effects of biotic and abiotic factors on the composition of soil invertebrate communities in a Amazonian savanna. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 29, n. 3, p. 259-273, jul. 2005.

GARAY, I. **Relations entre l'hétérogénéité des litières et l'organisation des peuplements d'arthropodes édaphiques.** Paris: École Normale Supérieure, 1989. 192 p. (Publications du Laboratoire de Zoologie, n. 35).

LOBRY DE BRUYN, L. L. Ants as bioindicators of soil function in rural environments. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1-3, p. 425-441, jun. 1999.

OLIVEIRA, L. C. M. **Caracterização da Comunidade de macroartrópodos edáficos em uma mata de restinga, Maricá (RJ).** 1997. 92 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

PARISI, V.; MENTA, C.; GARDI, C.; JACOMINI, C.; MOZZANICA, E. Microarthropod communities as a tool to assess soil quality and biodiversity: a new approach in Italy. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 105, n. 1-2, p. 323-333, jan. 2005.

SILVA, M. S. C. da. **Indicadores de qualidade do solo em sistemas agroflorestais em Paraty.** 2006. 54p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

VANNIER, G. Techniques relatives a l'extraction des arthropods du sol. In: **Recherche Cooperative sur Programme du C.N.R.S.** France: Editions du C.N.R.S., 1970. v. 40.

VAN STRAALLEN, N. M. Evaluation of bioindicator systems derived from soil arthropod communities. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 9, n. 1-3, p. 429-437, sep. 1998.

WAID, J. S. Does soil biodiversity depend upon metabolic activity and influence? **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 13, n. 2, p. 151-158, oct. 1999.

Circular Técnica, 22

Exemplares desta publicação podem ser adquiridas na:

Embrapa Agrobiologia
BR465 – km 7
Caixa Postal 74505
23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil
Telefone: (0xx21) 2682-1500
Fax: (0xx21) 2682-1230
Home page: www.cnpab.embrapa.br
e-mail: sac@cnpab.embrapa.br



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



1ª impressão (2008): 50 exemplares

Comitê de publicações

Eduardo F. C. Campello (Presidente)
José Guilherme Marinho Guerra
Maria Cristina Prata Neves
Verônica Massena Reis
Robert Michael Boddey
Maria Elizabeth Fernandes Correia
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Expediente

Revisor e/ou ad hoc: Mariella Camardelli Uzêda e Marco Antônio de Almeida Leal
Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix.
Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia.