



FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

Abundância de Enquitreídeos Estimada Por Diferentes Métodos de Coleta e Extração num Fragmento de Floresta Ombrófila Mista no Paraná

Cintia Carla Niva⁽¹⁾; Raul Matias Cezar⁽²⁾; Priscila Moura da Fonseca⁽²⁾; Maurício Zagatto⁽²⁾; Elma Oliveira⁽²⁾; Eliza Fabíola Bush⁽²⁾; Lina Avila Clasen⁽³⁾; George Gardner Brown⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Pesquisadora pós-doutoranda; Laboratório de Biologia do Solo; PNPd/CNPq, Embrapa Florestas; Estrada da Ribeira Km 111, Colombo, PR, 83411-000, Caixa Postal 319; cintiacn@gmail.com; ⁽²⁾ Mestrandos em Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias; UFPR; Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR, 80035-050; raulmatiascezar@yahoo.com.br; prikafonseca@hotmail.com; mauriciozagatto@hotmail.com; eliza_busch@yahoo.com.br; ⁽³⁾ Graduada em Ciências Biológicas, PUC, Rua Imaculada Conceição, 1155; Curitiba, PR, 80215-901; ⁽⁴⁾ Pesquisador; Laboratório de Biologia do Solo; Embrapa Florestas; Estrada da Ribeira Km 111, Colombo, PR, 83411-000, Caixa Postal 319; browning@cnpf.embrapa.br

RESUMO – Enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta) são organismos da mesofauna edáfica encontrados no mundo inteiro, mas ainda pouco estudados no Brasil. A abundância desses organismos determinada por diferentes métodos de coleta e extração, bem como as vantagens e desvantagens de cada método são apresentadas neste trabalho. Os métodos de amostragem com formol e por escavação de monólitos seguidos de triagem manual foram comparados aos métodos de coleta com trado desmontável seguido de extração úmida fria por três dias e extração úmida quente por três horas, que são recomendados para amostragens quantitativas de enquitreídeos. As coletas foram realizadas em 8-9 pontos num fragmento de floresta ombrófila mista em Colombo, PR, em 1-3 ocasiões entre setembro 2011 e abril 2012. O número médio de indivíduos encontrados por metro quadrado (ind./ m²) através de cada método foi de aproximadamente 5, 90, 2.000-12.000 e 5.000-12.000 respectivamente. Os métodos de coleta e extração originalmente usados para as minhocas, formol e monólitos subestimaram grandemente a abundância de enquitreídeos, pois na triagem manual, as espécies de tamanho menor são ignoradas. Como esperado, a coleta com trado desmontável seguida de extração úmida é a mais adequada para estudos quantitativos de enquitreídeos, porém, a extração quente, além de ser mais rápida, causa menos dano aos espécimes coletados facilitando o processo de identificação taxonômica que deve ser feito in vivo. O número máximo obtido nesse estudo foi de aproximadamente 44.000 ind./ m², um dos maiores valores relatados até hoje no Brasil.

Palavras-chave: Enchytraeidae, Oligochaeta, amostragem, extração úmida

INTRODUÇÃO – O conhecimento sobre enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta) no Brasil, ainda que escasso, é o mais privilegiado de todo Hemisfério Sul. Atualmente são conhecidas 55 espécies de enquitreídeos na América do Sul (Schmelz et al., 2012), sendo a grande maioria do

Brasil e pouquíssimos trabalhos abordam aspectos ecológicos desses organismos comumente encontrados em solos do mundo inteiro. Alguns trabalhos na América do Sul têm relatado densidades populacionais de enquitreídeos expressivas em áreas de produção agrícola e pastagens, obtidas pelo método TSBF (Tropical Soil Biology and Fertility) (López et al., 2005; Silva et al., 2006) cujas amostragens feitas por monólitos de solo é indicada para estudos da macrofauna de solo. Os enquitreídeos, devido ao tamanho corporal menor, deveriam ser amostrados por métodos aplicados à mesofauna edáfica, particularmente o método específico para coleta e extração de enquitreídeos que já é, inclusive, padronizado internacionalmente (ISO 23611-3/ 2007; ISO, 2007). Os dois únicos estudos no Brasil utilizando o método padronizado foram realizados na Amazônia (Römbke e Meller, 1999) e na Mata Atlântica (Römbke et al., 2007) e revelaram abundâncias abaixo de 10.000 ind./ m², valor baixo em comparação aos relatados para países de clima temperado, onde em brejos da Inglaterra (“moorland”), por exemplo, a população estimada de enquitreídeos pode chegar a 300.000 ind./ m² (Peachey, 1963).

Experiências anteriores com o método padronizado de extração fria de enquitreídeos na Embrapa Florestas, em Colombo-PR, resultaram em alta letalidade dos indivíduos. Tomando-se alguns cuidados descritos em Niva et al. (2010) durante o procedimento, a sobrevivência aumentou. A fim de determinar as vantagens e desvantagens de cada método de amostragem/ extração para enquitreídeos em estudos quantitativos, quatro métodos foram comparados em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista em Colombo-PR na estimativa da abundância desses pequenos oligoquetas.

MATERIAL E MÉTODOS – Foram conduzidos quatro métodos de coleta e extração de oligoquetas do solo:

1) Formol: aplicando-se 5 litros de formol (0,5%) diretamente sobre uma área de de 0,25 m² do solo e coletando-se manualmente os enquitreídeos que subiram

até a superfície;

2) TSBF: monólitos de solo de 0,25 x 0,25 x 0,4 m foram triados manualmente para obtenção de enquitreídeos.

3) Extração úmida fria: Amostras de solo de 5,1 cm de diâmetro e 7 cm de profundidade foram coletadas com auxílio de um trado desmontável. No mesmo dia, as amostras foram colocadas em peneiras acopladas em bacias com água mineral (ISO 23611-3/ 2007; ISO, 2007) para o processo de extração como descrito em Niva et al. (2010) em sala com temperatura de $17 \pm 2^\circ\text{C}$. Os enquitreídeos que se depositaram no fundo da bacia após cerca de 3 dias foram contados e identificados.

4) Extração úmida quente: idem ao método 3, porém, as amostras foram aquecidas por lâmpadas acesas sobre elas por 3h a 3h 30 min em um extrator de enquitreídeos com aquecimento construído com base no método de O'Connor (1955; 1962) (Figura 1).

Em 1 e 2, os enquitreídeos coletados foram imediatamente fixados e preservados em solução de formol e foram conduzidos em apenas uma ocasião em agosto de 2011. Em 3 e 4, as amostras foram retiradas em setembro e novembro de 2011 e em abril de 2012.

As amostras foram coletadas com o trado desmontável em 9 pontos ao longo de dois transectos paralelos numa área de 1 ha de cambissolo háplico distrófico de um fragmento de Floresta Ombrófila Mista em fase avançada de sucessão numa parcela permanente do inventário florestal, no campo experimental da Embrapa Florestas em Colombo-PR.



Figura 1. Extrator de enquitreídeos com aquecimento por lâmpadas incandescentes baseado em O'Connor (1962).

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Os métodos de amostragem com trado desmontável e extração úmida apresentaram abundâncias muito maiores de enquitreídeos em relação aos métodos com formol e TSBF (Fig. 2), que

são normalmente utilizados para estudos da macrofauna de solo. A diferença máxima observada foi de cerca de 120 a 2.400 vezes entre os métodos TSBF e formol em relação às extrações úmidas, confirmando a ineficiência desses métodos na estimativa da abundância de enquitreídeos no solo. A extração úmida quente apresentou valores maiores que a fria e com menor variação entre as amostras na maioria das coletas, apesar da diferença ter sido significativa apenas na coleta de novembro (Fig. 2). Além disso, o processo de extração úmida fria por três dias danificou 11-26% dos espécimes obtidos e diminuiu drasticamente a sobrevivência dos enquitreídeos nos dias subsequentes, prejudicando o processo de identificação taxonômica que deve ser realizado com os organismos *in vivo*.

No presente trabalho, a média máxima de enquitreídeos obtida pelos métodos úmidos foi de 12.667 ind./m² e a máxima absoluta, de 44.058 ind./m². Esse número é muito maior do que o relatado na maioria dos outros trabalhos da América do Sul. Usando o método de TSBF, Silva et al. (2006) relataram número médio variando entre 240 e 3.300 ind./m² em um fragmento de vegetação natural do Cerrado, em Dourados-MT. Nesse mesmo estudo, em áreas de sistema de cultivo convencional, plantio direto, integração lavoura-pecuária ou pastagens, a média de enquitreídeos não ultrapassou 123 ind./m². Em Pinhais-PR, numa área de pastagem, 4 a 580 ind./m² foram encontrados por método semelhante (Klenk, 2010). Já, na Argentina, 0 a 11.074 ind./m² foram encontrados em áreas de pastagem (López et al., 2005), também usando o método TSBF. No único trabalho realizado na Amazônia foi relatada a média de 3.900 – 4.600 ind./m² e máxima absoluta de 9.300 ind./m² em uma mata secundária utilizando-se a extração úmida fria (Römbke & Meller, 1999), enquanto na Mata Atlântica em Guaraqueçaba-PR, o número máximo relatado foi de 4.945 ind./m² (Römbke et al., 2007). Na Guiana Francesa, Vaçulik et al. (2004) relataram o número expressivo de 270.000 ind./m² utilizando método de extração por funil seco, em amostras de um inselberg, onde um tapete de bromélias crescem sobre rochas cobertas por cianobactérias filamentosas constituindo um habitat bem peculiar. Esse método pode ser utilizado para estudos da mesofauna, portanto, seria indicado para determinar a abundância de enquitreídeos também. Porém, os enquitreídeos, que são sensíveis à falta de umidade, podem morrer antes que sejam extraídos da amostra e prejudicar a determinação do número de indivíduos. Além disso, a identificação taxonômica morfológica fica prejudicada devido à fixação em etanol. O mesmo ocorre com o método TSBF, pois os animais são fixados em formol.

Apesar dos dados sobre a abundância de enquitreídeos na América do Sul, na maioria dos poucos casos publicados, apontarem para densidades abaixo de 10.000 ind./m² (Römbke, 2007; Schmelz et al., 2012) os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a densidade de enquitreídeos pode se equiparar aos registrados para a Europa, em geral 20.000 a 60.000 ind./m² (Jänsch et al., 2005), se mais habitats forem estudados com a metodologia adequada.

A Fig. 2 demonstra que a abundância de

enquitrédeos decresceu sucessivamente nas três coletas sugerindo um possível efeito sazonal. Coletas adicionais serão realizadas ao longo do ano para confirmar esse efeito e os dados serão correlacionados com a umidade e temperatura do solo e também com o clima. López et al. (2005) e Klenk (2010) verificaram maior abundância nas estações mais frias, mas nos dois casos, a metodologia utilizada de monólitos e triagem manual pode ter mascarado o número real de enquitrédeos, subestimando aqueles de tamanho menor.

Com relação à diversidade de enquitrédeos, apesar dos danos em boa parte dos espécimes extraídos, foi possível identificar os gêneros *Achaeta*, *Enchytraeus*, *Fridericia*, *Guaranidrilus* e *Hemienchytraeus*, todos eles também encontrados por Römbke et al. (2007) em florestas e pastagens da Mata Atlântica em Guaraqueçaba-PR.

CONCLUSÕES – O método de extração úmida quente é o mais adequado para estimativa da abundância e estudos de diversidade para enquitrédeos devido à rapidez e preservação dos espécimes mais prolongada.

AGRADECIMENTOS - Os autores agradecem ao Dr R. M. Schmelz (Universidad de A Coruña, Espanha) pela orientação na construção do extrator de enquitrédeos com aquecimento e constante auxílio na identificação taxonômica.

REFERÊNCIAS

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil Quality – Sampling of soil invertebrates – Part 3: sampling and soil extraction of enchytraeids, ISO, Genebra, Suíça, No 23611-3, 2007.

JÄNSCH, S.; RÖMBKE, J.; DIDDEN, W. The use of enchytraeids in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotox. and Environ. Saf.*, 62: 266–277, 2005.

KLENK, L. A. **Macrofauna invertebrada edáfica em pastagem com pastoreio rotativo sob diferentes preparos orgânicos em condições subtropicais no Sul do Brasil**. Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 2010. 54p. (Dissertação de Mestrado)

LÓPEZ, A.N.; VINCINI, A.M.; CLEMENTE, N.L.; MANETTI, P.L.; CARMONA, D.M.; CASTILLO, H.A.A. Densidad estacional y distribución vertical de los Enchytraeidae (Annelida: Oligochaeta) em diferentes sistemas de producción. *Ci. Suelo* (Argentina), 23: 115-121, 2005.

NIVA, C. C.; RÖMBKE, J.; SCHMELZ, R.M.; BROWN, G. G. Enquitrédeos (Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida). In Moreira, F. M. S., E. J. Huising & D. E. Bignell (eds), **Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade**. UFLA, Lavras, Brazil: 351-365, 2010.

PEACHEY, J.E. Studies on the Enchytraeidae (Oligochaeta) of Moorland Soil. *Pedobiologia*, Bd. 2, S.81-95, 1963.

RÖMBKE, J.; MELLER, M. Applied research on Enchytraeidae in Central Amazonia: project approach, methodology and first results. *Newsletter on Enchytraeidae*, 6: 69-75, 1999.

RÖMBKE, J. Enchytraeidae of tropical soils: state of the art, with special emphasis on Latin America. *Folia Fac. Sci. Nat. Univ. Masarykianae Brunensis, Biologia*, 110: 157-181, 2007.

RÖMBKE, J.; COLLADO, R. & SCHMELZ, R.M. Abundance, distribution and indicator potential of enchytraeid genera (Enchytraeidae, Clitellata) in secondary forests and pastures of the Mata Atlântica. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 31: 139-150, 2007.

SCHMELZ, R.M.; NIVA C.C.; RÖMBKE, J.; COLLADO, R. Diversity of terrestrial Enchytraeidae (Oligochaeta) in South America: current knowledge and future research potential. *Appl. Soil Ecol.* (in press)

SILVA, R.F.; AQUINO, A.M.; MERCANTE, F.M.; GUIMARÃES, M.F. Populações de oligoquetos (Annelida: Oligochaeta) em um Latossolo Vermelho submetido a sistemas de uso do solo. *Ciênc. Rural*, 36: 673-677, 2006.

VAÇULIK, A.; KOUNDA-KIKI, C.; SARTHOU, C.; PONGE, J.F. Soil invertebrate activity in biological crusts on tropical Inselbergs. *Eur. J. Soil Sci.*, 55: 539-549, 2004.

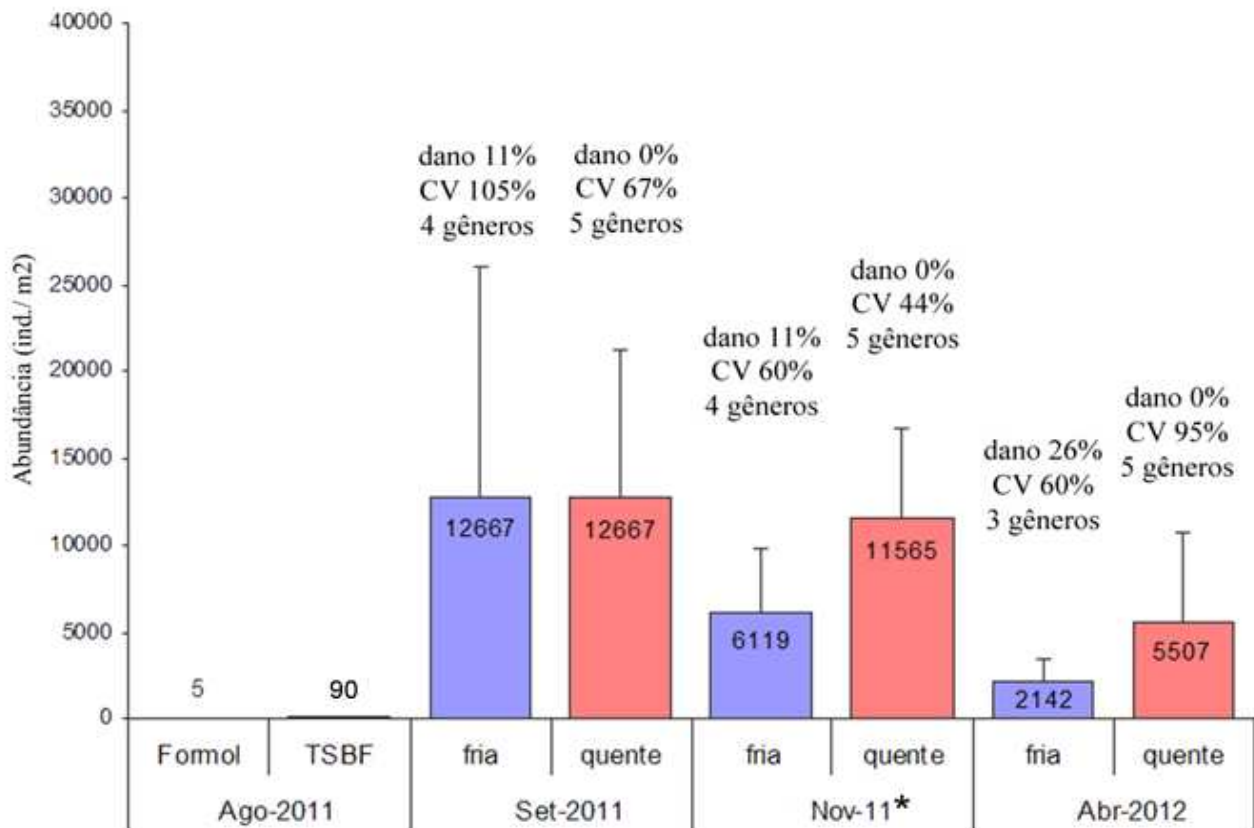


Figura 1 – Abundância média de enchytraeídeos (indivíduos/ m²) estimada através do método de extração por formol (n= 9), TSBF (n= 8) e métodos de extração úmida quente e fria (n= 8 em cada data de coleta). Dados acima das colunas se referem ao percentual de enchytraeídeos danificados ao final do processo de extração úmida (dano), coeficiente de variação (CV) entre as amostras e ao número de gêneros identificados. Asterisco indica ocasião em que o número de enchytraeídeos obtidos pelas extrações fria e quente diferiram significativamente (teste-t; p< 0.05).