

COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE COLETA DE MINHOCAS EM DOIS DIFERENTES SISTEMAS FLORESTAIS

COMPARISON BETWEEN DIFFERENT EARTHWORMS COLLECTION METHODS IN TWO DIFFERENT FOREST SYSTEMS

Recebido em 28 dez. 2015; aceito em 23 mai. 2016

EVERALDO DOS SANTOS

Graduado em Ciências biológicas, Mestre em Ciência do Solo pela UFPR e Doutorando em Engenharia Florestal na área de conservação da natureza pela UFPR. Atualmente é professor concursado do Instituto Federal do Paraná, câmpus Paranaguá. E-mail: everaldo.santos@ifpr.edu.br

GIOVANO RADEL DE VARGAS

Agrônomo, Mestre em Ciência do Solo pela UFPR e Doutorando em ciência do Solo também pela UFPR.

NILSON RAMOS DE MELLO FILHO

Graduado em Ciências biológicas e Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental pela UTFPR.

GEORGE BROWN GARDNER

Agrônomo, Mestre em solos pela Universidade da Geórgia (EUA) e Doutor em Ecologia pela Universidade de Paris VI. Atualmente, é pesquisador da Embrapa Florestas.

RESUMO. As minhocas fazem parte da macrofauna invertebrada edáfica e atuam na estruturação física e química do solo, além de serem importantes bioindicadores. O presente trabalho teve como objetivo avaliar qualitativamente três diferentes métodos de coleta de Oligochaeta em uma área nativa de Floresta Ombrófila Mista secundária e uma área de silvicultura de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. A coleta foi realizada no final do verão em duas diferentes profundidades 0 a 10 cm e 10 a 20 cm nas duas áreas utilizando três diferentes métodos de coleta. No total foram coletadas 23 minhocas, sendo 11 indivíduos com formol a 0,5%, sete indivíduos com o método qualitativo e cinco indivíduos com o método TSBF, todos na profundidade 0-10 cm, pois, nenhum indivíduo foi coletado na profundidade 10-20 cm. O método de coleta com formaldeído a 0,5% possibilitou a coleta de maior número de indivíduos. Foram identificadas três famílias de Oligochaeta e o maior número de indivíduos foi da família Megascolicidae. Considerando indivíduos das três famílias e independente do método de coleta, o maior número de indivíduos é observado em solo sob mata nativa. **Palavras-chave:** Fauna edáfica, macrofauna do solo, métodos de amostragem, Oligochaeta.

ABSTRACT. Earthworms are invertebrates and are part of the soil macro-fauna. They work with the physical and chemical structure of the soil, being important bio-indicators. This study aimed to evaluate qualitatively three different methods of Oligochaeta collection in a native area of secondary Araucaria Forest and *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze forestry area. The sampling was performed in late summer in two different depths 0-10 cm and 10-20 cm in the two areas using three different collection methods. In total, 23 earthworms were collected and 11 subjects with 0.5 % formaldehyde, 7 individuals with the qualitative method and 5 subjects with TSBF method, all at the depths of 0-10 cm. No individual samples were collected at 10-20 cm. The collection method with formaldehyde 0.5 % allowed for the collection of a greater number of individual samples. Three families of Oligochaeta and the largest number of individuals were the Megascolicidae family that was identified. Considering the three individual families regardless of collection method, the largest numbers were observed in soils under native forest conditions. **Keywords:** Edaphic fauna, sampling methods, Oligochaeta, soil macro-fauna.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do solo pode ser verificada de diversas formas, sendo o aspecto biológico muito importante porque pode ser associado aos parâmetros físicos, químicos, ambientais e de fertilidade. As

minhocas têm sido reconhecidas pelo seu papel como organismos capazes de contribuir e melhorar as características edáficas.

Substâncias minerais e orgânicas do solo transitam pelo trato gastrointestinal dos animais oportunizando a melhoria na estrutura física e química do solo. Além disso, promovem a aeração por meio das galerias que constroem devido ao seu papel de engenheiros de ecossistemas. Estes atributos colocam as minhocas como agentes importantes na ecologia do solo (BUTT; GRIGOROPOULOU, 2010). Podem também indicar o potencial produtivo do solo, além da contaminação ambiental, do sistema de manejo, da perturbação e biodiversidade do ecossistema, (BROWN; DOMÍNGUEZ, 2010).

Atualmente, os métodos mais utilizados pelos pesquisadores para a amostragem de Oligochaeta terrestres (minhocas) são através da escavação e da triagem manual de monólitos, pelo método TSBF (*Tropical Soil Biology and Fertility*) proposto por Anderson e Ingram (2010) e a extração de minhocas por solução de formol (ZABORSKI, 2003). Na maioria dos casos, a triagem de monólitos constitui o meio de amostragem mais preciso em relação à extração por meios químicos (BOUCHÉ; GARDNER, 1984) considerando número total de indivíduos e biomassa nas amostragens. Mas isto não garante a maior eficácia deste método.

Em alguns casos, as minhocas que habitam camadas inferiores à da amostragem podem escapar rapidamente em direção as camadas mais profundas, prejudicando a coleta do material (BARETTA *et al.*, 2007); além disso, este método causa destruição física do solo no local de coleta, além de ser mais trabalhoso e dependente de maior período de tempo e mão de obra (NELSON; SATCHELL, 1962). A utilização de solução química extratora, como o formol, visa diminuir os efeitos negativos do método de escavação, mas também apresenta desvantagens por ser um produto tóxico e carcinogênico (SCHMIDT *et al.*, 2001).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar qualitativamente três diferentes métodos de coleta de Oligochaeta em uma área nativa de Floresta Ombrófila Mista secundária e área de silvicultura de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Caracterização da área

O estudo foi realizado na Estação de Pesquisa da Embrapa Florestas, localizado no município de Colombo (PR), na região metropolitana de Curitiba, numa altitude média de 938 m (Figura 1).

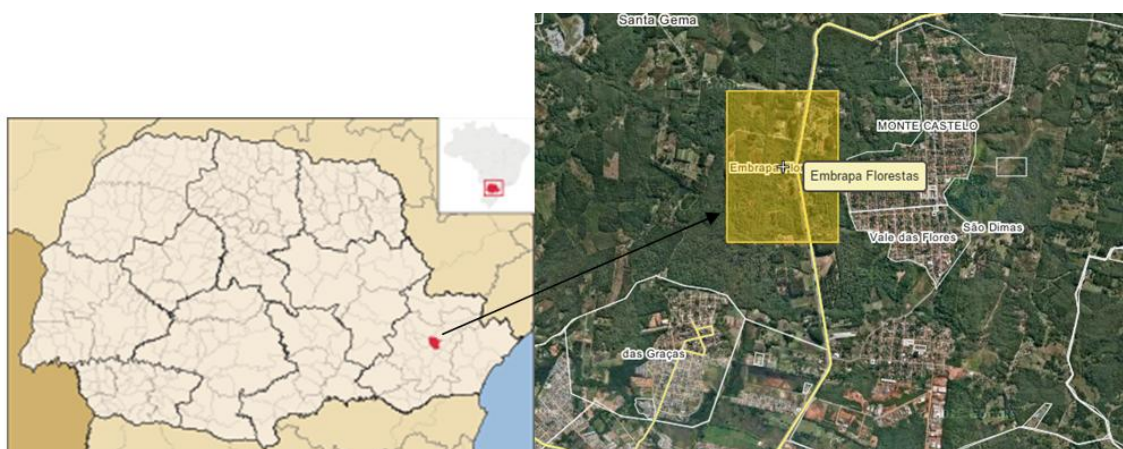


Figura 1. Mapa de localização da estação experimental da EMBRAPA Florestas no município de Colombo no estado do Paraná (Fonte: Wikimapia/Wikipedia, 2015).

Foram utilizadas duas diferentes áreas para coleta, uma delas composta de floresta nativa com formação fitogeográfica Floresta Ombrófila Mista (sucessão secundária, com árvores nativas de araucária) e outra área com plantio florestal de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze com 30 anos de idade. O clima na região é definido como subtropical úmido (Cfb) de acordo com a classificação de Köppen, com a maioria da precipitação anual (1400-1500 mm) no verão, sendo o mês de agosto o mais seco do ano (71 mm). A temperatura média mensal varia de um máximo de 16,7 °C em fevereiro a um mínimo de 8,4 °C em julho.

2.2 - Coleta e amostragem

Para a avaliação da população de minhocas, foram utilizados três métodos de coleta em duas profundidades 0-10 cm e 10-20 cm, sendo dois métodos de coleta manual e um método comportamental com utilização de solução irritante.

O primeiro método de coleta manual utilizado foi de acordo com TSBF, onde se retirou amostras do solo em monólitos de 25x25x30 cm com auxílio de uma pá cortadeira demarcado por um gabarito de PVC. O segundo método foi o qualitativo onde foram abertas trincheiras em forma de L com 50x50 cm. O método de coleta comportamental foi realizado com utilização de 20 litros de uma solução irritante de formaldeído a 0,5% (RAW, 1959; BAKER, 1985) aplicado em uma área de 50x50 cm. Este método é chamado de comportamental porque ao aplicar a solução de formaldeído no solo as minhocas têm o comportamento de subirem para a superfície do solo devido à irritação. O material de cobertura da superfície do solo constituído pela liteira e plantas herbáceas foram removidos manualmente antes do início da coleta e o tempo de coleta manual das minhocas que saíam para a superfície do solo foi estabelecido em 15 minutos. Todas as minhocas coletadas foram acondicionadas em frascos com solução de álcool 20% e fixadas em formol a 4% para posterior identificação em laboratório.

Para cada método, foram amostrados seis pontos em blocos inteiramente casualizados a uma distância de dez metros entre si em cada área. As coletas foram realizadas no início do outono.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As coletas foram realizadas em duas diferentes profundidades 0 a 10 cm e 10 a 20 cm, mas todos os indivíduos coletados, independentemente da área e do método de coleta, foram observados na profundidade de 0 a 10 cm, portanto, não houve ocorrência de indivíduos na profundidade 10-20 cm. A predominância dos indivíduos nesta profundidade é devido à maior umidade em relação às camadas mais profundas, teor de matéria orgânica e menor compactação do solo nos primeiros dez centímetros.

Outro fato que deve ser considerado é que antes do plantio de *Araucaria angustifolia* e da regeneração da floresta nativa, as áreas foram utilizadas para produção agrícola convencional o que justifica também a maior compactação do solo abaixo de 10 cm devido ao uso pretérito de implementos que promoveram esta compactação. Kalu e colaboradores (2015) encontraram maior densidade de minhocas na profundidade 0-15 cm do que em maior profundidade, 15-30 centímetros independentemente da estação ou da cobertura vegetal pelo método TSBF mostrando que o maior número de indivíduos são encontrados em menores profundidades corroborando aos resultados.

Foi coletado um total de 23 indivíduos adultos e juvenis distribuídos em três famílias considerando os três diferentes métodos de coleta. A família de Oligochaeta com maior número de indivíduos coletados foi Megascolecidae com 16 indivíduos, seguido das famílias Lumbricidae com quatro e Rhinodrilidae com três indivíduos (Tabela 1).

Quanto ao método de coleta com solução de formaldeído diluído a 0,5% se mostrou mais eficiente permitindo a coleta de 11 indivíduos distribuídos nas três famílias identificadas. O método qualitativo permitiu a coleta de sete indivíduos sendo seis da família Megascolecidae e apenas um da família

Rhinodrilidae. O método TSBF permitiu a coleta de cinco indivíduos no total, sendo dois da família Lumbricidae e três da família Megascolecidae (Tabela 1).

Tabela 1. Abundância de indivíduos nos diferentes métodos de coleta.

Familia/Met	FORMOL O,5%	QUALIT.	TSBF	Total
Lumbricidae	2	0	2	04
Megascolecidae	7	6	3	16
Rhinodrilidae	2	1	0	5
Total	11	7	5	23

Os resultados de Silvano e colaboradores (2010) mostraram que o método TSBF é mais indicado para coleta de minhocas tanto em floresta nativa como em plantio de espécie nativa, quando comparado com o método do formol a 0,5% em estudo na mesma estação experimental que foi desenvolvido este trabalho.

A eficiência do método depende também do solo e cobertura vegetal que mostra maior ou menor nível de perturbação do solo, neste caso o formaldeído a 5% se mostrou eficiente devido à solução ser altamente irritante e provocar movimentos rápidos dos animais permitindo a fácil captura além de subirem a superfície do solo o que também facilita a visualização e captura. Com os métodos TSBF e qualitativo em trincheira as minhocas podem diminuir movimentos o que dificulta a visualização e captura, mas isso depende das características do solo. Steffen (2012) testou uma solução alternativa ao formaldeído a 5% para extração de minhocas do solo e comparou com solução de extrato de cebola na concentração de 175 g.L⁻¹ e observou que a solução alternativa apresentou a mesma capacidade que a solução extratora padrão (formaldeído a 0,5%) em solos sob diferentes coberturas vegetais em áreas de mata nativa, campo nativo e áreas de cultivo.

Baretta e colaboradores (2007) também demonstraram que o método de coleta com formol foi mais eficiente para algumas espécies de minhocas. Os métodos de coleta por formol e eletricidade mostraram-se mais eficientes também para coleta de minhocas adultas quando comparado com método de coleta manual. Azevedo e colaboradores (2010) corroboram com os resultados deste trabalho. Entretanto, Lima (2011) conseguiu resultados onde método manual foi igual ao formol para coleta de *Amyntas* sp e mais eficaz do que método formol para coleta de *Pontoscolex* sp. De acordo com Steffen e colaboradores (2015), o método de coleta é uma opção que deve ser apropriado ao objetivo da avaliação que se pretende, considerando as características do ambiente a ser amostrado e das espécies existentes no local. Butt e Grigoropoulou (2010) propõem uso de diferentes metodologias de coleta e defendem a ideia de que as diferentes metodologias devem ser utilizadas de acordo com recursos disponíveis. Iannone e colaboradores (2012) compararam dois métodos de amostragem de minhocas em solo sob reflorestamento e observaram que a abundância de minhocas e composição da comunidade revelaram-se semelhantes quando comparados os métodos de coleta com solução de mostarda diluída em água e alil-isotiocianato (AITC). Concluíram então, que a amostragem de minhocas pelos diferentes métodos utilizados parece ser igualmente eficaz e confiável apontando que o uso do estrato é eficaz e pode substituir o produto químico.

Ressetti e colaboradores (2008), ao comparar densidade populacional e biomassa de minhocas com o método de coleta com formaldeído a 0,5% e AITC em diferentes concentrações do extrator em três diferentes sistemas de uso sendo plantio direto, pastagem e mata nativa, observaram que no plantio direto o AITC na dose 50 mg.L⁻¹ é mais eficiente tanto na densidade populacional quanto a biomassa e o formaldeído é mais eficiente na pastagem e na mata nativa. Este fato se deve à característica da espécie que predominou na extração da área de plantio direto que é *Amyntas gracilis* (epiendogêica que vive na camada superficial do solo

na profundidade 0-15 cm). Mostraram então que a solução de AITC é mais eficiente do que o formaldeído nas condições de campo específica e desde que se use a concentração ideal pois também observaram que o alto aumento da concentração, diminui a eficiência do extrator.

Considerando a relação entre a ocorrência das três famílias identificadas e a vegetação, observou-se que comparativamente o número total de minhocas sob mata nativa é maior do que em plantio de *Araucaria angustifolia*. A família que apresentou o maior número de indivíduos identificados foi Megascolecidae, tanto em mata nativa como em plantio de *A. angustifolia* (Tabela 2).

Tabela 2. Número de indivíduos sob diferentes tipos de vegetação na profundidade 0-10 cm.

Família/Veg	Mata Nativa	Plantio de <i>Araucaria angustifolia</i>	Total
Lumbricidae	1	3	04
Megascolecidae	12	4	16
Rhinodrilidae	2	1	03
Total	15	8	23

O número total de indivíduos foi maior em mata nativa quando comparado com plantio de *A. angustifolia* devido às condições edáficas favoráveis na floresta nativa serem melhores do que em plantio. Como maior diversidade de espécies vegetais que contribuem com a qualidade da serapilheira que se deposita sobre o solo, melhorando a qualidade da matéria orgânica na camada superficial, melhoria nas condições físico químicas do solo como a elevação do pH e baixo nível de alumínio que diminui a toxicidade no solo o que favorece o estabelecimento das minhocas. O fato do número de indivíduos da família Megascolecidae ser maior nos dois sistemas florestais é devido ao alto número de indivíduos da espécie *Amyntas gracilis* que pertence à família, tem origem asiática e ampla distribuição geográfica, sendo comum em diferentes regiões do mundo. Esta espécie se adapta muito facilmente em diferentes ambientes e as condições edáficas ofertadas pela mata nativa oportunizam o estabelecimento dos indivíduos desta espécie, este fato também foi observado por Ressetti (2004).

Steffen (2012) ao estudar a diversidade de minhocas em diferentes ecossistemas no Rio Grande do Sul observou que a ocorrência das espécies de minhocas apresenta relação com o tipo de ecossistema avaliado, onde observou maior riqueza de espécies em áreas de fragmento de mata nativa e campo nativo. Por outro lado, Lima (2011) estudou abundância de minhocas sob três diferentes tipos de vegetação (Floresta Nativa, Plantio de *Araucaria angustifolia* e plantio de *Pinus* spp) e observou abundância de minhocas em plantio de *Pinus elliottii* Engelm.

Silvano e colaboradores (2010) observaram associação de minhocas *Glossoscolex* e *Pontoscolex* em floresta nativa de araucária ao comparar plantio de *A. angustifolia* com floresta nativa ombrófila mista. A relação entre a diversidade e ocorrência de diferentes espécies de diferentes famílias de oligoquetos e a eficiência do método de coleta se dá principalmente por causa das características edáficas do ambiente e cobertura vegetal associado as características e comportamento das espécies que compõe os diferentes ecossistemas, por isso há dificuldade de definição de uma única metodologia de coleta de minhocas. Neste sentido, é fundamental que métodos alternativos e que não utilizem substâncias tóxicas sejam considerados para amostragem de oligoquetos considerando as características do ambiente.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados, pode-se concluir que o método de coleta com formaldeído a 0,5% possibilitou a coleta de maior número de indivíduos, mostrando-se indicado tanto em floresta nativa como em plantio de espécie nativa, embora haja necessidade de maior amostragem e associação com diferentes variáveis.

A família com maior número de indivíduos coletados nos três métodos de coleta foi Megascolicidae.

Nas três famílias identificadas, independentemente do método de coleta, o maior número de indivíduos foi observado em solo sob mata nativa secundária.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao professor e pesquisador Alexander Feijoo da Universidade Tecnológica de Pereira na Colômbia, pelos conhecimentos repassados no curso de Taxonomia, ecologia e biologia de minhocas e apoio na identificação taxonômica das famílias, e a EMBRAPA Florestas pelo apoio. Agradecemos, também, ao IFPR/PROEPI/PIAP pelo apoio por meio do edital 015/2013.

6 REFERÊNCIAS

- ANDERSON, J. M.; INGRAM, J. S. I. *Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods*. 2.ed. Wallingford: CAB International, 1993.
- AZEVEDO, P. T. M.; BROWN, G. G.; BARETTA, D.; PASINI, A.; NUNES, D. H. Populações de minhocas amostradas por diferentes métodos de coleta (Elétrico, químico e manual) em ecossistemas da região de Londrina, Paraná, Brasil. *Acta Zoológica Mexicana*, v. 26, n. 2, 2010.
- BAKER, G. H. Formalin-expulsion of earthworms (Lumbricidae) from Irish peat soils. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 17, p. 113-114, 1985.
- BARETTA, D.; BROWN, G. G.; JAMES, S. W. & CARDOSO, E. J. B. N. Earthworm populations sampled using collection methods in atlantic forests with *Araucaria angustifolia*. *Scientia Agricola*, v. 64, p 384-392, 2007.
- BOUCHÉ, M. B.; GARDNER, R. H. Earthworms functions. VIII – Population estimation techniques. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, v. 21, p. 37-63, 1984.
- BROWN, G.; DOMÍNGUEZ, J. Uso das minhocas como bioindicadoras ambientais: Princípios e práticas – O 3° Encontro Latino Americano de Ecologia e Taxonomia de Oligoquetas (ELAETAO3). *Acta zoológica Mexicana*, Número Especial, v. 2, p. 1-18, 2010.
- BUTT, K. R.; GRIGOROPOULOU, N. Basic research tools for earthworm ecology. *Applied and Environmental Soil Science*, 2010.

IANNONE, B. V.; UMEK, L. G.; WISE, D. H.; HENEGHAN, L. A simple, safe, and effective sampling technique for investigating earthworm communities in woodland soils: implications for citizen science. *Natural Areas Journal*, v. 32, n. 2, p. 283-292, 2012.

KALU, S.; KOIRALA, M.; KHADAKA, U. R. Earthworm population in relation to different land use and soil characteristics. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, v. 7, n. 5, p. 124-131, 2015.

LIMA, O. G. Indicadores físicos, químicos e biológicos da qualidade do solo em plantios florestais e Floresta Ombrófila Mista na EMBRAPA Florestas, Colombo – PR. Dissertação (Mestrado). Curitiba, PR, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFPR, 2011.

NELSON, J. M.; SATCHELL, J. E. The extraction of Lumbricidae from soil with special referenceto the hand-sorting method. In: MURPHY, P. W. (Ed.). *Progress in soil zoology*. Londres: Butterworths, 1962.

RAW, F. Estimating earthworm populations by using formalin. *Nature*, v. 21, p. 1661-1662, 1959.

RESSETTI, R. R. Determinação da dose de alil-isotiocianato em substituição à solução de formol na extração de *Olicheta* edáficos. Dissertação (Mestrado). Curitiba, PR, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFPR, 2004.

RESSETTI, R. R.; DIONÍSIO, J. A.; MOTTA, A. C. V. Comparação entre doses de alil isotiocianato e a solução de formaldeído na extração de minhocas. *Bragantia*, v. 67, n. 1, p. 25-33, 2008.

SCHMIDT, O.; CURRY, J. P.; HACKETT, R. A.; PURVIS, G.; CLEMENTS, R. O. Earthworm communities in conventional wheat-clover monocropping and low-input wheat-clover intercropping systems. *Annals of Applied Biology*, v. 138, p. 377-388, 2001.

SILVANO, C.; LIMA, O. G.; BROWN, G. G. Abundância de oligoquetas terrestres em áreas de floresta Ombrófila Mista e plantação de *Araucaria angustifolia*, utilizando dois métodos de coleta. *Anais e Resumos*. 4º Elaetao, 2010.

STEFFEN, G. P. K. Diversidade de minhocas e sua relação com ecossistemas naturais e alterados no estado do Rio Grande do Sul. Tese (Doutorado). Santa Maria, RS, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFSM, 2012.

STEFFEN, G. P. K.; ANTONIOLLI, Z. I.; STEFFEN, R. B.; JACQUES, R. J. S. Importância ecológica e ambiental das minhocas. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 36, n. 2, p.137-14, 2013.

ZABORSKI, E. R. Allyl isothocyanate: an alternative chemical expellant for sampling earthworms. *Applied Soil Ecology*, v. 22, p. 87-95, 2003.