

Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Programa de Pesquisa em Biodiversidade - PPBio Amazônia



PROTOCOLO
(Versão 2) ⁽¹⁾

ESTIMANDO TAXAS DE DECOMPOSIÇÃO E
FATOR DE ESTABILIZAÇÃO DA LITEIRA USANDO O
MÉTODO TBI (Tea Bag Index)

Jafet Vieira da Silva
UFRR/PRONAT
jafet_vieira@yahoo.com.br
(<http://lattes.cnpq.br/8617614192312935>)

Reinaldo Imbrozio Barbosa
INPA/CODAM
reinaldo@inpa.gov.br
(<http://lattes.cnpq.br/2040628785093158>)

Arthur Camurça Citó
INPA/NAPRR
arthur.cito@inpa.gov.br
(<http://lattes.cnpq.br/7110415474097725>)

Boa Vista – Roraima
Março de 2019

¹ Versão atualizada e revisada.

1. Introdução

A decomposição é um processo majoritariamente biológico e extremamente importante para os ecossistemas florestais tropicais, especialmente no que diz respeito a ciclagem de nutrientes e ao fluxo de carbono. Nesse contexto, a liteira (fine litter) depositada sobre o solo é uma importante fonte de energia envolvida nesse processo. Estudos sobre decomposição da liteira vem avançando em nosso entendimento sobre o efeito das condicionantes ambientais nas taxas de decomposição. Investigações dessa natureza compõem o arcabouço de informações necessárias para modelar fluxos e estoques de carbono derivados da necromassa florestal – um tema importante no que tange ao papel dos ecossistemas tropicais na mitigação do aquecimento global (IPCC 2003, 2006; Hiraishi *et al.* 2013).

Diversos métodos podem ser utilizados para estimar as taxas de decomposição, porém a falta de padronização tem causado dificuldades de comparação entre ambientes, complicando sua aplicação em modelos globais. Para tentar suprir essa dificuldade Keuskamp *et al.* (2013) sugeriram o método TBI (Tea Bag Index - <http://www.teatime4science.org>) como uma alternativa de fornecimento de dados padronizados, além da obtenção de uma visão integrada do processo de decomposição entre diferentes ecossistemas. O TBI é baseado no uso de saquinhos de chá (tea bags) comercialmente disponíveis, de fácil aquisição e padronizados pelo mesmo material vegetal e pela mesma malha envolvente, fundamentando a metodologia TBI. De forma geral, os tea bags são enterrados, e após determinado tempo, a massa não decomposta é mensurada, estimando-se tanto a taxa de decomposição quanto o fator de estabilização da liteira. Essa metodologia pode ser facilmente reproduzida devido a disponibilidade de acesso ao material comercial e ao baixo custo de implementação do experimento. Dessa forma, é possível utilizar essa metodologia igualmente em todas as grades de pesquisa do PPBio, gerando um banco de dados com informações padronizadas sobre os processos de decomposição nos mais variados ecossistemas. O método TBI propicia rápida aquisição de dados de campo, podendo ser utilizado, por exemplo, como referência para estudos que buscam determinar a influência das condicionantes ambientais (e.g. solo, altitude, abertura do dossel, lençol freático) sobre as taxas de decomposição e estabilização em diferentes escalas regionais. Em adição, os resultados obtidos podem ser aproveitados para comparações dos fluxos e estoques de carbono derivados da matéria orgânica morta entre diferentes ecossistemas, permitindo um melhor entendimento do papel de cada formação vegetal no ciclo global do carbono.

1.1 Conceitos Básicos

Nesse protocolo, decomposição constitui-se na ação degradadora sobre os mais variados materiais orgânicos que compõem a liteira (e.g. folhas e gravetos) depositados no solo de ecossistemas terrestres (e.g. florestas e savanas). A velocidade com que esse processo ocorre é denominada de **taxa de decomposição (k)**. Outro importante parâmetro aqui definido é o **fator de estabilização (S)**. Esse fator representa o momento pré-humificação da matéria orgânica, que é quando a relação C:N (Carbono:Nitrogênio)

é baixa o suficiente para indicar o fim da decomposição - momento em que os nutrientes ficarão disponíveis no solo para as plantas. O fator de estabilização é um importante parâmetro para melhor compreender os processos de sequestro de carbono, uma vez que, após a estabilização, a matéria orgânica tende a manter esse carbono estocado no solo. O método TBI estabelece a integração desses dois parâmetros.

1.2 Objetivo

O objetivo desse documento é o de apresentar uma sugestão de protocolo geral de aplicação do método TBI (Keuskamp *et al.* 2013) ajustado às parcelas permanentes das grades e módulos de pesquisa do PPBio, com o intuito de estimar taxas de decomposição e fator de estabilização da liteira para diferentes ecossistemas.

2. Método TBI: seleção dos “tea bags”

O método TBI utiliza dois distintos e padronizados chás comerciais da marca Lipton (Figura 1A): “green tea” (menos recalcitrante) e “rooibos tea” (mais recalcitrante). Atualmente existem dois tipos de material que formam os saquinhos que envolvem o chá e que se encontram disponíveis no mercado (náilon = versão 1.0 e polipropileno = versão 2.0). Ambos possuem saquinhos na forma tetraédrica (arestas de 5 cm) de malha com 0,25 mm de abertura. Os dois tipos possuem o mesmo material vegetal em seu interior, mas com códigos numéricos de produtos diferentes (EAN - European Article Number): (i) “green tea” 1.0 (EAN: 8722700055525) e 2.0 (8714100770542) - composto por folhas provenientes da espécie *Camellia sinensis* (Theaceae); consistindo em 89 % de chá verde e (ii) “rooibos tea” 1.0 (EAN: 8722700188438) e 2.0 (8722700188438) - composto por tecidos do caule da espécie *Aspalathus linearis* (Leguminosae); consistindo de 93 % de “rooibos tea”. A correta identificação numérica dos chás é importante porque evita a utilização de outros tipos de chás que não estariam de acordo com o método. Além disso, o cálculo final da taxa de decomposição (k) e do fator de estabilização da liteira (S) depende da identificação do tipo de malha que envolve cada saquinho de chá. Assim sendo, o pesquisador responsável pelo estudo deve especificar claramente qual EAN foi utilizado para evitar incertezas relacionadas aos distintos tipos de malha.



Figura 1 - Procedimentos metodológicos para a implantação do método TBI: (A) pesagem e identificação dos “tea bag”, (B) “tea bag” enterrados (incubados), (C) retirada dos “tea bag”, (D) triagem dos saquinhos (classificação da integridade física, conforme item 9 do protocolo abaixo especificado), (E) secagem dos “tea bag” e (F) pesagem dos “tea bag” após secagem.

3. Protocolo adaptado aos módulos e grades PPBio

O protocolo TBI que foi desenvolvido por Keuskamp *et al.* (2013) permite o uso dos saquinhos de chá em qualquer ambiente através de regras simples de instalação. Contudo, como forma de padronizar a instalação do experimento em parcelas permanentes que cada grade ou módulo do PPBio possui, nós estamos sugerindo (i) a aplicação de um maior número de saquinhos (réplicas) por parcela, (ii) padronização da posição das réplicas em relação aos piquetes da parcela e (iii) um menor tempo de

incubação dos saquinhos de chá no solo. Essas sugestões são derivadas da dissertação de mestrado de Silva (2018) realizada na Grade do PPBio/Maracá (Roraima) em 2017.

As etapas a serem seguidas são as seguintes:

1. Adquirir caixas de chá da marca Lipton dos tipos Green e Rooibos em função do número de parcelas que serão amostradas (verificar disponibilidade dos chás em <http://www.teatime4science.org/method/availability-of-tea/>). Cada caixa possui 20 unidades e nós estamos propondo que em cada parcela sejam instalados pelo menos seis pares (6 unidades de green tea associadas a 6 de rooibos tea). A instalação de seis pares de tea bags (ao invés de apenas um par) ao longo da parcela aumenta as chances de obtenção de um valor médio para as taxas de k e S por parcela. Isso reduz as incertezas relacionadas a uma média derivada de apenas um par de tea bags ou mesmo que parcelas fiquem sem medidas devido a perdas por intensa fragmentação das unidades por ação de meso e macrofauna do solo.
2. Antes da incubação dos saquinhos de chá em campo, determinar o peso inicial (PI = peso seco inicial individual) de cada unidade (tea bag) em balança eletrônica com precisão de 0.0001 g (0.001 g também é aceitável) (Figura 1A). Isso é importante, pois as variações de peso (pré e pós incubação) podem ser imperceptíveis em alguns casos.
3. Identificar as unidades com marcador preto no lado branco da etiqueta que compõe cada saquinho de chá (Figura 1B).
4. Determinar o melhor período do ano para instalar o experimento. Segundo Keuskamp *et al.* (2013), o melhor período de instalação é o de “maior produtividade” do ecossistema. Nos testes realizados em Roraima (Silva 2018), os “tea bags” foram incubados ao final do período chuvoso e início do período seco. Esse período foi considerado o de maior atividade biológica ao longo do ano nessa região da Amazônia porque o solo ainda está úmido e o fotoperíodo diário é mais extenso em relação a outras fases do ano (cf. Barbosa *et al.* 2012).
5. Cumprida as etapas anteriores, enterrar os seis pares (seis unidades de green e seis de rooibos) em cada parcela. As unidades devem ser enterradas à 8 cm de profundidade mantendo o seguinte padrão: o primeiro par deve ser instalado próximo do piquete 0m, o segundo aos 50m e assim sucessivamente a cada 50m até o piquete 250m⁽²⁾. A distância entre as unidades (green e rooibos) incubadas em cada piquete deve permanecer entre 20-25 cm, mantendo as etiquetas visíveis acima do solo (Figura 2A, 2B, 2C, 2D). Como as parcelas são permanentes e não devem sofrer alterações ambientais bruscas, nós estamos sugerindo o mínimo de remoção do folhiço ou, se essa remoção for necessária, que o mesmo seja novamente repostado sobre o local de incubação dos saquinhos,

² Aumentar o número de pares por parcela pode ser aconselhável em locais com intensa atividade de meso e macrofauna do solo. Desta forma, se houver disponibilidade de recursos financeiros, é possível incubar mais pares de green e rooibos tea em cada piquete de referência.

para tentar garantir as condições micro-ambientais que caracterizam a superfície do solo cada parcela.

6. Após esse procedimento marcar o local com um sinalizador colorido para facilitar o retorno, atentando para as anotações da data, código da parcela, fitofisionomia (opcional) e as condições experimentais do local.
7. Retirar os saquinhos após 42 dias de incubação (6 semanas) (Figura 2D). O método original preconiza que o recolhimento dos saquinhos deva ser até, no máximo, 60 dias pós-incubação para regiões tropicais. Contudo, nós estamos sugerindo que esse tempo seja reduzido para 42 dias. Isso porque nossos estudos preliminares (cf. Silva 2018) indicaram que nas condições do norte da Amazônia (alta umidade e temperatura) o tempo ideal de incubação está configurado entre 35-50 dias. Assim sendo, 42 dias foi adotado por ser uma interpolação que evita perdas excessivas de saquinhos de chá.
8. Após a coleta, realizar a limpeza externa dos saquinhos, retirando partículas de solo ou raízes aderidas às malhas envolventes. Após a limpeza, secar os saquinhos por 48 h a 70°C em estufa graduada. Não exceder essa temperatura sob pena de destruir a malha e descaracterizar o peso seco de cada unidade.
9. Após a limpeza e secagem, realizar uma avaliação da integridade física de cada saquinho. Saquinhos íntegros (I) são totalmente aproveitados para cálculo de k e S. Saquinhos rasgados (R) representam perda de material (total ou parcial) e são descartados devido a impossibilidade de utilizá-los nas operações matemáticas, mas podem ser aproveitados nos cálculos (%) de perda de massa total (MacDonald *et al.* 2018; Seelen *et al.* 2019). Saquinhos com pequenos furos (F), em geral provocados por raízes ou mesofauna, podem ser aproveitados, mas precisam de uma avaliação rígida do pesquisador responsável.
10. Após esse procedimento, remover a etiqueta dos saquinhos que serão aproveitados, mantendo o barbante agregado, pois isso é importante devido ao tipo de cálculo adotado para k e S. Pesá-los cada um deles individualmente (PF = peso seco final individual).
11. A sequência de cálculos para estimar o fator de estabilização (S) e a taxa de decomposição (k) é definida por uma série de fórmulas matemáticas apresentadas por Keuskamp *et al.* (2013). Planilhas Excel com a sequência de cálculos podem ser facilmente obtidas em Data submission for researchers NON-WOVEN BAGS and Data submission for researchers WOVEN BAGS (<http://www.teatime4science.org/publications/>).
12. Embora a inserção dos valores individuais de PI e PF de cada réplica possa ser aplicado às planilhas, nós estamos sugerindo que se adote a média de PI e PF das réplicas de cada chá (green e rooibos) que foram instaladas ao longo de cada parcela. Esse procedimento vai de encontro ao desenho amostral do PPBio (uma parcela = uma amostra) e fortalece os resultados porque aproveita todos os saquinhos sem problemas de integridade, garantindo valores de k e S para todas as parcelas investigadas.



Figura 2 - Procedimentos de campo para instalação e coleta dos tea bag: (A) identificação da parcela e dos piquetes de instalação do experimento, (B) abertura das covas (8 cm de profundidade), (C) enterramento das unidades mantendo as etiquetas acima do solo, (D) unidade desenterrada, preservada em sacos plásticos para posterior avaliação da integridade física, limpeza de detritos, secagem e pesagem.

Agradecimentos

O CNPQ financiou a pesquisa de campo e laboratório através do projeto “Florestas de Roraima (FORR) - Monitoramento integrado da biodiversidade e processos ecossistêmicos: efeito de determinantes ambientais em diferentes escalas espaciais e temporais no extremo norte” (CNPq/Capes/FAPs/Fundo Newton/PELD nº 15/2016). O estudo também está integrado ao INCT SERVAMB (Instituto Nacional de Serviços Ambientais da Amazônia - Edital Nº 15/2008) através do projeto “Crescimento e mortalidade de árvores em florestas ecotonais de Roraima: efeito das condicionantes ambientais e da variabilidade” (Edital Universal MCT/CNPq Nº 01/2016). Esta versão do protocolo é resultado das sugestões feitas pelo Dr. Bill Magnusson (INPA – CENBAM).

Referências

- Barbosa, R.I.; Mourão Jr., M.; Casadio, G.M.L.; da Silva, S.J.R. 2012. Reproductive phenology of the main tree species in the Roraima savanna, Brazilian Amazon. *Ecotropica*, 18(2): 81-91.
- Hiraishi, T.; Krug, T.; Tanabe, K.; Srivastava, N.; Baasansuren, J.; Fukuda, M.; Troxler, T.G. (Eds.). 2013. *Revised Supplementary Methods and Good Practice Guidance Arising from the Kyoto Protocol*. Switzerland: IPCC.
- IPCC. 2003. 2003 IPCC good practice guidance for land use, land-use change and forestry. In: Penman, J.; Gytarsky, M.; Hiraishi, T.; Krug, T.; Kruger, D.; Pipatti, R.; Buendia, L.; Miwa, K.; Ngara, T.; Tanabe, K.; Wagner, F. (Eds.). Institute for Global Environmental Strategies for the Intergovernmental Panel on Climate Change, Kanagawa, Japan.
- IPCC. 2006. 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. In Eggleston H.S., B.L., Miwa K., Ngara T., Tanabe K. (Ed.), *National Greenhouse Gas Inventories Programme (Agriculture, Forestry and Other Land Use)*. Kanagawa, Japan <<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/>>; Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) and Institute for Global Environmental Strategies (IGES).
- Keuskamp, J.A.; Dingemans, B.J.J.; Lehtinen, T.; Sarneel, J.M.; Hefting, M.M.; Muller-Landau, H. 2013. Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(11): 1070-1075.
- MacDonald, E.; Brummell, M.E.; Bieniada, A.; Elliott, J.; Engering, A.; Gauthier, T.-L., *et al.* 2018. Using the Tea Bag Index to characterize decomposition rates in restored peatlands. *Boreal Environment Research*, 23(221–235).
- Seelen, L.M.S.; Flaim, G.; Keuskamp, J.; Teurlincx, S.; Arias Font, R.; Tolunay, D., *et al.* 2019. An affordable and reliable assessment of aquatic decomposition: Tailoring the Tea Bag Index to surface waters. *Water Research*, 151: 31-43.
- Silva, J.V. 2018. *Efeito das condicionantes ambientais na decomposição e estabilização da liteira fina em florestas ecotonais de Roraima*. Dissertação de Mestrado, UFRR, Boa Vista, Roraima. 45 p.