



COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE FITÓLITOS EM SEDIMENTOS TURFOSOS

MAURO PAROLIN¹; MAYARA DOS REIS MONTEIRO²; MAYRA STEVANATO¹

*mparolin@gmail.com

¹Laboratório de Estudos Paleoambientais da Fecilcam

²Programa de Pós-Graduação em Geografia, Universidade Estadual de Maringá

RESUMO

O trabalho determinou entre dois métodos, um que favorecesse a maior e melhor recuperação possível de fitólitos em 3 amostras de sedimento turfoso, coletadas em Campo Mourão/PR. As amostras foram secas em estufa (60°C/24h), após, foram homogeneizadas, separando-se 20g de material. Aplicaram-se dois protocolos laboratoriais: **i)** aquecimento das amostras em solução de 1:4 de HNO₃ e H₂SO₄ (3h/90 °C), após resfriamento adicionou-se H₂O₂ (v.130), posteriormente as amostras foram lavadas com água destilada via centrifugação a 1.500 RPM até a neutralização do pH, a separação das substâncias inorgânicas e orgânicas foi operada com ZnCl₂ (2,3g/cm³), após separação, as amostras foram lavadas via centrifugação (1.500 rpm) até a eliminação do ZnCl₂; **ii)** adição de HCl (10%) para verificação e eliminação de carbonatos, posteriormente as amostras foram misturadas em uma solução de 50 ml KOH (10%) aquecida até o ponto de ebulição, após o material foi imediatamente misturado a 1 litro de água, trocando-se a água a cada hora até a neutralização do pH, a separação das substâncias orgânicas das inorgânicas foi a mesma do método I. Foram montadas lâminas permanentes dos procedimentos com 50 µl de material. Realizou-se contagens de 200 fitólitos/lâmina, bem como a concentração pelo avistamento de fitólitos com aumento de 640x (5 pontos por lâmina/3 lâminas). Os procedimentos tiveram praticamente a mesma ocorrência de fitólitos, no entanto, a concentração de fitólitos no procedimento "I" (~35 morfotipos) foi maior do que a do procedimento "II" (~22 morfotipos), fato que pode ser explicado pela não eliminação de outras estruturas orgânicas (método II), como palinomorfos e partículas de carvão. O primeiro procedimento, por conta da facilidade de observação, é o melhor para trabalhos apenas com fitólitos, lembrando que o segundo método o pesquisador poderá acrescentar outras estruturas em sua análise.

Palavras-chave: turfa, sedimento, recuperação de fitólitos

ABSTRACT

The study determined between two methods, one favoring the largest and best recovery phytoliths in 3 samples of peaty sediment collected in Campo Mourão/PR. The samples were dried in a greenhouse (60 ° C/24h) following were mixed thoroughly, separating 20 g of material. Were applied to two laboratory protocols: **i)** heating the samples in a 1:4 solution of HNO₃ and H₂SO₄ (3h/90°C), after cooling added H₂O₂ (v.130), subsequently the samples were washed with distilled water via centrifugation at 1,500 rpm until neutral pH, the separation of inorganic and organic substances was operated with ZnCl₂ (2.3 g/cm³), after separation, samples were washed via centrifugation (1500 rpm) to eliminate the ZnCl₂; **ii)** addition of HCl (10%) for verification and elimination of carbonates, the samples were subsequently mixed with a solution of 50 ml KOH (10%) heated to boiling point, after the material was immediately mixed with 1 liter of water, changing the water every hour until neutral pH, a separação das substâncias orgânicas das inorgânicas foi a mesma do método I. Procedures of

permanent slides were mounted with 50µl of material. Counts were performed 200 phytolith/slide, and the concentration of the sighting phytoliths with increased 640x (5 points for slides /3 slides). The procedures were almost the same occurrence of phytoliths, however, the concentration of the phytoliths "I" (~ 35 morphotypes) procedure was greater than that of the procedure "II" (~ 22 morphotypes), fact that cannot be explained by the elimination of other organic structures (method II), as palynomorphs and coal particles. The first procedure, due to the ease of observation, it is best to only work with phytoliths, noting that the second method the researcher can add other structures in their analysis.

Keywords: peaty, sediment, recovering phytoliths

INTRODUÇÃO

Os fitólitos são conhecidos desde o século XIX, seu uso tem se dado principalmente nos estudos arqueológicos, entretanto seu uso como indicador *proxy* em trabalhos de reconstituição paleoambiental é muito difundido e.g. Medeanic et al. 2007; Coe et al. 2013, Calegari et al. 2013, entre outros. Tal fato se dá principalmente devido a sua resistência á decomposição. Vale lembrar, que os fitólitos, ao contrário dos palinomorfos, preservam-se bem e em grande quantidade nos mais diversos tipos de ambiente, quer em solo ou sedimento.

Diante do papel que essas microestruturas estão assumindo, o presente estudo analisou dois métodos de recuperação de fitólitos em sedimentos turfosos, coletados na região de Campo Mourão, Paraná.

MATERIAL E MÉTODO

Foram coletadas 3 amostras de sedimentos turfosos na planície aluvial do rio Água dos Papagaios (Figura 1). As amostras foram secas em estufa bacteriológica por 24 horas a 50°C. Após, cada amostra foi homogeneizada e foram pesados 20 gramas de material. Para a extração dos fitólitos foram usados dois procedimentos, um por ataque ácido (níttrico e sulfúrico) e outro por hidróxido de potássio. Extração por ataque ácido (método 1)

O ataque químico baseou-se em Medeanic et al. (2008), onde 20 g do sedimento das três amostras de sedimento turfoso foram colocadas em 3 Erlenmeyers, neles foram adicionadas uma solução de 1:4 dos ácidos nítrico (HNO₃ - 65%) e sulfúrico (H₂SO₄), respectivamente. Os Erlenmeyers foram cobertos com vidro de relógio aquecendo-se os mesmos em chapa térmica por 3 horas a 90 °C (protegida por capela de exaustão). Decorrido o período de aquecimento e o tempo necessário para o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, adicionou-se aproximadamente 10 ml de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), após esse tratamento, as amostras foram lavadas com água destilada inúmeras vezes,

agilizando-se o processo com centrifugação a 1.500 RPM até que o pH se estabiliza-se (~7). Para separação das substâncias inorgânicas e orgânicas acrescentou-se ao material $ZnCl_2$ (densidade $2,3g/cm^3$). As amostras com $ZnCl_2$ foram lavadas diversas vezes com água destilada, agilizando-se o processo via centrifugação (1.500 RPM). Após a limpeza do $ZnCl_2$, adicionou-se álcool 70% ao material resultante. As lâminas permanentes foram montadas pipetando-se 50 μl do material em lâminas, que posteriormente foram secas em chapa térmica, após resfriamento, as lâminas foram cobertas com Entellan® e lamínula.



Figura 1. Imagens de satélite evidenciando o local onde foram coletadas as amostras. Fonte: Google Earth®

Extração por ataque ácido (método 1) - O ataque químico baseou-se em Medeanic et al. (2008), onde 20 g do sedimento das três amostras de sedimento turfoso foram colocadas em 3 Erlenmeyers, neles foram adicionadas uma solução de 1:4 dos ácidos nítrico (HNO_3 - 65%) e sulfúrico (H_2SO_4), respectivamente. Os Erlenmeyers foram cobertos com vidro de relógio aquecendo-se os mesmos em chapa térmica por 3 horas a 90 °C (protegida por capela de exaustão). Decorrido o período de aquecimento e o tempo necessário para o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, adicionou-se aproximadamente 10 ml de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), após esse tratamento, as amostras foram lavadas com água destilada inúmeras vezes, agilizando-se o processo com centrifugação a 1.500 RPM até que o pH se estabiliza-se (~7). Para separação das substâncias inorgânicas e orgânicas acrescentou-se ao material $ZnCl_2$ (densidade $2,3g/cm^3$). As amostras com $ZnCl_2$ foram lavadas diversas vezes com água destilada, agilizando-se o processo via centrifugação (1.500 RPM). Após a limpeza do $ZnCl_2$, adicionou-se álcool 70% ao material resultante. As lâminas permanentes foram montadas pipetando-se 50 μl do material em lâminas, que posteriormente foram secas em chapa térmica, após resfriamento, as lâminas foram cobertas com Entellan® e lamínula.

Extração por hidróxido de potássio (método 2) - Esse tratamento baseia-se na técnica de extração de palinórfos descrita por Faegri e Iversen (1975). Para tanto cada amostra de 20

gramas de sedimento turfoso foram tratadas com HCl (10%), tal tratamento visa a eliminação de carbonatos, caso a amostra ferva deve-se aplicar HCl (10%) até que cesse o processo de fervura, cessada a fervura a amostra deve ser lavada com água até a estabilização do pH (~7). Como as amostras em questão não ferveram em HCl (10%), as mesmas foram misturadas em uma solução de 50 ml de KOH (10%) e postas para ferver em chapa aquecedora, mexendo-se a solução com bastão de vidro até atingir o ponto de fervura. Após o aquecimento o material foi imediatamente misturado a 1.000 ml de água trocando-se a água a cada hora até a estabilização do pH (~7). Para a separação das substâncias orgânicas das inorgânicas, bem como para a preparação das lâminas foi operado o mesmo processo descrito no item ataque ácido.

Observação ao microscópio óptico

As lâminas foram observadas em microscópio óptico aumento de 640x, as fotomicrografias foram realizadas com base no software TSView7®. A identificação dos fitólitos foi realizada conforme literatura especializada (Piperno 2006; Raitz, 2012) e na coleção de referência do Lepafe. Foram contados 200 fitólitos para cada amostra avaliada. Para a determinação da concentração de fitólitos realizou-se a contagem de fitólitos em 5 pontos de observação, escolhidos ao acaso em 3 lâminas por amostra. Os dados foram tabelados e gerado gráfico a partir do software Tilia®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à qualidade das lâminas para observação em microscópio óptico, os dois métodos praticamente se equivalem, como pode ser observado na figura 2. No entanto, foi constatado, durante a contagem, maior facilidade de observação pelo método do hidróxido de potássio.

A ocorrência e a concentração de fitólitos nos dois procedimentos foram muito parecidas, sendo p(~35 morfotipos por amostra avaliada) foi maior do que a do procedimento II (~22 morfotipos), fato que pode ser explicado pela não eliminação de outras estruturas orgânicas, e.g palinomorfos, partículas de carvão.

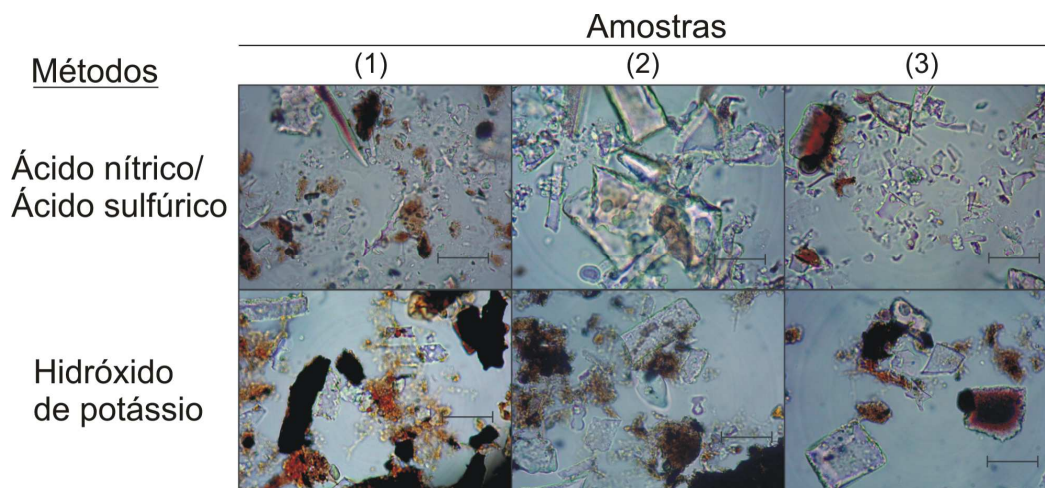


Figura 2. Fotomicrografias, visão geral das lâminas por amostra e método de preparo. Escala de 35µm

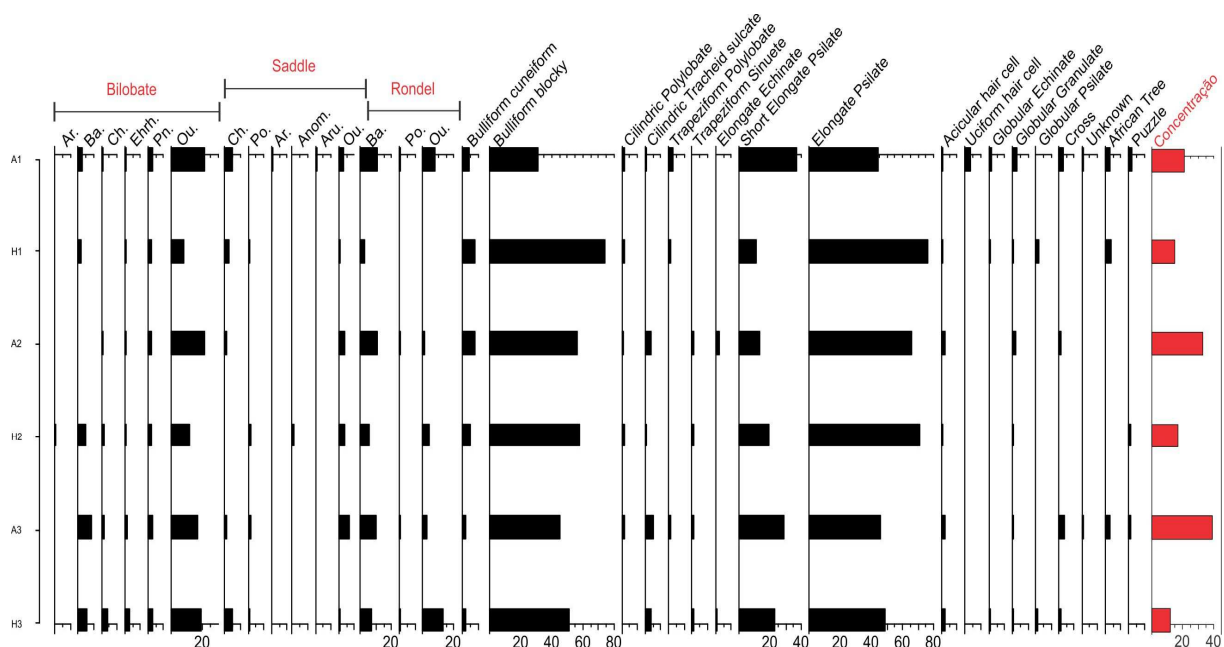


Figura 3. Concentração de fitólitos e número de fitólitos contados por forma nas três amostras avaliadas segundo o método de extração: A. ataque ácido e H. por hidróxido de potássio.

Diante dos resultados, sugere-se por conta da facilidade de observação, o primeiro procedimento, principalmente para trabalhos eminentemente fitolíticos, lembrando que o segundo método o pesquisador poderá acrescentar outras estruturas em sua análise.

AGRADECIMENTOS

O primeiro autor agradece ao CNPq (processo 472496/2011-5), pelo apoio financeiro e a Fundação Araucária pela Bolsa de Produtividade. A segunda autora agradece ao CNPq pela bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

CALEGARI, M.R.; MADELLA, M.; VIDAL-TORRADO, P.; PESSENDA, L.C.R.; MARQUES, F.A. Combining phytolith and $\delta^{13}C$ matter in Holocene paleoenvironmental studies of tropical soils: an example of an Oxisol in Brazil. *Quaternary International*, 287, pp. 47-55, 2013.

COE, H.H.G.; ALEXANDRE, A.; CARVALHO, C.N.; SANTOS, G.M.; SILVA, A.S.; SOUSA, L.O.F.; LEPSCH, I.F. Changes in Holocene tree cover density in Cabo Frio (Rio de Janeiro, Brazil): Evidence from soil phytolith assemblages. *Quaternary International*, 287, pp.63-72, 2013.

FAEGRI, K.; IVERSEN, J. **Text-book of pollen Analysis**. Munksgaard, Copenhagen. Blackwell Scientific Publications, 1975, 295 p.

MEDEANIC, S.; CORRÊA, I. C. S.; WESCHENFELDER, J. Palinomorfos nos sedimentos de fundo da Laguna dos Patos, RS: Aplicação nas reconstruções paleoambientais. *Gravel*, v. 5, n. 1, p. 89-102, 2007.

MEDEANIC, S.; CORDAZZO, C.V.; CORRÊA, I.C.S.; Mirlean, N. Os Fitólitos em Gramíneas de Dunas do Extremo Sul do Brasil: Variabilidade Morfológica e Importância nas Reconstruções Paleoambientais Costeiras. *Gravel*, v.6, n.2, 2008, p.1-14.

PIPERNO, D.R. 2006. *Phytoliths: a comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists*. 1.ed. Oxford: AltaMira Press, p.238, 2006.

RAITZ, E. 2012. Coleção de referência de Silicofitólitos da flora do Sudoeste do Paraná: Subsídios para estudos paleoambientais. Programa de Pós-graduação em Geografia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Dissertação de Mestrado, 204 p.