Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"

Avaliação ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina

Julia Corá Segat

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

Piracicaba 2012

Julia Corá Segat Zootecnista

Avaliação ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina

Orientadora:

Profa.Dra. ELKE JURANDY BRAN NOGUEIRA CARDOSO

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

Piracicaba 2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Segat, Julia Corá Avaliação ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina / Julia Corá Segat. - - Piracicaba, 2012.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Biologia do solo 2. Dejetos animais 3. Ecotoxicologia 4. Fertilizantes orgânicos 5. Poluição do solo 6. Suínos I. Título

CDD 631.86 S454a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais Osni e Maristela verdadeiramente os maiores mestres que tive. Ensinaramme que 1 g de exemplos vale mais que toneladas de conselhos.

Ao meu maravilhoso irmão, Eduardo que tanto amo, a quem digo nunca, nunca, nunca desista, pois, só os que fracassam dizem que seu sucesso não passa de sorte; e por ele, eu reuniria as "esferas do dragão".

A minha Chica que me mostrou a vida de uma maneira diferente... 24 horas diárias de fidelidade, amor incondicional, compreensão, amizade e proteção sem pedir nada em troca, e sim, ela superou qualquer expectativa na sua existência.

Mesmo que obrigada signifique tanto, não exprime a importância de vocês para mim.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Deus pelo fim de mais essa etapa.

Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso pela disponibilidade, acompanhamento e por prestar toda a orientação científica criteriosa estimulando a construção pessoal do trabalho e esclarecimentos necessários para meu desempenho.

Dilmar Baretta exemplo vivo de educador e não apenas professor, meu maior incentivador para chegar até aqui.

Aos pesquisadores da Epagri – Chapecó Francisco Espirito Santo e Eloi Scherer pela ajuda primordial na realização do estudo e por todo conhecimento já gerado para a sociedade.

Ana Cláudia Ecco que me deu abrigo, mesmo a quilômetros de distância.

Eliana Vera Geremia, a Nena, não só por toda ajuda, mas acima de tudo, pela maravilhosa companhia e horas de conversas.

Aos colegas de laboratório e sala da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" Paulo Roger Lopes Alves pela ajuda e melhorias no trabalho; Joice Andrade Bonfim que sempre me acolheu; Marina Yumi Horta Miyauchi por todos as corridas e horas malhadas; Mylenne Calciolari Pinheiro da Silva pela diversão que proporcionou; Rafael Vasconcellos que precisou me aguentar; Daniel Bini pelas centenas de caronas; Cristiane Alcântara dos Santos por me "proteger" dos vizinhos; Jamil de Morais Pereira pelos bons momentos e boas conversas; German Estrada pelas risadas e as famosas arepas, Thiago Gumiere por "atazanar" a vida de todos; Pedro Andrade pela colaboração no trabalho; Roque Emmanuel da Costa de Pinho pela ajuda prestada e por mostrar que só permanecemos onde queremos.

Ana Julia Bortolazzo e Pedro Toledo pela ajuda, tempo dedicado e cuidado com nossos "bichinhos".

Aos técnicos Denise Mescolotti pelas horas de conversa e todas as viagens e Luis Fernando Baldesin pela ajuda e paciência com toda a bagunça gerada.

Aos alunos da UDESC/CEO Ana Paula Maccari, Heverton Biazzi, Fernando Zimmer, Talyta Zortéa, Katiane Casarotto, Rafael Anselmi, Patrícia Eloísa Tormen, o professor Diovani

Paiano e o nosso "motora" Alex por suportar todas as dificuldades de manejo do dejeto de suíno.

Carlos Eduardo Oltramari pela paciência, compreensão, carinho, por ser o motivador dessa caminhada e pelo excelente exemplo de pessoa.

Aos meus "amigos do Sul" Maicon Sbardella, Maria Luisa Appendino Nunes, Fábio Pértile, Grégory Rovadoscki, Claiton Zotti, Steben Crestani por me ajudarem a aguentar a saudade de casa.

Aos meus pais e irmão pelo amor e carinho dedicados, por me consolar ao telefone, pela preocupação, pela espera do dias que pareciam nunca passar, paciência de me ter em casa como visita e por cuidarem da minha Chica.

Aos meus familiares em especial Laura Faccina, Marcia Corá, Suzana Corá, o tio emprestado Pedro Uczai que acreditaram no meu trabalho e me incentivaram.

Aos órgãos de apoio à pesquisa, Capes e Fapesp, pelo apoio financeiro, tornando possível a execução desse trabalho.

A todos digo que, diante da vastidão do tempo e imensidão do universo é um prazer dividir um planeta e uma época com vocês.

Aqueles que me jogaram pedras, pois, com elas construo meu castelo.

Obrigada!

Apresso-me em rir de tudo, com medo de ser obrigada, por algo, chorar...

SUMÁRIO

RESUMO	.11
ABSTRACT	.13
1 INTRODUÇÃO	.21
1.1 Suinocultura	.21
1.2 Composição de dejetos de suínos e sua aplicação no solo	.22
1.3 Meio ambiente e a suinocultura	
1.4 Ecotoxicologia	.25
1.5 Testes ecotoxicológicos	.27
1.5.1 Testes de toxicidade aguda	
1.5.2 Testes de toxicidade crônica	.28
1.6 Organismos teste	.29
1.6.1 Minhocas – Eisenia andrei	.30
1.7 Ecotoxicologia e legislação	.31
Referências	.33
2 AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE DEJETOS DE SUÍNOS EM SOLOS	,
NATURAIS DE SANTA CATARINA NA SOBREVIVÊNCIA, REPRODUÇÃO E	
COMPORTAMENTO DE FUGA DE Eisenia andrei	
Resumo	.39
Abstract	.39
2.1 Introdução	.40
2.2 Desenvolvimento	.42
2.2.1 Material e Métodos	.42
Solos	.42
Dejeto de suínos	.43
Tratamentos	.45
Organismos para testes	.46
Teste de toxicidade aguda – letalidade	.46
Teste de toxicidade crônica – reprodução	.47
Avaliação de comportamento – fuga	.47
Validação dos testes	
Análise dos dados	.48
2.2.2 Resultados	.49
Toxicidade aguda – letalidade	.49
Toxicidade crônica – reprodução	.53
Teste de comportamento – fuga	
2.2.3 Discussão	
2.3 Conclusões	.69
Referências	
3 EFEITO ECOTOXICOLÓGICO DA APLICAÇÃO DE DEJETO DE SUÍNOS SOBRE	
Folsomia candida (Hexapoda: Collembola) EM SOLOS DE SANTA CATARINA	.75
Resumo	.75
Abstract	.76
3.1 Introdução	.76
3.2 Desenvolvimento	
3.2.1 Material e Métodos	.78
Solos	
Dejeto de suínos	.79
Tratamentos	.80

Organismos para testes	80
Teste de toxicidade aguda – letalidade	
Teste de toxicidade crônica – reprodução	81
Avaliação de comportamento – fuga	81
Validação dos testes	82
Análise de dados	83
3.2.2 Resultados	83
Toxicidade aguda – letalidade	83
Toxicidade crônica – reprodução	87
Teste de comportamento – fuga	
3.2.3 Discussão	
3.3 Conclusões	
REFERÊNCIAS	98
APÊNDICES	

RESUMO

Avaliação ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina

O Brasil ocupa a quarta posição entre os maiores produtores mundiais de carne suína. Destague nacional deve ser dado ao estado de Santa Catarina, que detém 25% da produção do Brasil. Em Santa Catarina, a intensificação da produção em pequena área territorial gera um grande aporte anual de dejetos de suínos por unidade de área agrícola. Isso se deve ao fato de que a alternativa mais utilizada para descarte desses resíduos é a sua aplicação como fertilizante agrícola, prática que tem gerado um dos maiores problemas de poluição ambiental, especialmente na região Oeste Catarinense. Poucos trabalhos com intuito de avaliar a toxicidade desse material aos organismos edáficos e sua interação com diferentes classes texturais de solos podem ser encontrados. Para avaliação desta toxicidade, uma ferramenta utilizada internacionalmente, e cada vez mais frequentemente no Brasil, é a ecotoxicologia terrestre. Esta técnica é utilizada para avaliar efeitos de substâncias que, quando adicionadas aos solos, causam impactos em organismos, mensurando as respostas de alterações na taxa de letalidade, reprodução, desenvolvimento e comportamento de organismos edáficos padronizados. Desta maneira, este estudo objetivou avaliar por meio de testes ecotoxicológicos os efeitos de doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m3 ha-1; D1: 25 m3 ha-1; D2: 50 m3 ha-1; D3: 75 m3 ha-1 e 100 m3 ha-1), em diferentes tipos de solo (Argissolo Vermelho Eutrófico – S2; Latossolo Vermelho Distrófico – S3 e Neossolo Quartzarênico – S4 e Solo Artificial Tropical – S1) na sobrevivência, reprodução e comportamento de minhocas (Eisenia andrei) e colêmbolos (Folsomia candida), através de metodologias padronizadas internacionalmente. Os resultados das avaliações com Eisenia andrei mostraram que no solo com menor teor de argila a toxicidade do dejeto causou letalidade de 100% dos indivíduos nas duas maiores doses testadas. Para os testes de toxicidade crônica, avaliando o potencial reprodutivo, as doses testadas em Neossolo Quartzarênico tiveram efeitos negativos em Eisenia andrei, mas nos outros solos não ocorreu efeito perceptível. Os resultados obtidos para testes com Folsomia candida mostraram toxicidade em todas as doses testadas, causando letalidade significativa dos indivíduos na menor dose de dejeto aplicada e, baseado nessa resposta, doses menores foram usadas para avaliar efeito crônico e no comportamento (0 m³ ha⁻¹, 10 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 20 m³ ha⁻¹ e 25 m³ ha⁻¹). Os efeitos das doses usadas para o teste de reprodução foram significativamente diferentes dos observados no controle causando redução no número de juvenis gerados em todos os solos testados. As doses D3 e D4 no S2, assim como todas as doses no S3 causaram significativa fuga de colêmbolos para o solo não contaminado. Os resultados obtidos revelam a importância da utilização de solos naturais de diferentes texturas e diferentes organismos na avaliação de toxicidade de dejetos de suínos e também mostram que nesse caso os resultados dos testes com solo artificial tropical não podem ser extrapolados para solos naturais.

Palavras-chave: Biologia do solo; *Eisenia andrei; Folsomia candida*; Argissolo Vermelho Eutrófico; Latossolo Vermelho Distrófico; Neossolo Quartzarênico

ABSTRACT

Ecotoxicological evaluation of swine manure usage in soils from Santa Catarina State – Brazil

Brazil occupies the fourth place worldwide among the largest swine producers. National highlight should be given to Santa Catarina State, which stands for 25% of this production. In this state, the intensification of the production in a small area leads to a yearly huge supply of swine manure per unit of agricultural area. This is due to the fact that the most used methods to dispose swine manure is its application as a fertilizer on soils, which has been causing one of the largest environmental pollution problems, especially in the Western region of Santa Catarina State. Very few studies are available aiming to evaluate swine manure toxicity on edaphic organisms and its interaction with different textural classes of soil. To evaluate this toxicity ecotoxicology has been used around the world, and increasingly in Brazil. This technique is used to assess the effects of substances that, when applied on soil, cause impacts on the organisms, measuring their responses with regard to mortality rates, reproduction, development and behavior of soil organisms. Thus, this study aimed to evaluate, by means of ecotoxicological tests the effects of increasing swine manure doses (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e 100 m³ ha⁻¹) in different types of soil (Ultisols - S2; Oxisol – S3 and Entisols – S4) and in an Tropical Artificial Soil – S1, on the survival, reproduction and behavior of earthworms (Eisenia andrei) and springtails (Folsomia candida), using standard international methodologies. The results of Eisenia andrei evaluations showed that, in sandy soils, swine manure toxicity caused 100% mortality of the organisms at the two largest doses tested. For chronic toxicity tests, evaluating the reproductive potential, there were negative effects of tested doses on Eisenia andrei in Entisols, but for the other soils there was no perceptible effect. The results of Folsomia candida tests showed toxicity for all the tested doses, causing significant mortality of the organisms even at the smallest dose applied. Therefore, smaller doses were used to evaluate chronic and behavioral effects (0 m³ ha⁻¹, 10 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 20 m³ ha⁻¹ e 25 m³ ha⁻¹). The effects of applied doses for the reproduction test were highly different from those observed in the control treatment, always causing reduction in the number of produced juveniles for all types of soil tested. The D3 and D4 doses for S2, as well as, all the doses for S3, showed significant avoidance of springtails towards the uncontaminated soil. These data show the importance of the usage of natural soils with different textural classes and also different organisms in the evaluation of swine manure toxicity. Also, they show that the results for artificial tropical soils cannot be extrapolated to natural soils.

Keywords: Soil Biology; Eisenia andrei; Folsomia candida; Ultisols, Oxisol, Entisols

LISTA DE FIGURAS

	 Curva para correção de pH com CaCO₃ para os três solos naturais
t h	 Média de indivíduos (ind.) vivos de Eisenia andrei em solo artificial ropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ na⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)
\ s	 Média de indivíduos (ind.) vivos de <i>Eisenia andrei</i> em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)
` S	- Média de indivíduos (ind.) vivos de <i>Eisenia andrei</i> em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)
t [Média de indivíduos (ind.) vivos de Eisenia andrei em solo artificial ropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4). (T) Desvio padrão (n = 5)
((h	 Média de indivíduos (ind.) vivos de <i>Eisenia andrei</i> em Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹; D4: 60 m³ ha⁻¹ e D5: 75 m³ ha⁻¹). * Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo este de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)
	 Concentração letal (LC₅₀) calculada para a teste de letalidade de Eisenia andrei em Neossolo Quartzarênico contaminado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹; D4: 60 m³ ha⁻¹ e D5: 75 m³ ha⁻¹;)
, N 2	 Média de juvenis de <i>Eisenia andrei</i> em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem aplicação de dejeto de suínos (Dose zero - D0). *Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)
r 6	- Média de juvenis de <i>Eisenia andrei</i> em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). * Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

Figura 2.1	0 – Média de juvenis de <i>Eisenia andrei</i> em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratadodo com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 3 ha ⁻¹ ; D1: 25 3 ha ⁻¹ ; D2: 50 3 ha ⁻¹ ; D3: 75 3 ha ⁻¹ e D4: 100 3 ha ⁻¹). *Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. ($^+$) Desvio padrão (n = 5)
Figura 2.1	1 – Média de juvenis de <i>Eisenia andrei</i> em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha $^{-1}$; D1: 25 m³ ha $^{-1}$; D2: 50 m³ ha $^{-1}$; D3: 75 m³ ha $^{-1}$ e D4: 100 m³ ha $^{-1}$). ($_{\rm T}$) Desvio padrão (n = 5)
Figura 2.1	2 – Redução média de peso corporal (%) para <i>Eisenia andrei</i> após 28 dias de exposição ao solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)
Figura 2.1	3 – Redução média de peso corporal (%) para <i>Eisenia andrei</i> após 28 dias de exposição ao Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5)
Figura 2.1	4 – Redução média de peso corporal (%) para <i>Eisenia andrei</i> após 28 dias de exposição ao Argissolo Vermelho Eutrófico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5)
Figura 2.1	5 – Média de juvenis de <i>Eisenia andrei</i> em solo Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha $^{-1}$; D1: 15 m³ ha $^{-1}$; D2: 30 m³ ha $^{-1}$; D3: 45 m³ ha $^{-1}$ e D4: 60 m³ ha $^{-1}$). *Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. ($_{T}$) Desvio padrão (n = 5)
Figura 2.1	6 – Redução média de peso corporal, em %, para <i>Eisenia andrei</i> após 28 dias de exposição ao Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)
Figura 2.1	7 – Concentração efetiva (EC ₅₀) para a teste de reprodução com <i>Eisenia</i> andrei em Neossolo Quartzarênico tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹)
Figura 3.1	 Média de indivíduos (Ind.) vivos de Folsomia candida em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4). *Diferença significativa (p<0.05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

Figura 3.2	2 – Média de indivíduos (Ind.) vivos de <i>Folsomia candida</i> em solo artificial tropical (S1) contaminado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha ⁻¹ ; D1: 25 m³ ha ⁻¹ ; D2: 50 m³ ha ⁻¹ ; D3: 75 m³ ha ⁻¹ e D4: 100 m³ ha ⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)
Figura 3.3	3 – Média de indivíduos (Ind.) vivos de <i>Folsomia candida</i> em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)
Figura 3.4	4 – Média de indivíduos (Ind.) vivos de <i>Folsomia candida</i> em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)
Figura 3.5	5 – Concentração letal (LC ₅₀) para o teste de letalidade em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m ³ ha ⁻¹ ; D1: 25 m ³ ha ⁻¹ ; D2: 50 m ³ ha ⁻¹ ; D3: 75 m ³ ha ⁻¹ e D4: 100 m ³ ha ⁻¹)
Figura 3.6	6 – Concentração letal (LC ₅₀) para o teste de letalidade em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹)86
Figura 3.7	7 – Concentração letal (LC ₅₀) para o teste de letalidade em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹)87
Figura 3.8	3 – Média de juvenis de <i>Folsomia candida</i> em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3), sem tratamento. *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)
Figura 3.9	9 – Média de juvenis de <i>Folsomia candida</i> em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)
Figura 3.	10 – Média de juvenis de <i>Folsomia candida</i> em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

Figura 3.11 - Média de juvenis de <i>Folsomia candida</i> em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha¹; D1: 10 m³ ha¹; D2: 15 m³ ha¹; D3: 20 m³ ha¹ e D4: 25 m³ ha¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)
Figura 3.12 – Concentração efetiva (EC ₅₀) para o teste de toxicidade crônica em solo artificial tropical tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹)
Figura 3.13 – Concentração efetiva EC ₅₀ para o teste de toxicidade crônica em Latossolo Vermelho Distrófico tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹)
Figura 3.14 – Concentração efetiva EC ₅₀ para o teste de toxicidade crônica em Argissolo Vermelho Eutrófico tratado com doses crescentes de dejeto de suínos(D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹)91

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – F	Parâmetros físico-químicos dos solos naturais43
Tabela 2.2 –	Parâmetros físico-químicos do dejeto de suíno da fase de crescimento com umidade natural44
Tabela 2.3 – I	Resposta de fuga para <i>Eisenia andrei</i> em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (n = 5)
Tabela 2.4 – I	Resposta de fuga para <i>Eisenia andrei</i> em teste de comportamento com Solo Artificial Tropical (S1) e Neossolo Quartzarênico (S4) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m² ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (n = 5)
Tabela 3.1 –	Resposta de fuga para <i>Folsomia candida</i> em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1) e Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos. (n = 5)
Tabela 3.2 -	Valores de pH após 28 dias em solos com adição de dejeto de suínos

1 INTRODUÇÃO

1.1 Suinocultura

A carne suína é mundialmente a principal fonte de proteína de origem animal, representando pouco mais de 40% do total de carnes produzidas (ASSOCIAÇÃO PARANAENSE DE SUINOCULTORES - APS, 2011), sendo que no ano de 2010 foram produzidas 101.507 mil t no mundo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA - ABIPECS, 2011). A cadeia produtiva de carne suína brasileira apresenta um dos melhores desempenhos econômicos do mundo que é baseado em estratégias empresariais, avanços tecnológicos e organizacionais. Ao longo das últimas décadas vem ocorrendo mudanças estruturais com aumento de escala, especialização e tecnificação, tendências relacionadas à crescente integração com a estrutura industrial de abate e processamento, contribuindo assim, para o crescimento do rebanho e o aumento da produtividade (OLIVEIRA et al., 2006; MIELE, 2007; SAAB et al., 2009).

O amplo desenvolvimento da atividade suinícola contribuiu para a representatividade do país no cenário mundial. O país é o sexto consumidor representando 2,2% do total (UNITED STATES DEPARTAMENT AGRICULTURE - USDA, 2011) e também quarto maior exportador de carne suína no mundo (ABIPECS, 2011). Atualmente, o Brasil é o quarto maior produtor mundial, com 2,9% do total, ficando atrás apenas da China, União Européia e Estados Unidos (BRASIL..., 2011). Dados da ABIPECS (2011) mostram que nos últimos cinco anos o país teve um aumento de 23% na produção de carne suína e de 6% no volume de exportação, atingindo um montante acima de US\$ 1,3 bilhão em exportações, apenas no ano de 2010.

De acordo com Miele e Machado (2006) a região Sul do Brasil, compreende os estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, representando 82% dos estabelecimentos brasileiros com criação de suínos. Segundo a Associação Catarinense dos Criadores de Suínos - ACCS (2007), o estado de Santa Catarina é conhecido nacionalmente por possuir um dos maiores complexos industriais voltados à cadeia produtiva de suínos, chegando a representar 25 % da produção nacional e 0,7 % da produção mundial. Santa Catarina ganhou destaque também como sendo o primeiro estado produtor e exportador de carne suína do Brasil (AGRIANUAL, 2005).

1.2 Composição de dejetos de suínos e sua aplicação no solo

Dejetos de suínos são resultado da mistura de fezes, urina, água da lavagem das baias, sobras de rações, pó e pelos dos animais (GONÇALVES JUNIOR et al., 2008), desperdício da água dos bebedouros, dentre outros componentes decorrentes do processo de criação (KONZEN et al., 1997). Uma grande variação na composição deste material pode ser encontrada e é dependente, principalmente, do sistema e fase de criação dos animais.

De maneira geral, resíduos orgânicos como estercos, dejetos, biossólidos e outros compostos podem conter altas concentrações de metais pesados, maiores, às vezes, que os solos agrícolas, e o uso contínuo destes resíduos pode aumentar as quantidades totais de Cu, Zn, Pb, Cd, Fe e Mn nos solos (MATTIAS, 2006).

Dejetos oriundos da fase de crescimento contêm elevadas concentrações de Zn e Cu, que são usados como promotores de crescimento na alimentação animal (GRÄBER et al., 2005). O Zn é utilizado em concentrações próximas a 2.400 mg kg-1 com objetivo de reduzir distúrbios gastrointestinais aos animais logo após o desmame. Já o Cu é fornecido na alimentação, em doses até 250 mg kg-1, como promotor de crescimento (CORRÊA et al., 2011). Além dos metais, os animais excretam parcialmente todos os nutrientes fornecidos na dieta e, no caso de P e N, a excreção pode chegar a 67 % do que é fornecido via alimentação (OLIVEIRA, 2006). Kiehl (1985) afirma que entre 30 e 60 % do que o animal ingere via alimentação é utilizado para desenvolvimento corporal e o restante é perdido na forma de excretas. A elevada concentração de nutrientes nas rações dos animais gera dejetos também ricos em nutrientes (KONZEN, 2003).

No solo, o uso prolongado ou em grandes volumes de dejeto de suínos, para adubação, pode causar acúmulo de nutrientes. Scherer et al. (2010), avaliando o efeito do uso prolongado de dejetos de suínos sobre os atributos químicos em solos da região Oeste de Santa Catarina, verificaram que, a utilização contínua de dejetos em áreas com culturas anuais proporciona maior acúmulo dos nutrientes P, K, Cu e Zn, especialmente na camada mais superficial. Ceretta et al. (2010), avaliando o acúmulo de P, encontraram aumento linear deste nutriente no solo, nas suas formas mais lábeis, com aumento das doses de dejeto, principalmente na camada superficial.

Entretanto, se, por um lado, já existem alertas sobre os riscos ambientais do uso excessivo e/ou continuado dos dejetos animais como fertilizante do solo (SEGANFREDO, 2011), por outro lado poucos são os trabalhos sobre o impacto dessa prática no âmbito das lavouras e bacias hidrográficas. Embora a literatura internacional seja relativamente ampla sobre a utilização de dejetos de suínos como fertilizante e seu possível impacto ambiental, o acervo brasileiro é ainda bastante limitado (SCHERER et al. 2010). Nesse contexto, vários aspectos ainda precisam ser estudados para utilizar esse material sem prejudicar o ambiente. Entre esses aspectos está a capacidade de suporte dos dejetos no solo, bem como as alterações que esses provocam em suas características física, química e biológica (GAYA, 2004).

1.3 Meio ambiente e a suinocultura

Da mesma maneira que todo o complexo agropecuário, a suinocultura tem contribuído para o aumento da degradação dos recursos naturais e da poluição ambiental. Isso por que a atividade gera um grande volume de dejetos com grande potencial poluidor, aliado ao seu uso inadequado e sem critérios (GAYA, 2004). De acordo com Alves et al. (2008) a utilização inadequada de dejetos de suínos como forma de adubação em solos pode afetar as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, especialmente na camada superficial do solo, o que pode comprometer de forma significativa o desenvolvimento das culturas e a contaminação do lençol freático.

A dificuldade de manejo dos dejetos é um dos grandes problemas ambientais ocasionados pelo atual modelo de produção, decorrente da concentração geográfica da produção animal e sua intensificação dos sistemas de confinamento (RACHED, 2009).

A utilização de tais sistemas, seja para aves, suínos ou bovinos, em áreas cada vez menores, visando uma produção animal em larga escala, tem ocasionado problema no descarte dos resíduos produzidos, os quais podem ser potencialmente poluidores dos recursos naturais (KONZEN, 2003; DONADIO; BOGA, 2005). De acordo com Martines (2009), na Europa as atividades intensivas de suinocultura e de avicultura são consideradas atividades potencialmente poluidoras.

O desenvolvimento da suinocultura intensiva trouxe a produção de grandes quantidades de dejetos que são lançados ao solo, como alternativa de descarte, na maioria das vezes sem critérios e sem tratamento prévio, transformando-se em uma fonte de elevado potencial poluidor (OLIVEIRA et al., 2006). Oliveira (1993) destaca a suinocultura como a maior fonte poluidora dos solos e mananciais de água.

É possível ter idéia da proporção de dejeto de suínos gerado considerando que cada litro de água ingerido por animal equivale a 0,6 litros de dejeto (OLIVEIRA, 1993), e que as estimativas de consumo diário de água por um suíno adulto apontam volumes de 20 litros dia-1 (PALHARES, 2005). Em termos de volume no ano de 2010 só o estado de Santa Catarina abateu 8.685 milhões de suínos (ABIPECS, 2011).

De acordo com Menezes et al. (2003) um sistema de criação com ciclo completo pode produzir de 140 a 170 L dia-1 de dejeto por fêmea no plantel; enquanto no núcleo de produção de leitões, o volume gerado por matriz no plantel é de 35 a 40 L dia-1, já na terminação (leitões de 25 a 110 kg), a produção diária de dejetos varia de 12 a 15 L suíno-1 e, na fase de crescimento/creche (aproximadamente 8 a 25 kg), a quantidade produzida por suíno varia de 7 a 9 L dia-1.

A atividade suinícola é definida pelos órgãos ambientais como uma atividade potencialmente poluidora, devido à elevada quantidade de contaminantes contidos em seus efluentes, cuja ação individual ou integrada representa uma fonte importante de degradação dos recursos naturais (SANTOS, 2010). Os dejetos de suínos possuem um poder poluente de 4 a 5 vezes maior do que o do homem, apresentando-se como uma fonte potencialmente geradora de doenças, em função da proliferação de insetos e de bactérias (EMBRAPA, 2011).

No Brasil, especificamente na região Oeste de Santa Catarina, somente a partir dos anos 80 a poluição ocasionada pelos dejetos passou a ter um caráter mais grave devido à intensificação dos sistemas de produção. Isso pelo fato do solo desta região ser uma opção de descarte dos dejetos como fertilizante e pela baixa capacidade de investimento dos produtores familiares da região em adotar sistemas adequados para armazenagem e/ou tratamento dos dejetos (GUIVANT; MIRANDA, 2004). Além disso, a suinocultura é uma atividade tipicamente desenvolvida em pequenas propriedades rurais com agricultura familiar diversificada.

Em muitas dessas propriedades, os dejetos são aplicados de maneira contínua nas mesmas áreas e na maior parte dos casos, em frequências e quantidades que excedem a capacidade de absorção pelas plantas cultivadas (MATTIAS, 2006).

Por outro lado, quando esses dejetos são usados de acordo com a capacidade de suporte dos solos, podem contribuir com a produção, deixando de ser um problema ambiental e se transformando em aumento de lucratividade (CORRÊA et al., 2011). De acordo com Scherer et al. (2007), o dejeto de suínos, por ser um resíduo com elevado teor de matéria orgânica e nutrientes, exemplo N e P, e quando aplicado criteriosamente pode melhorar as propriedades físicas e as características químicas e biológicas do solo. Assim, a aplicação de resíduos orgânicos nos solos é uma prática bastante realizada em função de sua capacidade deste de melhorar as propriedades físicas e químicas dos solos (LEJON., et al, 2007).

De acordo com Baretta et al. (2003), a adição de resíduos orgânicos em sistemas de cultivo é um fator que pode influenciar a biota do solo, principalmente pelo fornecimento de alimento para os organismos e modificações na temperatura e cobertura do solo. Em outro estudo realizado em Santa Catarina, em Latossolo Vermelho distroférrico, verificou-se que o efeito do uso de diferentes formas de dejetos pode levar a resultados benéficos ou maléficos à macrofauna edáfica, variando conforme a composição do dejeto (ALVES., et al, 2008). Entretanto, não existem estudos avaliando o efeito ecotoxicológico da aplicação de doses de dejeto em diferentes classes de solos e a presente dissertação contribui com informações e desperta para novas hipóteses sobre o efeito dos dejetos de suínos, especialmente na qualidade do solo e da água.

1.4 Ecotoxicologia

No Brasil, os Estados do Paraná e de São Paulo foram os primeiros estados a regulamentar a aplicação de resíduos orgânicos em solos. A adoção dos limites máximos a serem aplicados seriam os primeiros passos, mas somente isso não garante a utilização intermitente de resíduos orgânicos na agricultura em longo prazo. Um segundo passo seria o monitoramento periódico de todos os componentes do ambiente agrícola, como solo, água, fauna e plantas (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA, 2006).

A magnitude dos efeitos com que o uso de dejetos suínos pode afetar, beneficamente ou não, o solo, as plantas e a fauna edáfica, pode ser avaliada por

meio da ecotoxicologia terrestre, a qual avalia e quantifica, por meios de bioensaios, o efeito de substâncias adicionadas ao solo sobre a diversidade e funcionalidade da fauna edáfica. Dessa maneira, os testes ecotoxicológicos tem se mostrado uma importante ferramenta aplicada ao monitoramento ambiental na Europa com foco nos efeitos adversos de agentes químicos, biológicos ou físicos nos ecossistemas (STÜTZER; GUIMARÃES, 2003).

A ecotoxicologia tornou-se uma importante ferramenta na avaliação de como substâncias químicas afetam diferentes organismos e populações, fornecendo subsídios para avaliar a qualidade de corpos receptores e proteger adequadamente a qualidade ambiental, por meio da associação das concentrações de contaminantes no meio e seu risco ecotoxicológico, complementando os mecanismos tradicionais do controle da poluição, como o caso de caracterizações químicas (CHAPMAN, 2002). É usada para estudar o comportamento e as transformações de agentes químicos no ambiente, assim como seus efeitos e respostas sobre indivíduos (BERTOLETTI, 1990) e tem propostas de solos e organismos padronizados para o (ORGANIZAÇÃO desenvolvimento dos testes ecotoxicológicos **PARA** COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO - OECD, 1984).

A importância da realização dos estudos em organismos ocorre para que se conheçam os efeitos antes que possam se manifestar na população, pois isto fornece uma boa avaliação do risco de extinção local de alguns organismos, ou seja, o risco ambiental (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

Os estudos conduzidos para avaliação de risco ambiental através da ecotoxicologia são definidos como uma metodologia quantitativa que utiliza modelos biológicos e estatísticos e resultam em índices (número de indivíduos mortos, taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, alterações morfológicas e fisiológicas, densidade e diversidade de uma espécie em uma comunidade biológica) que relacionam a intensidade da poluição aos riscos à saúde de receptores podendo esses serem em humanos ou ecológicos. Os índices resultantes destas avaliações são comparáveis entre si e podem ser utilizados no gerenciamento ambiental. A avaliação de risco ambiental serve como ferramenta para auxiliar o estabelecimento das metas de remediação específicas para o local em estudo ou ainda para investigar os efeitos relativos à introdução de uma substância química em corpos receptores (LIMA, 2009).

1.5 Testes ecotoxicológicos

O uso de testes ecotoxicológicos para análise do ambiente se torna mais importante à medida que aumenta a complexidade das transformações químicas no ambiente, sendo, portanto, estes testes complementares as análises químicas, já que estas não detectam efeitos nos organismos.

Os bioensaios permitem a avaliação da toxicidade de diversas fontes poluidoras, como, efluentes agrícolas, domésticos e industriais, sedimentos, medicamentos, produtos químicos em geral e suas interações sinérgicas ou antagônicas (RÖRIG, 2005).

As respostas da biota aos poluentes são distribuídas no tempo, algumas ocorrendo imediatamente após o evento poluidor ou respondendo a um estímulo que continua por longo tempo. Estas respostas distribuídas no tempo classificam os testes ecotoxicológicos em testes de toxicidade "aguda" ou "crônica", em função do tempo de exposição dos organismos à substância tóxica e do tipo de efeito que será observado (BRENDOLAN, 2004). Os testes ainda podem ser classificados de acordo com o efeito observado, causando letalidade, alteração de comportamento ou na reprodução (KAPANEN; ITÄVAARA, 2001).

Testes ecotoxicológicos terrestres objetivam qualificar e quantificar efeitos indesejados causados por substâncias adicionadas ao solo, para que essas respostas possam auxiliar na determinação de concentrações seguras de poluentes no solo.

1.5.1 Testes de toxicidade aguda

Esses testes avaliam uma resposta rápida e com efeito severo nos organismos. Os efeitos observados nos indivíduos são letalidade e imobilidade (BRENDOLAN, 2004).

Em uma visão geral, os testes agudos são baratos e de simples execução, no entanto, podem ser citadas limitações associadas a testes de toxicidade aguda como a impossibilidade de avaliar o aumento da letalidade após a exposição, pois alguns efeitos só podem ser observados após o período de latência e curtos períodos de exposição deste tipo de teste podem não abranger esse período. Esses testes são feitos com apenas uma espécie por vez, não considerando, assim, a transferência do agente tóxico dentro da cadeia alimentar além de ser realizado em apenas um período de vida dos organismos e não avalia

toxicidade com efeitos subletais que podem resultar na morte após exposição prolongada (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

Para realização dos testes de toxicidade aguda são seguidas recomendações estipuladas nas normas padrões internacionais OECD 207 (OECD, 1984) e ISO 11268 (ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL PARA PADRONIZAÇÃO - ISO, 1993).

Os protocolos internacionais descrevem metodologias para determinação de toxicidade aguda em minhocas (*Eisenia fetida e Eisenia andrei*) e em colêmbolos (*Folsomia candida*).

Os resultados obtidos nesse teste são submetidos à análise estatística para determinar valores de LC50 (concentração da substância que causa letalidade em 50 % dos indivíduos durante o período do teste) e a NOEC que é maior concentração da substância que não causa efeito aos indivíduos (No Obeserved Effect Concentration) (LIMA, 2009).

1.5.2 Testes de toxicidade crônica

Os testes de ecotoxicidade crônica são diretamente dependentes dos testes de ecotoxicidade aguda, já que as concentrações subletais são obtidas a partir da menor concentração com efeito observado (Low Observed Effect Concentration - LOEC). O uso de concentrações seriadas tem o objetivo de obter NOEC, essa pode ser considerada a concentração segura, estatisticamente encontrada, do agente tóxico e a LOEC (BRENDOLAN, 2004). Os dados também são submetidos à análise de regressão para que seja possível determinar uma concentração estimada (EC) que causaria X% de redução no potencial reprodutivo, que pode ser EC10, EC20 e EC50 (10, 20 e 50% de redução, respectivamente).

Esses testes podem ter um período de duração de 1 ciclo da vida até a totalidade da vida dos indivíduos. De maneira geral são observados efeitos subletais, que permitem a sobrevivência, mas afetam uma ou mais funções biológicas, como inibição do crescimento, reprodução e alterações morfológicas.

1.5.3 Teste de fuga

A realização do teste de fuga com invertebrados vem se tornando mais freqüente, pois esse teste permite resposta em curto período de tempo e indica a existência de condições desfavoráveis em um ambiente (ISO, 2008). É um teste que

apresenta sensibilidade (ISO, 1998) e avalia efeitos subletais causados pelo contaminante. Esse teste é empregado para complementar resultados de análises químicas e também para fazer uma avaliação preliminar e rápida, da função hábitat do solo.

No entanto, alguns autores afirmam que, para algumas substâncias, esse teste não mostra efeito de toxicidade, pois nem todos os contaminantes são irritantes, como o caso de 2-cloroacetamida, o qual em uma mesma dose não provoca fuga em minhocas, mas causa 100% de letalidade (YEARCLEY; LAZORCHAK; GAST, 1996).

O bioensaio de fuga para minhocas segue determinação da ISO 17512-1 (ISO, 2008) e no caso de colêmbolos a ISO 17512-2 (ISO, 2008). Neste teste os organismos adultos são expostos simultaneamente a solo contaminado e a solo não contaminado e, após 48 h, são contabilizados os indivíduos que estão em cada tipo de solo e determinando o comportamento de fuga dos indivíduos (BUCH, 2010).

O comportamento de fuga é observado quando o número de organismos no solo contaminado é estatisticamente diferente e menor que o obtido no controle, sugerindo limitação na função hábitat do solo. Da mesma maneira que para os testes de efeito crônico, os dados são utilizados para obter a concentração efetiva (ECx) (ISO, 2008).

1.6 Organismos teste

Devido à crescente necessidade de monitorar e avaliar os ambientes passou-se a padronizar os testes (bioensaios), assim como os organismos que são utilizados (organismos-testes). A escolha dos organismos utilizados nos bioensaios é amparada por vários critérios como sua representatividade em um determinado grupo de importância ecológica, sua pertinência como membro dentro da cadeia trófica, sua sensibilidade constante e apurada às substâncias, apresentando alterações bioquímicas, fisiológicas, morfológicas ou comportamentais (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008). É importante buscar espécies com estabilidade genética, que possibilitem a obtenção de lotes uniformes dos organismos e que possam ser cultivadas em laboratório, além disso, espécies com ampla distribuição geográfica também são recomendadas, assim como animais pequenos e de curto ciclo de vida devido à facilidade de manutenção.

Considerada a não existência de uma única espécie que se encaixe em todos esses critérios, podem ser encontradas diversas espécies padronizadas, sendo assim necessário escolher as que melhor representam o ambiente em questão. Magalhães e Ferrão-Filho (2008) recomendam assim o uso de diferentes espécies nos ensaios ecotoxicológicos.

Atualmente grande parte dos ensaios ecotoxicológicos utilizando invertebrados do solo são desenvolvidos utilizando minhocas, colêmbolos e enquitreídeos (RÖMBKE; BAUER; MARSCHNER, 1996). Isso, principalmente se deve ao fato de tais organismos atenderem a critérios chamados essenciais, como: representar importante papel ecológico no solo, permanecerem constantemente em contato com o substrato, ter ampla distribuição geográfica, ser de fácil manutenção em laboratório e possuir alta taxa reprodutiva em curto espaço de tempo.

1.6.1 Minhocas – Eisenia andrei

As minhocas são boas indicadoras de qualidade do solo. Atuam como "engenheiros do ecossistema" promovendo a decomposição, homogeneização e incorporação de material orgânico, ciclagem de nutrientes, estabelecimento de galerias que podem ser usadas por outros organismos e ainda que favorecem a aeração e capacidade de infiltração, drenagem e retenção de água no solo (LAVELLE; SPAIN, 2001).

Para a realização de testes ecotoxicológicos, mundialmente, são utilizadas duas espécies de minhocas, *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*, as quais possuem protocolos padronizados pela ISO (JÄNSCH; AMORIM; RÖMBKE, 2005; BUCH, 2010) para solos de regiões de clima temperado (OECD, 1984; ISO 17512, 2008) e clima tropical (IBAMA, 1990; ABNT–NBR – 15.537, 2007). Essas espécies são encontradas em áreas de clima temperado e necessitam de material orgânico para sua alimentação (BROWN et al., 2006; SISINNO et al., 2006).

Essas espécies tornaram-se modelos de invertebrados saprotróficos terrestres para avaliação de efeitos de xenobióticos adicionados ao solo (SPURGEON; WEEKS; VAN GESTEL, 2003) e representam a fauna edáfica por sua sensibilidade a produtos químicos ser semelhante a de outras espécies (OECD, 1984).

1.6.2 Colêmbolos - Folsomia candida

A grande diversidade dos colêmbolos (Collembola) permite sua distribuição em todos os biomas (COLEMAN; CROSSLEY; HENDRIX, 2004; BELLINGER; CHRISTIANSEN; JANSSENS, 2011). São considerados bons indicadores de qualidade do solo por participarem de importantes papéis como a decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes (CUTZ-POOL et al., 2007; BARETTA et al., 2008).

A espécie mais utilizada para esses testes é *Folsomia candida* e possui protocolos padronizados para realização dos bioensaios (DOMENE et al., 2011) De acordo com Fountain e Hopkin (2005) tais organismos apresentam importantes vantagens para serem usados em testes ecotoxicológicos, pois são sensíveis a presença de contaminantes, fáceis de manter criações em laboratório e tem elevada taxa de reprodução, devido essas características eles têm sido usados há mais de 40 anos.

1.7 Ecotoxicologia e legislação

Na década de 80, agências ambientais de todo o mundo, especialmente nos países da Europa e Estados Unidos, passaram a desenvolver protocolos padronizados para a realização de testes de toxicidade. Inicialmente foram padronizados testes utilizando organismos aquáticos, com o intuito de controlar a poluição e estabelecer padrões de qualidade da água. A partir desta utilização dos organismos para controlar a poluição, passou-se também a usar esses organismos para monitorar a qualidade da água em ambientes já poluídos, o chamado "biomonitoramento" (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

No Brasil o início da padronização dos bioensaios se deu em 1975 em um programa internacional para a padronização de testes de toxicidade, conjuntamente à ISO com a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) do Estado de São Paulo, quando foram desenvolvidos protocolos padrão para avaliar efeitos de substâncias químicas e misturas tóxicas sobre organismos aquáticos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

No entanto, a legislação decorrente do uso de testes ecotoxicológicos no Brasil ainda está sendo elaborada. Serão aqui citados os aspectos legais brasileiros que já estão elaborados.

A resolução 357, CONAMA de 18 de Março de 2005, refere-se à classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Esses efluentes não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alterações de comportamento, reprodução ou fisiologia de vida na biota aquática. Determina ainda que a utilização de ensaios ecotoxicológicos devido às possíveis interações entre substâncias capazes de causar danos aos seres vivos devem ser usadas para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos a diversos organismos aquáticos.

Já a resolução 420, CONAMA de 28 de Dezembro de 2009, atenta para a necessidade de prevenção da contaminação do solo visando à manutenção de sua funcionalidade e a proteção da qualidade das águas superficiais e subterrâneas. Esta resolução não faz menção direta ao uso de ensaios ecotoxicológicos, porém ela determina que devem ser adotados "Valores de Prevenção", os quais foram estabelecidos com base em ensaios de fitotoxicidade ou em avaliação de risco ecológico. E dentro desta avaliação de risco ecológico é necessário realizar análises físicas, químicas e biológicas, utilizando-se metodologias que atendam às especificações descritas em normas reconhecidas internacionalmente.

As avaliações de risco ecológico com base em testes biológicos podem incluir testes de ecotoxicidade para organismos terrestres que não possuem legislação brasileira própria, utilizando, portanto, padrões de testes estabelecidos internacionalmente como por exemplo, a ISO 11267 (ISO, 1999) que padroniza testes com organismos *Folsomia candida* ou a ISO 11268-1 (ISO, 1998) que padroniza os testes com minhocas *Eisenia andrei*.

As resoluções estabelecidas pelo CONAMA pertencem à legislação federal, permitindo assim, a formulação de leis mais restritas dentro dos estados de acordo com a necessidade de cada local, podendo estes estabelecer seus próprios limites de toxicidade. Assim, recomenda-se que os estados brasileiros, especialmente de Santa Catarina, criem políticas públicas com objetivo de estabelecer "Valores limites" de dejetos de suínos que podem ser aplicados no solo com base em ensaios de fitoxicidade ou de avaliação de risco ecológico com vistas à proteção da qualidade das águas superficiais e subterrâneas e de atender a resolução 420 do CONAMA. Isso pode ser feito por meio de estímulo à pesquisa na

área de ecotoxicologia do solo e aquática usando normas reconhecidas internacionalmente (ISO), que servirão de base para criação de normalização do uso de dejeto de suínos no Brasil.

O objetivo do estudo foi avaliar a ecotoxicidade de doses crescentes de dejeto de suínos usado como fertilizante agrícola em Argissolo Distrófico, Latossolo Vermelho, Neossolo Quartzarênico e Solo Artificial Tropical (SAT) que é utilizado como solo padrão nesses testes, por meio da avaliação de respostas agudas e crônicas e comportamentais nos organismos-testes *Eisenia andrei* e *Folsomia candida*.

Referências

ALVES, M.V.; SANTOS, J.C.P.; GOIS, D.T.; ALBERTON, J.V.; BARETTA, D. Macrofauna do solo influenciada pelo uso de fertilizantes químicos e dejetos de suínos no Oeste do estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, p. 589-598, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. **Relatório ABIPECS 2010**. Diponível em: < http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2010_pt.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2011.

ASSOCIACAO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT-NBR 15537:** Ecotoxicologia terrestre - Ecotoxicidade aguda - Método de ensaio com minhocas. Brasil, 2007. 13p.

ASSOCIAÇÃO CATARINENSE DE CRIADORES DE SUÍNOS. **Relatório Anual.** Concórdia: ACCS, 2007. 46p.

ASSOCIAÇÃO PARANAENSE DE SUNOCULTORES. **Produção mundial.** Disponível em: http://www.aps.org.br/mercado-suino/prod-mundial.html>. Acesso em: 10 nov. 2011.

BARETTA, D. Atributos biológicos do solo em diferentes agroecossistemas na região Sul do Brasil. 2003. 123p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, SC, 2003.

BARETTA, D.; FERREIRA, C.S.; SOUSA, J.P.; CARDOSO, E.J.B.N. Colêmbolos (Hexapoda: Collembola) como bioindicadores de qualidade do solo em áreas com *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 2693-2699, 2008.

- BELLINGER, P.F.; CHRISTIANSEN, K.A.; JANSSENS, F. Checklist of the Collembola of the world. 1996-2011. Disponível em: < http://www.collembola.org >. Acesso em: 3 dez. 2011.
- BERTOLETTI, E. Toxicidade e Concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. **Revista Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 43, p. 271-277, 1990.
- BRASIL projeções do agronegócio 2010/2011 a 2020/2021. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%20DO%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%202_0.pdf. Acesso em: 10 nov. 2011.
- BRASIL. Resolução nº 375/2006, de 29/8/2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. **CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE**. Disponível em:
- http://www.mma.gov.br/port/conama/legiano/>. Acesso em: 12 nov. 2011.
- BRASIL. Resolução nº 420/2009, de 28/12/2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE**. Disponível em:
- http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620. Acesso em: 12 nov. 2011.
- BRENDOLAN, R.A. **Utilização do microcrustáceo** *Kalliapseudes schubartii* **em testes de ecotoxicologia.** 2004. 93p. Dissertação (Mestrado em Biologia Marinha) Instituto de Biologia, Niterói, 2004.
- BROWN, G.G.; OLIVEIRA, L.J.; KORASAKI, V.; SANTOS, A.A. **Biodiversidade como Bioindicadora da Qualidade do Solo no Paraná**. [s.l.]: EMBRAPA, 2006. p.165-172.
- BUCH, A.C. *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) e *Eisenia andrei*, Bouché 1972, como bioindicadoras de solos contaminados por agrotóxicos. 2010. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- CANTELLI, K.B. **Toxicidade aguda de carbofurano e carbendanzim a minhocas em solo natural.** 2011. 43p. Dissertação (Mestrado em Química e Biologia do Solo e Nutrição e Plantas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- CERETTA, C.A.; LORENSIN, F.; BRUNETTO, G.; GIROTTO, E. GATIBONI, L.C.; LOURENZI, C.R.; TIECHER, T.L.; CONTI, ALESSANDRO DE.; TRENTINI, G.; MIOTTO, A. Frações de fósforo no solo após sucessivas aplicações de dejeto de suínos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 6, p. 593 602, jun. 2010.
- CHAPMAN, P.M. Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. **Marine Pollution Bulletin**, Vancouver, BC, v. 44, p. 7–15, 2002.

- COLEMAN, D.C.; CROSSLEY, D.A.; HENDRIX, P.F. Fundamentals of soil ecology, 2nd ed. Georgia :Elsevier, 2004. 502p.
- CORRÊA, J.C.; BARILLI, J.; REBELLATTO, A.; VEIGA, M. **Aplicações de dejetos de suínos e as propriedades do solo**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. p. 1-18.
- CUTZ-POOL, L.Q.; PALACIOS-VARGAS, J.G.; CASTAÑO-MENESES, G.; GARCÍA-CALDERÓN, N.E. Edaphic Collembola from two agroecosystems with contrasting irrigation type in Hidalgo State, Mexico. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 36, p. 46 52, 2007.
- DOMENE, X.; CHELINO, S.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; ALCAÑIZ,J. M.; ANDRÉS, P.; RÖMBKE, J.; SOUSA, P. Influence of soil properties on the performance of *Folsomia candida*: immplications for its use in soil ecotoxicology testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 30, p. 1 9, 2011.
- DONADIO, A.P.; BOGA, P.B. F. Questões ambientais frente ao cenário econômico da política de produção animal em escala industrial. **Revista dos Tribunais**, São Paulo, p.27-29, 2005.
- EMBRAPA SUÍNOS E AVES. A suinocultura e a questão ambiental. Disponível em: www.cnpsa.com.br. Acesso em: 22 out. 2011.
- FNP CONSULTORIA & COMËRCIO. **Agrianual** 2005:anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2005, 500p.
- FOUNTAIN, M.T.; HOPKIN, S. P. *Folsomia candida* (Collembola): A "Standard" Soil Arthropod. **Annual Review of Entomology**, United Kingdom, v.50, p.201–22, 2005.
- GAYA J.P. Indicadores biológicos no solo como uma alternativa para o uso racional de dejetos de suínos como adubo orgânico. 2004. 104p. Dissertação (Mestrado em agroecossistemas) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- GONÇALVES JUNIOR, A.C.; LINDINO, C.A.; ROSA, M.F.; BARICCATTI, R.; GOMES, G.D. Remoção de metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo em biofertilizante suíno utilizando macrófita aquática (*Eichornia crassipes*) como bioindicador. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 9-14, 2008.
- GRÄBER, I.; HANSEN, J.F.; OLESEN, S.E.; PETERSEN, J.; OSTERGAARD, H.S.; KROGH, L. Accumulation of copper and zinc en Danish agriculturalsoils in intensive pig production areas. **Danish Journal of Geography**, Copenhagen, n. 105, p. 15-22, 2005.
- GUIVANT, J.; MIRANDA, C. Desafios para o desenvolvimento sustentável da suinocultura. Chapecó: Argos, 2004. p. 322.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS RENOVAVEIS. Manual de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químicos. [s.l.] 1990. 1-32p.

- ISO International Organization for Standardization. **ISO-11268-1:** Soil quality Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) . pt 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate. Genève, Switzerland, 1993. 39p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO-11268-2**: Soil quality Effects of pollutants on earth-worms (*Eisenia fetida*). pt 2: Method for the determination of effects on reproduction. Genève, Switzerland, 1998. 36p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO-11267**: Soil Quality Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. Genève, Switzerland, 1999. 20p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO 17512-1**: Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior -- pt 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Genève, Switzerland, 2008. 25p.
- JÄNSCH, S.; AMORIM, M.J.; RÖMBKE, J. Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. **Environmental Reviews**, Ottawa, v.13, p. 51–83, 2005.
- KAPANEN, A.; ITÄVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Finland, v. 49, p.1-16, 2001.
- KIEHL, J.E. Fertilizantes orgânicos. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492 p.
- KONZEN, E. A. Fertilização de lavoura e pastagem com dejetos de suínos e cama de aves. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003. 10p.
- KONZEN, E.A.; PEREIRA FILHO, I.A.; BAHIA FILHO, A.F.C.; PEREIRA, F.A. **Manejo do esterco líquido de suínos e sua utilização na adubação do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 37p.
- LAVELLE, P.; SPAIN, A. **Soil ecology**. Dordrecht :Kluwer Academic Publishers, 2001. 654p.
- LEJON, D.P.H.; SEBASTIA, J.; LAMY, I.; CHAUSSOD, R.; RANJARD, L. Relationships between soil organic status and microbial community density and genetic structure in two agricultural soils submitted to various types of organic management. **Microbial Ecology**, Dijom Cedex, v. 53, p. 650-663, 2007.
- LIMA, C.A. Avaliação de risco ambiental como ferramenta para o descomissionamento de uma indústria de metalurgia de Zinco. 2009. 238p. Tese (Doutorado em Ciências) Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
- MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO–FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta para o biomonitoramento de ecossistems aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 355-381, 2008.

- MARTINES, A.M. **Avaliação ambiental e agronômica do uso de lodo de curtume no solo.** 2009. 84p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- MATTIAS, J.L. Metais pesados em solos sob aplicação de dejetos líquidos de suínos em duas microbacias hidrográficas de Santa Catarina. 2006. 164p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- MENEZES, J.F.S.; ALVARENGA, R.C.; ANDRADE, C.L.T.; KONZEN, E.A.; PIMENTA, F.F. Aproveitamento de resíduos orgânicos para a produção de grãos em sistema de plantio direto e avaliação do impacto ambiental. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v.9, n.1, p.30-35, 2003.
- MIELE, M.; MACHADO, J.S. Levantamento sistemático da produção e abate de suínos Isps: metodologia abipecs-embrapa de previsão e acompanhamento da suinocultura brasileira. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007. 25p.
- OECD Organization for Economic Co-operation and Development Earthworm acute toxicity test. Paris, 1984. 9p. (OECD Guideline for Testing of Chemicals, 207)
- OLIVEIRA, P.A.V. **Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos.** EMBRAPA-CNPSA, 1993. 188p.
- OLIVEIRA P.A.V. **Unidade de compostagem para o tratamento dos dejetos de suínos**. Embrapa Suínos e Aves, 2006. 35 p.
- OLIVEIRA, V.; FIALHO, E.T.; LIMA, J.A.F.; FREITAS, R.T.F.; SOUSA, R.V.; BERTECHINI, A.G. Desempenho e composição corporal de suínos alimentados com rações com baixos teores de proteína bruta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.41, n.12, p.1775-1780, dez. 2006.
- PALHARES, J.C. Estimando o consumo de água de suínos, aves e bovinos em uma propriedade. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2005. 4p.
- RACHED, R.Z. Caracterização de pequenas criações de suínos no estado de São Paulo. 2009. 149p. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) Instituto Biológico, São Paulo, 2009.
- RÖMBKE, J.; BAUER, C.; MARSCHNER, A. Hazard Assessment of Chemicals in Soil. Proposed Ecotoxicological Test Strategy. **ESPR Environmental Science and Pollution Research**, [s.l], v.3, p. 78-82, 1996.
- RÖRIG, L.R. Usos múltiplos e qualidade das águas da bacia do baixo Itajaí-Açu SC: Elementos para um gerenciamento integrado. 2005. 295p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.
- SAAB, M.S.B.L DEM.; NEVES, M.F.; CLÁUDIO, L.; DEL G. O desafio da coordenação e seus impactos sobre a competitividade de cadeias e sistemas agroindustriais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 38, p. 412–422, 2009.

- SANTOS, R.C. **Aplicação de dejetos líquidos de suínos em solos**: aspectos biológicos e químicos do percolado. 2010. 91p. Dissertação (Mestre em Ciência do Solo) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- SCHERER, E.E.; BALDISSERA, I.T.; NESI, C.N. Propriedades químicas de um Latossolo Vermelho sob plantio direto e adubação com esterco de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 123-131, 2007.
- SCHERER, E.E.; NESI, C.N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.1375-1383, 2010.
- SEGANFREDO, M.A. **Dejetos Animais A dupla face benefícios e prejuízos**. Disponível em: < http://www.cnpsa.embrapa.br >. Acesso em: 10 out. 2011.
- SISINNO, C.L.S.; BULUS, M.R.M.; RIZZO, A. C.; MOREIRA,J.C. Ensaio de comportamento com minhocas (*Eisenia fetida*) para avaliação de áreas contaminadas: Resultados preliminares para contaminação por hidrocarbonetos. **Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology,** Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p. 137-140, 2006.
- SPURGEON, D. J.; WEEKS, J. M.; VAN GESTEL, C. A. M. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology. **Pedobiologia**, Jena, v.47, p. 588–606, 2003.
- STÜTZER, G.; GUIMARÃES, G. Aspectos toxicológicos e ambientais relacionados com o uso de produtos fitossanitários. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O que os Engenheiros Agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. Viçosa: UFV, 2003. p. 69-84.
- USDA United States Departament of Agriculture. **Foreign Agricultural Service**. Disponível em: < http://www.fas.usda.gov >. Acesso em: 26 out. 2011.
- YEARCLEY, R.B.; LAZORCHAK, J.M.; GAST, L.C. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v.15, n.9, p.1532–1537, 1996.
- ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI E. **Ecotoxicologia aquática:** princípios e aplicações. São Carlos: Rima, 2006. p.1-12.

2 AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE DEJETOS DE SUÍNOS EM SOLOS NATURAIS DE SANTA CATARINA NA SOBREVIVÊNCIA, REPRODUÇÃO E COMPORTAMENTO DE FUGA DE *Eisenia andrei*

Resumo

A suinocultura é uma importante alternativa para incremento da renda para as famílias no Sul do Brasil, especialmente, na região Oeste de Santa Catarina, porém o atual modelo de produção adotado na suinocultura gera um grande volume de dejeto em pequena área territorial, como medida de descarte e é usado como fertilizante agrícola, podendo gerar poluição ambiental. Para esse estudo objetivouse avaliar, por meio de testes ecotoxicológicos, o efeito de doses crescentes de dejeto de suínos aplicadas em solos do estado de Santa Catarina e em Solo Artificial Tropical sobre a sobrevivência, reprodução e comportamento de fuga de minhocas Eisenia andrei. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com as doses D0:0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ -1; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹ aplicadas em Argissolo Vermelho Eutrófico, Latossolo Vermelho Distrófico, Neossolo Quartzarênico e Solo Artificial Tropical. Para a condução dos testes utilizou-se metodologias padronizadas internacionalmente. Os resultados mostraram que no Neossolo o dejeto causou letalidade de 100% indivíduos nas doses D3 e D4. Para os testes de toxicidade crônica D4 reduziu a capacidade de reprodução de minhocas em Argissolo, assim como todas as doses testadas em Neossolo tiveram efeitos negativos sobre os aspectos reprodutivos de Eisenia andrei enfatizando a importância de realizar estudos com solos naturais e organismos da fauna edáfica como indicadores de toxicidade do dejeto de suíno.

Palavras-chave: Ecotoxicologia; Minhocas; Argissolo Vermelho Eutrófico; Latossolo Vermelho Distrófico; Neossolo Quartzarênico

Abstract

Swine production is an important alternative to increasing the income for families in Southern Brazil, especially in western Santa Catarina, but the current production model adopted in swine production generates a large volume of waste in a small area. As a measure of disposal it is used as agricultural fertilizer, which can generate pollution. This study aimed to evaluate, by means of ecotoxicological tests, the effects of increasing doses of swine slurry applied to natural soils from the state of Santa Catarina and to Tropical Artificial Soil on the earthworm *Eisenia andrei*. The experimental design was completely randomized with doses D0:0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ and D4: 100 m³ ha⁻¹ applied on Ultisols, Oxisol, Entisol and on tropical artificial soil. Internationally standardized methodologies were use. The slurry caused 100% lethality of individuals at doses D3 and D4 in the Entisol. For chronic toxicity tests D4 reduced the reproductive capacity of earthworms in Utisol, as well as, all doses tested in Entisol had negative effects on reproductive aspects of *Eisenia andrei*, emphasizing the importance of studies in natural soil, using soil fauna as indicator of toxicity for pig slurry.

Keywords: Ecotoxicology; Earthworm; Ultisols; Oxisol; Entisols

2.1 Introdução

O atual modelo de produção da suinocultura no Sul do Brasil, sistema intensivo com alta concentração de animais em pequena área territorial, coloca o país em posição de destaque mundial, principalmente, o Estado de Santa Catarina que detém 0,7% do mercado mundial de carne suína (ABIPECS, 2011). Essa expansão na produção suinícola agrega renda às propriedades que têm como principal característica a pequena área territorial e mão de obra familiar. Por outro lado, a intensificação desta produção gera um grande volume de dejeto assim como dificuldade com o manejo deste dejeto.

A alternativa de menor custo e maior benefício, usada pelos produtores para descartar o dejeto de suíno produzido na propriedade é a aplicação deste no solo como fertilizante agrícola, tanto para culturas de grãos como para pastagens. Quando bem utilizado, esse material pode reduzir os custos da adubação mineral reduzindo os custos da produção vegetal na propriedade.

Já o uso inadequado deste dejeto pode resultar em problemas ambientais e a intensidade desse impacto é diretamente dependente das doses e da composição do dejeto utilizado. A elevada concentração de alguns nutrientes como N e P e metais como Cu e Zn adicionada ao solo através deste material pode causar um desequilíbrio químico, físico e biológico do solo (CORRÊA et al., 2011). A perda de nutrientes por lixiviação pode causar eutrofização de recursos água, acúmulo de metais pesados em camadas subsuperfíciais do solo e ainda elevada perda de N por volatilização (CORRÊA et al., 2011). De acordo com a *Food and Agriculture Organization/International Fertilizer Industry Association* (FAO/IFA, 2006) essas perdas por volatilização na forma de NH₃ são de aproximadamente 23% para dejeto animal adicionado ao solo e esses valores podem ser ainda maiores em condições tropicais variando entre 40 e 60%.

Deve ser destacado que a legislação vigente no estado de Santa Catarina para determinar a dose de dejeto de suínos que pode ser aplicada anualmente ao solo não consideram tipo de solo, teor de argila, de óxidos de ferro, valores de pH, profundidade do solo, cultura que vai ser adubada e nem produtividade desta (FUNDAÇÃO DE MEIO AMBIENTE - FATMA, 2011) e na maioria das regulamentações dos limites de aplicação de resíduos orgânicos no solo avaliações de ecotoxicidade são negligenciadas (MATOS-MOREIRA et al., 2011).

Tendo-se conhecimento do provável impacto ambiental que o uso inadequado e contínuo do dejeto na fertilização de culturas pode causar, mais estudos devem ser conduzidos no sentido de mensurar as alterações causadas por essa prática. Embora a literatura internacional tenha um aporte maior de estudos, no Brasil esses ainda são incipientes (SCHERER; NESI; MASSOTTI, 2010) sendo necessário avaliar o potencial toxicológico desse material em diferentes tipos de solos. Nesse contexto, mais estudos devem ser conduzidos com o intuito de verificar se a utilização de dejeto de suínos pode ou não causar dano ambiental com definições claras da capacidade de suporte dos diferentes solos, assim como as possíveis alterações causadas pelo seu uso continuado nas características biológicas do ambiente em questão.

Para avaliar a influência sobre a fauna edáfica uma ferramenta que pode ser utilizada é a ecotoxicologia, que tem o objetivo de quantificar e de qualificar os efeitos de diferentes agentes químicos sobre organismos, populações e comunidades, por meio de estudos do ambiente natural e interações de substâncias tóxicas com organismos, baseando-se em princípios e métodos científicos (CARDOSO; ALVES, 2011).

A condução dos testes de ecotoxicidade é baseada em metodologias padronizadas mundialmente como OECD (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) e ISO (Organização Internacional para Padronização). Esses protocolos utilizam como organismos testes, entre outros, as minhocas (*Eisenia andrei*), as quais são consideradas bons indicadores de qualidade do ambiente A espécie *E. andrei* é uma das espécies padrão utilizadas nos testes, a qual é sensível a presença de substâncias contaminantes (ISO, 1998), como por exemplo resíduos de animais aplicados no solo (DOMENE; ALCAÑIZ; ANDRÉS, 2007).

Trabalhos utilizando a ecotoxicologia têm sido desenvolvidos para avaliar toxicidade de resíduos orgânicos (DOMENE et al., 2008; MOREIRA; SOUSA e CANHOTO, 2008; NATAL-DA-LUZ et al., 2009), como por exemplo, avaliação do efeito de lodo da depuração de compostagem de resíduos agrícolas e dejeto de suínos no comportamento de *Folsomia candida* (DOMENE; ALCAÑIZ e ANDRÉS, 2007). Efeitos de solos de áreas com derramamento de óleo no comportamento de *E. andrei* (SISINNO et al., 2006), efeitos de resíduos da fabricação de papel, lodo

urbano tratado e não tratado e cinza da incineração do lodo urbano no desenvolvimento de *F. candida* (CROUAU, GISCLARD e PEROTTI, 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de testes ecotoxicológicos padronizados, o efeito de doses crescentes de dejeto de suínos em solos naturais (Argissolo Vermelho Eutrófico, Latossolo Vermelho Distrófico, Neossolo Quartzarênico) e em um solo artificial (Solo Artificial Tropical -SAT) sobre alterações comportamentais, efeitos crônicos e agudos de minhocas da espécie *Eisenia andrei*.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

Solos

Os solos utilizados para os testes ecotoxicológicos foram coletados em áreas de mata sem histórico de intervenção e uso humano, sendo Argissolo Vermelho Eutrófico, coletado na Linha Cascavel, Latossolo Vermelho Distrófico, coletado na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), ambos no município de Chapecó, SC, e Neossolo Quartzarênico coletado na Fazenda Paredão Vermelho na cidade de Piracicaba, SP. Todos os solos foram coletados na camada de 0 - 0,20 m de profundidade. Os solos foram secos em estufa a 65 °C e tamisados em peneiras de 2 mm, para separação de resíduos vegetais e agregados de solo. Os parâmetros físico-químicos dos solos estão apresentados na Tabela 2.1.

O substrato utilizado como solo padrão nos testes ecotoxicológicos é uma mistura de 70% de areia industrial (fina), 20% de argila caulinítica, e 10% de turfa (moída e seca) (OECD, 1984). No entanto para esse estudo foi utilizada uma mistura com as mesmas proporções de areia e argila caulinítica, mas a turfa foi substituída por casca de coco (seca e peineirada). Essa mistura é conhecida como Solo Artificial Tropical (SAT) (GARCIA, 2004). Para todos os testes conduzidos o pH do SAT e dos solos naturais foram corrigidos para 6,0 ± 0,5 com adição de CaCO₃ (Figura 2.1) e a umidade corrigida para 60% da máxima capacidade de retenção água de cada solo, no início do teste (ISO, 2003).

Tabela 2.1 – Parâmetros físico-químicos dos solos naturais

	Argissolo Vermelho distrófico [*]	Latossolo Vermelho eutrófico [*]	Neossolo Quartzarênico [*]
Argila (%)	52	50	8
pH (CaCl ₂)	4,49	4,13	4,8
M.O. (g dm ³)	4,5	3,5	1,1
CTC pH 7,0	18,07	16,74	3,84
Ca (cmolc dm ³)	9,8	3,5	0,7
K (mg dm ³)	381,4	84,5	0,1
Mg (cmolc dm ³)	2,4	0,8	0,2
H+ AI (cmolc dm ³)	4,89	12,26	2,8

^{*} Segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2006)

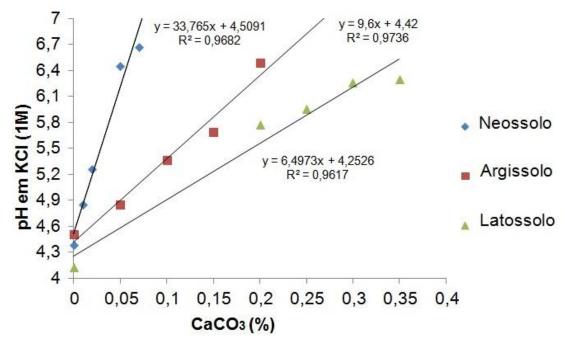


Figura 2.1 – Curva para correção de pH com CaCO₃ para os três solos naturais

Dejeto de suínos

O dejeto utilizado para a realização dos testes foi coletado no município de Xaxim, SC. A propriedade escolhida para a coleta não utiliza sistema de lâmina de água nas baias, o que diminui o volume de água nos dejetos. Esta é integrada de

uma das maiores indústrias de abate e processamento de carne suína no Brasil. O dejeto foi coletado diretamente da baia e passou por um processo de estabilização por 120 dias como recomendado por Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFRS/SC, 2004).

A fase de criação escolhida foi de crescimento (animais com 8 a 25 kg de peso corporal aproximadamente) que se caracteriza por ser uma fase com elevado fornecimento de Zn e Cu na ração dos animais e também é quando ocorre a maior incidência de distúrbios gastrointestinais, provocados pela mudança de dieta líquida para dieta sólida, o que favorece a perda de nutrientes da alimentação através das excretas. Os parâmetros físico-químicos dos dejetos estão apresentados na Tabela 2.2, metodologias de análise de acordo com RAIJ et al. (2001).

As doses de dejeto de suínos foram calculadas baseando-se nas recomendações da Instrução Normativa número 11 (FATMA, 2000) para uso de dejeto como fertilizante agrícola, que recomenda a aplicação máxima de 50 m³ de dejeto de suíno ha⁻¹ ano⁻¹. A partir dessa recomendação máxima as doses utilizadas foram então 0, 25, 50, 75 e 100 m³ ha⁻¹ de dejeto de suíno, testadas nos quatro solos avaliados.

Tabela 2.2 – Parâmetros físico-químicos do dejeto de suíno da fase de crescimento com umidade natural

Determinações	Valores	
pH (CaCl ₂)	7,3	
Umidade (%)	74,7	
C total (%)	9,48	
C Orgânico (%)	7,95	
N total (%)	0,73	
P total (%)	1,26	
K total (%)	0,42	
Relação C/N total	13:1	
Relação C Orgânico/N total	11:1	
Cobre (mg/kg)	164	
Zinco (mg/kg)	367	
Ferro (mg/kg)	4809	

Tratamentos

Testes prévios foram realizados apenas utilizando os solos naturais e comparados com solo artificial tropical, para os bioensaios de letalidade e de reprodução, com o objetivo de avaliar a capacidade dos organismos em se desenvolver no solo natural e qualquer alteração que pudesse ser causada pelos solos naturais e não pela aplicação de dejeto de suínos.

Os tratamentos consistiram em combinações dos quatro diferentes solos com as cinco doses de dejeto de suínos. Solos, S1: Solo Artificial Tropical; S2: Argissolo Vermelho Eutrófico; S3: Latossolo Vermelho Distrófico e S4: Neossolo Quartzarênico. As cinco doses avaliadas foram: D0: 0 m³ de dejeto de suínos ha⁻¹; D1: 25 m³ de dejeto de suínos ha⁻¹; D2: 50 m³ de dejeto de suínos ha⁻¹; D3: 75 m³ de dejeto de suínos ha⁻¹ e D4: 100 m³ de dejeto de suínos ha⁻¹.

A partir dos testes realizados com as doses acima citadas estabeleceram-se novas doses, para os testes de mortalidade para o Neossolo Quartzarênico, pois as doses de 75 e 100 m³ ha⁻¹, causaram 100 % de mortalidade, sendo as novas doses testadas de 0 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 30 m³ ha⁻¹, 45 m³ ha⁻¹, 60 m³ ha⁻¹ e 75 m³ ha⁻¹.

Para os testes de efeito crônico e de comportamento, diferentes doses foram usadas para o Neossolo Quartzarênico sempre abaixo da menor dose com efeito significativo (LOEC) do teste de toxicidade aguda. As novas doses foram de doses 0 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 30 m³ ha⁻¹, 45 m³ ha⁻¹ e 60 m³ ha⁻¹.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições e com cinco doses de dejeto para cada um dos solos avaliados. Todos os bioensaios foram realizados três vezes, duas em Piracicaba, SP (Laboratório de Microbiologia do Solo da ESALQ/USP) e uma em Chapecó, SC (Laboratório de Solos CEO/UDESC), com mesmo delianeamento, doses e com cinco repetições. Isso não é exigência da ISO, mas como o comportamento nos três bioensaios foi similar, reforça ainda mais os resultados aqui apresentados. Entretanto, optou-se por apresentar apenas os dados referentes a um dos bioensaios já que foram similares, o que teve menor variabilidade. Os demais ensaios estão apresentados nos Apêndices.

Organismos para testes

Os organismos utilizados nos testes foram obtidos d criação já estabelecida no Laboratório de Microbiologia do Solo ESALQ/USP. A criação é mantida de acordo com diretrizes estabelecidas pela ISO 11268-2 (1998), com adaptações para a epécie *E. andrei*.

Os organismos são mantidos em caixas plásticas com volume de 9 L, nas quais adiciona-se uma mistura de duas partes de esterco seco (equino) peneirado (2 mm), uma parte de pó de fibra de coco (Amafibra® - Golden Mix, tipo 80) e, 10% do peso dos dois primeiros de areia fina (granulometria 90/100). Essa mistura tem, quando necessário, o pH corrigido para faixa entre 6 e 7 com adição de CaCO₃ do mesmo modo que é feito para os solos naturais (Figura 2.1)

Para eliminar possíveis organismos que estejam presentes no substrato de criação das minhocas, essa mistura foi submetida a um processo chamado desfaunagem, onde o material é congelado por 48 horas e mantido dois dias em temperatura ambiente, repetindo esse ciclo três vezes, totalizando 12 dias.

Cada caixa plástica recebe um volume de 1 kg do substrato seco ao qual é acrescentado 2 L de água deionizada, o substrato é misturado para ter umedecimento homogêneo e são mantidos entre 100 e 150 indivíduos adultos por caixa As minhocas foram alimentadas semanalmente com uma mistura cozida de aveia em flocos grossos e água deionizada na proporção 2:1 (v/v). O ambiente de criação das minhocas tem temperatura controlada 20 ± 2 °C, assim como fotoperíodo de 12 h.

As minhocas usadas nos testes devem obedecer alguns critérios, como estar adultas (cliteladas), estrutura similar a um anel de coloração mais clara a qual possibilita a geração de casulos, ter peso corporal entre 250 mg e 600 mg e idade entre dois meses e um ano de acordo com ISO 11.268-2 (1998).

Teste de toxicidade aguda – letalidade

A avaliação de letalidade de *E. andrei* seguiu as recomendação da OECD número 207 (OECD, 1984). Para tanto, em um recipiente plástico foram adicionados 690 g de solo com pH e umidade corrigidos e adicionadas as doses de dejeto de suínos, resultando em uma camada de solo entre 5 e 7 cm de altura.

Cada uma das unidades experimentais recebeu 10 indivíduos clitelados. Esses indivíduos ficaram 14 dias nesse ambiente e após esse período foi avaliado o número de indivíduos que sobreviveram.

Teste de toxicidade crônica – reprodução

Para o teste de efeito crônico em *E. andrei* as recomendações seguidas foram de acordo com ISO 11268-2 (ISO, 1998). Da mesma maneira que para o teste de toxicidade aguda, 690 g de solo e as respectivas doses foram acondicionados em um recipiente plástico, formando uma camada de 5 a 7 cm de solo. Em cada uma das unidades experimentais inseriu-se 10 indíviduos clitelados, com peso entre 250 e 600 mg. Nesse teste os organismos permaneceram por 28 dias, quando então foram retirados, permanecendo somente o solo juntamente com casúlos e juvenis no recipiente plástico. Após 56 dias do início do teste, 28 após a retirada dos adultos, foi contabilizado o número de juvenis em cada unidade experimental. Para manutenção do teste foi fornecido, semanalmente, esterco de equino (seco, peneirado e desfaunado) na quantidade de 5 g por recipiente e corrigida a umidade dos solos por diferença de peso dos recipientes entre as semanas.

Avaliação de comportamento – fuga

Para esse teste as recomendações seguidas foram da ISO 17512-1 (2008). Caixas plásticas com dimensões de 23,3 x 16,7 cm área, e 7,7 cm de altura foram divididas ao meio com uma divisória, cada lado da caixa recebeu 900 g de solo com pH e umidade corrigidos. Um dos lados da caixa foi adicionado solo sem adição de dejeto, no outro lado da caixa o solo adicionado estava misturado com as respectivas doses de dejeto. A divisória foi então retirada e sobre a linha de separação formada 10 indivíduos clitelados e com peso entre 250 e 600 mg foram colocados.

As caixas com tampas perfuradas permaneceram no escuro, para não ter influência da luminosidade no comportamento, mantidas em sala com temperatura controlada 20 ± 2 °C. Esse teste teve a duração de 48 h e os indivíduos não receberam alimentação.

Passadas as 48 h a divisória foi colocada no meio da caixa dividindo em duas seções (solo tratado e solo não tratado) e foi contabilizado o número de indivíduos em cada seção da caixa. Quando as minhocas se encontravam no sob a

divisória contabilizou-se meio indivíduos para cada lado do recipiente. Os valores foram expressos em percentagem de fuga, ou seja, indivíduos que evitaram o solo tratado.

Validação dos testes

A validação dos testes foi realizada de acordo com diretrizes a OECD e ISO que determinam alguns índices de mortalidade, reprodução e comportamento dos indivíduos.

De acordo com OECD 207 (OECD, 1984) nos testes de letalidade (toxicidade aguda) a taxa de letalidade das minhocas adultas não pode exceder 10% do total de indivíduos nos controles. Esse mesmo critério de validação é usado na ISO 11268-2 (ISO, 1998), para os testes de reprodução (toxicidade crônica), além disso, o número de juvenis no controle deve ser > 30 e o coeficiente de variação (CV) dos testes deve ser < 30%.

Para os testes de comportamento, a ISO 17512-1 (ISO, 2008) considera os testes válidos se a taxa de mortalidade for de até 10% e se a distribuição dos organismos nos controles estiver dentro da faixa de 40 a 60%, comprovando que não há preferência significativa por um dos lados do recipiente do teste.

Análise dos dados

Os dados de reprodução e letalidade foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Dunnet por meio do programa Software SAS 9.2 (SAS Institute, 1999).

Para os dados obtidos nas avaliações de biomassa corporal dos individuos utilizou-se transformação de dados, log_{10} x+10, para que fosse possível obter homogeneidade de variâncias e eliminar dados com valor negativo referentes a ganhos de massa corporal dos organismos.

Os valores de LOEC e NOEC foram obtidos a partir do teste de comparação de médias. Valores de EC_{50} do teste de fuga e LC_{50} no teste de letalidade foram feitas no Software PriProbit® 1.63 (SAKUMA, 1998). A partir de análises de regressão não linear que foram desenvolvidas com o programa STATISTICA® 7.0 (STATSOFT, 2004) obtiveram-se valores de EC_{50} dos testes de toxicidade crônica.

O número de indivíduos no teste de comportamento de fuga foram analisados através do "Fisher Exact Test" de acordo com Agresti (1992). Essa avaliação estatística consiste em comparar o comportamento observado com um comportamento esperado, que é a ausência de fuga, distribuição igual do organismos nas duas seções do recipiente (hipótese nula).

2.2.2 Resultados

Toxicidade aguda – letalidade

As médias de sobrevivência de *E. andrei* para solo artificial tropical (S1) (Figura 2.2) (APÊNDICES A e B), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) (Figura 2.3) (APÊNDICES C e D), e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) (Figura 2.4) (APÊNDICES E e F) não foram diferentes estatisticamente quando dá aplicação de doses de dejeto (D1, D2, D3 e D4) com dos seus respectivos controles (D0).

Quando feita a comparação da dose zero (D0) dos solos naturais (S2, S3 e S4) com o solo artificial tropical (S1) também não houve diferença (Figura 2.5) (APÊNDICES G e H).

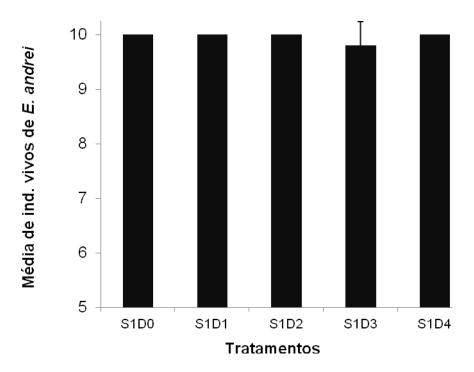


Figura 2.2 – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5)

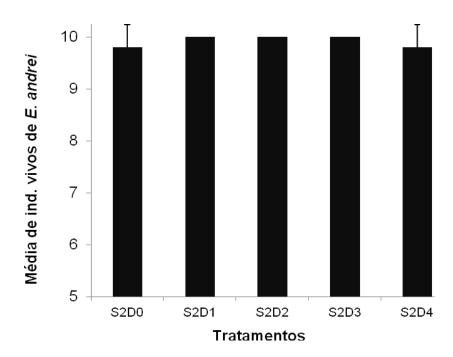


Figura 2.3 – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (★) Desvio padrão (n = 5)

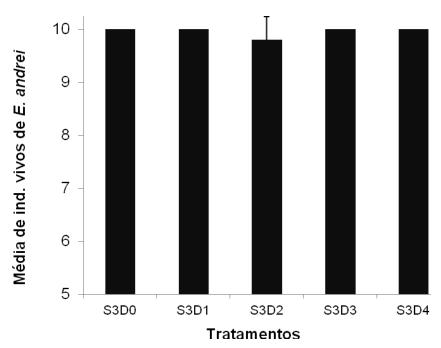


Figura 2.4 – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)

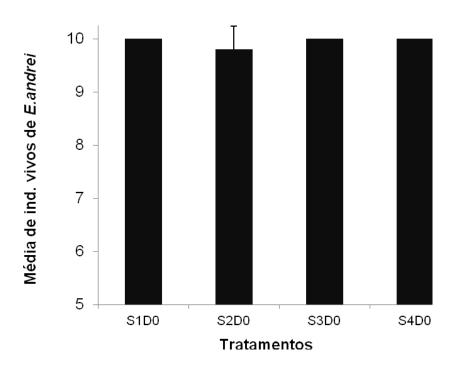


Figura 2.5 – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4). (T) Desvio padrão (n = 5)

As doses 75 e 100 m³ ha⁻¹ propostas para os testes ecotoxicológicos nesse trabalho causaram 100% de mortalidade dos indivíduos quando aplicadas ao Neossolo Quartzarêrico. A partir disso foram testadas além da dose de 75 m³ ha⁻¹ doses menores de dejeto de suíno. Para estes testes foram escolhidas as doses de 0 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 30 m³ ha⁻¹, 45 m³ ha⁻¹, 60 m³ ha⁻¹ e 75 m³ ha⁻¹.

Na comparação de médias, feita para S4, as doses D4 e D5 foram significativamente diferentes da dose zero (D0) causando mortalidade nos indivíduos (Figura 2.6) (APÊNDICES I e J).

A partir dos dados obtidos para Neossolo estimou-se a concentração letal para 50% dos organismos (LC_{50}) que foi igual a 61,24 m³ ha⁻¹ (Figura 2.7). A LOEC foi igual 45 m³ ha⁻¹ e a NOEC foi de 30 m³ ha⁻¹.

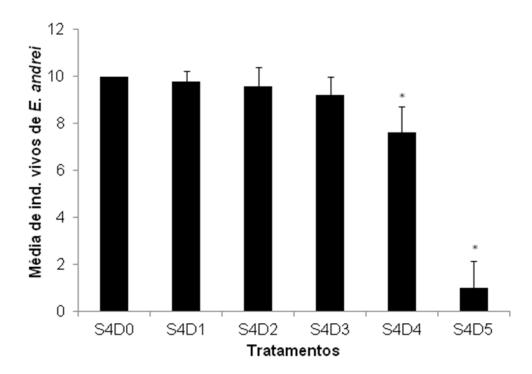


Figura 2.6 – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹; D4: 60 m³ ha⁻¹ e D5: 75 m³ ha⁻¹). * Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

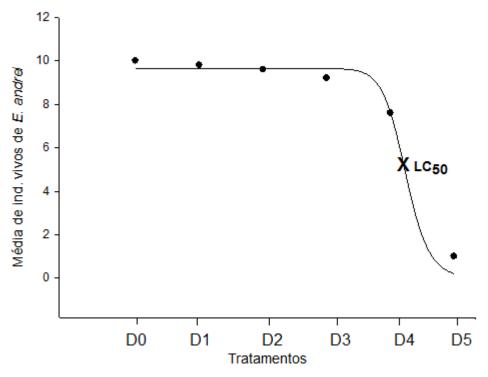


Figura 2.7 – Concentração letal (LC₅₀) calculada para a teste de letalidade de *Eisenia andrei* em Neossolo Quartzarênico contaminado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹; D4: 60 m³ ha⁻¹ e D5: 75 m³ ha⁻¹)

Toxicidade crônica – reprodução

A reprodução de *E. andrei* aumentou no Neossolo Quartzarênico (S4) quando comparado com solo artificial tropical (S1). Para os demais solos não houve diferença significativa entre as doses testadas (Figura 2.8) (APÊNDICES K e L).

No tratamento com solo artificial tropical foi possível observar um comportamento de decréscimo no número de juvenis com o aumento da dose de dejeto de suínos, comportamento que ocorreu a partir da dose de 25 m³ ha⁻¹ (D1), pois essa apresentou aumento no número de juvenis em relação a D0 (Figura 2.9), sendo essa dose, assim como a dose de 50 m³ ha⁻¹ (D2), diferente da D0 (APÊNDICES M e N).

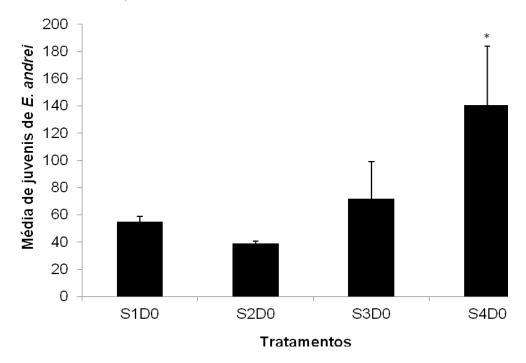


Figura 2.8 – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem aplicação de dejeto de suínos (Dose zero - D0). *Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)

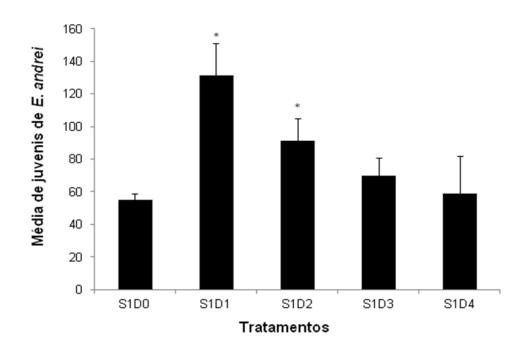


Figura 2.9 – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). * Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)

Foi possível perceber diferença no número médio de indivíduos no tratamento S2 que apresentou aumento no número de juvenis com aumento da dose de dejeto. As doses de 25, 50 e 100 m³ ha⁻¹ para o Argissolo Vermelho Eutrófico (S2D2, S2D3 e S2D4) apresentaram diferença significativa no teste de Dunnett (p<0,05) com aumento no número de juvenis gerados (Figura 2.10) (APÊNDICES O e P).

As doses testadas para o Latossolo Vermelho Distrófico não diferiram da D0 (Figura 2.11) (APÊNDICES Q e R), no entanto esse solo apresentou maior variabilidade dos dados com coeficiente de variação igual 35%. Essa variação ocorreu apenas dentro deste solo, já para o teste, incluindo todos os solos, o CV foi igual 10,7%.

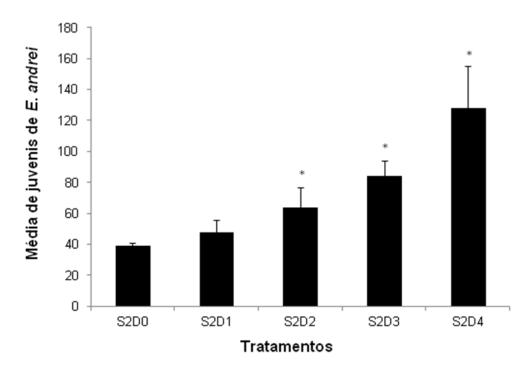


Figura 2.10 – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratadodo com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). * Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão (n = 5)

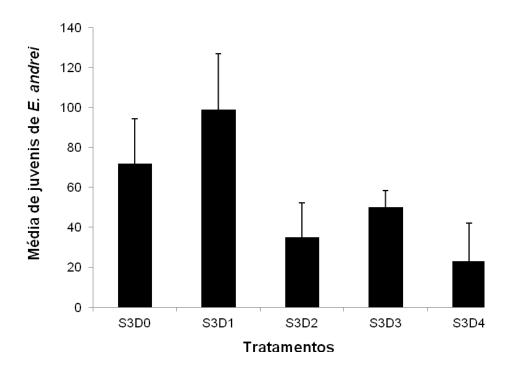


Figura 2.11 – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (⊤) Desvio padrão (n = 5)

A biomassa corporal dos indivíduos, após 28 dias de exposição, não apresentou diferença. Os dados de biomassa apresentaram grande variabilidade entre os tratamentos.

Para solo artificial tropical (S1) (Figura 2.12) (APÊNDICES R e S) ocorreu redução no percentual de perda de peso com aumento das doses de dejeto de suíno. O mesmo comportamento foi observado em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) (Figura 2.13) (APÊNDICES T e U).

Em Argissolo Vermelho Eutrófico (S4) o comportamento apresentado não diferiu entre as doses avaliadas (Figura 2.14) (APÊNDICES V e X).

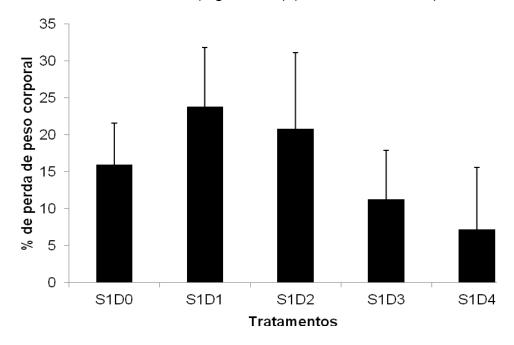


Figura 2.12 – Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)

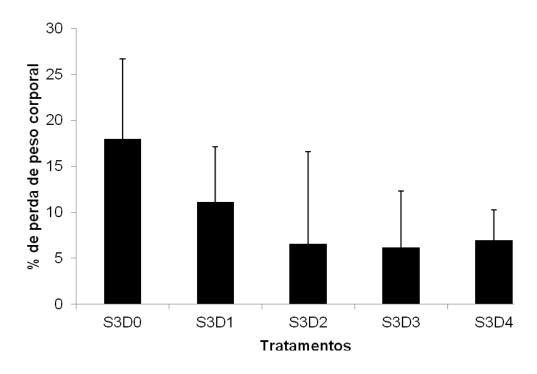


Figura 2.13 – Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5)

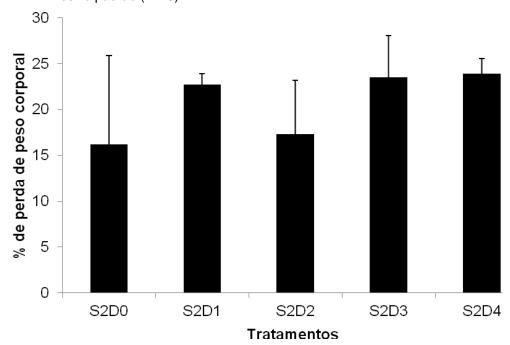


Figura 2.14 – Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Argissolo Vermelho Eutrófico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5)

Como detalhado no material e métodos para o Neossolo Quartzarênico foram conduzidos testes com as doses redefinidas de 0 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 30 m³

ha⁻¹, 45 m³ ha⁻¹ e 60 m³ ha⁻¹. Pode-se perceber uma redução no número de juvenis encontrados nos tratamentos com aplicação das doses de 30, 45 e 60 m³ ha⁻¹ de dejeto de suínos (Figura 2.15) (APÊNDICES W e Y). Já a perda de biomassa corporal para o S4 não diferiu da D0 (p<0,05) em nenhuma das doses avaliadas (Figura 2.16) (APÊNDICES Z e AA).

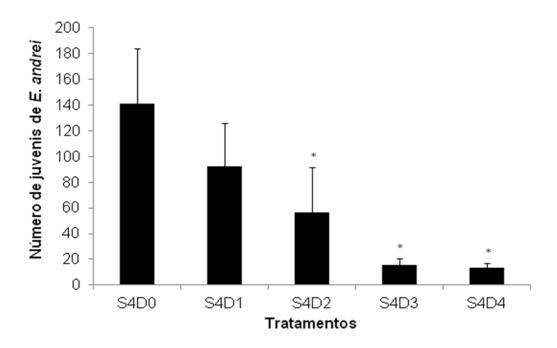


Figura 2.15 – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em solo Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). * Diferença estatística significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

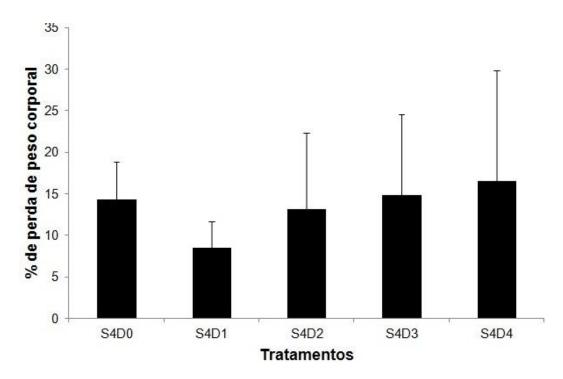


Figura 2.16 – Redução média de peso corporal, em %, para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5)

Os valores de LOEC e NOEC, no teste de reprodução, encontrados entre as doses testadas para o Neossolo Quartzarênico foram, $30~\text{m}^3~\text{ha}^{-1}~\text{e} < 30~\text{m}^3~\text{ha}^{-1}$, respectivamente. Já o valor de EC $_{50}$ calculado foi de $19,77~\text{m}^3~\text{ha}^{-1}$ com intervalo de confiança entre $12,69-26,78~\text{m}^3~\text{ha}^{-1}$ (Figura 2.17).

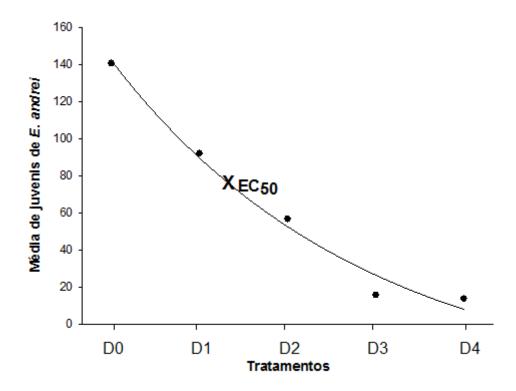


Figura 2.17 – Concentração efetiva (EC₅₀) para a teste de reprodução com *Eisenia andrei* em Neossolo Quartzarênico tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹)

Teste de comportamento – fuga

Os dados de fuga estão expressos em percentagem de indivíduos encontrados no solo contaminado. Para os quatro solos avaliados na dose zero (D0) sem aplicação de dejeto a distribuição das minhocas permaneceu dentro da faixa de 40 a 60% conforme determinado pela 17512-1 (ISO, 2008).

Os resultados para os solos S1, S2 e S3 mostraram que as minhocas preferiram a porção de solo contendo dejeto de suínos (p< 0,05), com uma pequena redução dessa migração para a dose mais elevada (D4) no Latossolo Vermelho Distrófico, mas que não chegou a representar fuga significativa (Tabela 2.3) (APÊNDICES AB e AC). Segundo o anexo E da ISO 17512-2 (ISO, 2008) quando existir preferência dos indivíduos pelo solo tratado é considerado 0% de fuga.

Tabela 2.3 – Resposta de fuga para *Eisenia andrei* em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (n = 5)

Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos no	Fischer Exact
m³ ha ⁻¹	solo tratado	Test
Solo Artificial Tropical		
0	52 <u>+</u> 0,83	n.s.
25	54 <u>+</u> 1,51	n.s.
50	86 <u>+</u> 1,51	*
75	90 <u>+</u> 1,73	*
100	84 <u>+</u> 1,51	*
Argissolo		
0	52 <u>+</u> 2,16	n.s.
25	92 <u>+</u> 0,83	*
50	96 <u>+</u> 0,54	*
75	92 <u>+</u> 0,44	*
100	86 <u>+</u> 1,94	*
Latossolo		*
0	48 <u>+</u> 1,30	n.s.
25	96 <u>+</u> 0,54	*
50	98 <u>+</u> 0,44	*
75	92 <u>+</u> 0,44	*
100	56 <u>+</u> 1,51	n.s.

n.s. Não significativo. Fischer Exact test (p<0,05)

Nos testes realizados com Neossolo Quartzarênico as doses testadas provocaram fuga dos indivíduos como pode ser observado na Tabela 2.4. que apresenta os valores percentuais de indivíduos encontrados no solo tratado (APÊNDICES AD e AE).

A LOEC testada foi 30 m 3 ha $^{-1}$, NOEC foi 15 m 3 ha $^{-1}$ e o valor de EC $_{50}$ calculado foi igual a 45,15 m 3 ha $^{-1}$.

^{*} Efeito significativo de preferência pelo solo contaminado. Fischer Exact test (p<0,05).

Tabela 2.4 – Resposta de fuga para *Eisenia andrei* em teste de comportamento com Solo Artificial Tropical (S1) e Neossolo Quartzarênico (S4) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (n = 5)

Doses de dejeto de suínos m³ ha ⁻¹	% de indivíduos no	Fischer Exact
	solo tratado	Test
Neossolo		
0	55 <u>+</u> 1,30	n.s
15	41,2 <u>+</u> 1,02	n.s
30	3,75 <u>+</u> 0,41	**
45	7,5 <u>+</u> 0,54	**
60	2,5 <u>+</u> 0,44	**

n.s. Não significativo. Fischer Exact test (p<0,05).

2.2.3 Discussão

Quando se compararam os efeitos dos solos naturais com solo artificial tropical, não houve diferença nas taxas de sobrevivência de *E. andrei* mostrando, desta maneira, que os solos amostrados podem ser utilizados para realização de testes de toxicidade aguda sem causar interferência direta sobre os organismos.

Os resultados obtidos para solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3), nos quais não houve letalidade significativa de indivíduos com aplicação de dejeto de suínos (Figuras 2.2, 2.3, 2.4) corroboram os de Rida e Bouché (1997). Estes autores afirmam que testes de toxicidade aguda são eficientes em avaliar apenas compostos altamente tóxicos, pois esses avaliam pequenos períodos de vida dos organismos, não compreendendo, nesse período, importantes eventos do ciclo de vida dos indivíduos.

Baseado na afirmação de Rida e Bouché (1997), os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda podem ser insuficientes para afirmar se um contaminante é atóxico aos organismos, sendo assim, resultados de taxa de reprodução e teste de comportamento podem nos dar informações complementares da toxicidade do composto. Hund-Rinke et al. (2003) também consideram que o teste de efeito agudo apresenta menor sensibilidade que outros testes como o caso do teste de fuga.

^{**} Efeito significativo de fuga do solo contaminado. Fischer Exact test (p<0,05).

Van Gestel et al. (2001) em bioensaios avaliando efeitos em solos contaminados com óleo mineral, afirmam que os testes de toxicidade crônica com *E. fetida* e *F. candida* apresentaram maior sensibilidade que testes que avaliam toxicidade aguda.

Para os resultados de letalidade nas doses aplicadas em Neossolo Quartzarênico (Figura 2.6), ocorreu letalidade (p<0,05) para as doses D4 (60 m³ ha⁻¹) e D5 (75 m³ ha⁻¹) indicando toxicidade aguda aos indivíduos com valores de 24 e 90% de letalidade para cada uma destas doses, respectivamente. Diferentemente dos dados obtidos nos testes com o solo artificial tropical e demais solos naturais, os quais não causam mortalidade significativa, percebeu-se que no Neossolo Quartzarênico os organismos são mais sensíveis aos efeitos do uso de dejeto de suínos.

O efeito encontrado nas doses mais elevadas de dejeto de suíno no Neossolo Quartzarênico pode estar associado à disponibilidade e concentração de Cu e Zn que essas doses proporcionaram nesse solo, entretanto, não foi realizado no presente estudo um ensaio preliminar para comprovar isso com doses crescentes destes dois micronutrientes. Scherer, Nesi e Massotti (2010), avaliando a disponibilidade e mobilidade de elementos em solos catarinenses com aplicação de dejeto de suínos encontraram maior disponibilidade e mobilidade de Cu e Zn em Neossolo quando esse foi comparado com Latossolo. Girotto (2007), avaliando mobilidade de Cu e Zn em sucessivas aplicações de dejeto de suínos encontrou pequena mobilidade para esses elementos em Argissolo.

Onuoha e Worgu (2011) estudando toxicidade de combinações de metais em *E. andrei* encontraram mortalidade de indivíduos na concentração de Zn igual 1000 mg kg⁻¹ de solo, muito maiores que a quantidade estimada na aplicação deste estudo 26 e 34 mg kg⁻¹ de Zn e 12 e 15 mg kg⁻¹ de Cu para as doses de 60 e 75 m³ ha⁻¹, respectivamente. No entanto, esses mesmos autores afirmam que a combinação de metais pode alterar a toxicidade do material. Sizmur et al. (2011) encontraram mortalidade de *Lumbricus terristris* em solo argiloso (com 41 % de areia) contaminado com 89 ± 1 mg kg⁻¹ de Zn combinado com Cu e Pb. Dominguez-Crespo et al. (2012), em ensaios ecotoxicológicos com *E. fetida* e resíduo da depuração de dejeto de bovinos encontraram letalidade de 100% dos indivíduos no tratamento em que o resíduo apresentava concentrações de 84,12 mg kg⁻¹ de Zn e 323,11 mg kg⁻¹ de Cu.

Contudo, o teste para avaliação de efeito crônico, utilizando parâmetros reprodutivos, é importante para dar respostas de efeitos em dosagens subletais. Inicialmente foram desenvolvidos testes comparando os solos naturais com solo artificial tropical, com intuito de saber se os solos, sem aplicação de doses de dejeto de suínos, causariam algum efeito deletério sobre a reprodução dos indivíduos. Os dados mostraram que S4 teve uma taxa de reprodução maior que os demais solos usados no presente estudo (Figura 2.8) e que os solos naturais podem ser usados na condução de testes de ecotoxicidade crônica com *E. andrei*.

Nos resultados obtidos nos testes conduzidos com adição de 25 e 50 m³ ha⁻¹ no solo artificial tropical obteve-se um aumento no número de juvenis gerados (Figura 2.9) e posterior redução dos juvenis com o aumento das doses de dejetos de suínos. Esse fato pode ser explicado pelo aporte de material orgânico no sistema que proporcionou um incremento na alimentação dos indivíduos. Schiedeck et al. (2010) afirmam que em criações de minhocas os alimentos mais fornecidos são resíduos da criação de animais e restos culturais. Nesse sentido, Aquino e Loureiro (2004) citam resíduos da criação de animais que não passaram por processo de fermentação como fonte de alimento para minhocas. De acordo com Buch (2010), a presença de alimento é fator extremamente limitante ao desenvolvimento de minhocas da espécie Pontoscolex corethrurus. Dominguez-Crespo et al. (2012) encontraram aumento na reprodução de *E. fetida* e atribuíram ao aporte de material orgânico que o lodo de depuração de dejeto de bovinos proporcionou ao solo. Doses superiores a 50 m³ ha⁻¹ têm um indício de toxicidade crônica, pois diminuem o número de juvenis gerados (Figura 2.9), mesmo que promovam menor perda de peso corporal no tratamento solo artificial tropical (Figura 2.12).

Esse efeito encontrado nas doses mais elevadas de dejeto de suínos pode ter sido causado pelas maiores concentrações de Zn e Cu que as doses aportam ao solo testado, 34 e 45 mg kg⁻¹ para as doses com efeito significativo. César et al. (2008), avaliando a transposição de metais (que indica efeitos subletais) de solos contaminados de área de mineração para *E. andrei* verificaram que o Zn seguido do Cu foram os metais com maior capacidade de transposição para os organismos. Em estudo de Dominguez-Crespo et al. (2012), o aumento nas doses de Zn e Cu causaram redução no número de casulos de *E. fetida* assim como maior tempo necessário para inicio da oviposição, chegando a reduzir quatro vezes o

número de casulos nas maiores doses que foram de 84,12 mg kg⁻¹ de Zn e 323,11 mg kg⁻¹ de Cu. Diversos trabalhos são encontrados na literatura com efeito de Zn e Cu em minhocas, no entanto essas concentrações são bastante variáveis, diferindo principalmente pela forma como os metais são aplicados ao solo, como por exemplo, sulfatos, nitratos ou presentes em resíduos orgânicos. Spurgeon; Hopkin e Jones (1994) encontraram valores de LC₅₀ para *E. fetida* de 745 mg kg⁻¹ para Zn e 555 mg kg⁻¹ para Cu aos 56 dias de exposição. Lock e Janssen (2003), também utilizando E. fetida, encontraram valores de LC₅₀ 791 e 1.349 mg Zn kg⁻¹ para nitrato de zinco e cloridrato de zinco, respectivamente. Natal-da-Luz et al. (2011) encontrou LC₅₀ para E. andrei de 79,3 mg de Cu kg⁻¹ e 397 mg kg⁻¹ para Zn quando esses estavam misturados com outros metais. EC₅₀ de 704 mg de Zn kg⁻¹ foram encontrados para E. fetida (RÖMBKE, 2003). Esses resultados mostram a dificuldade de avaliar resíduos orgânicos que apresentam mais de um composto passível de causar toxidez, sendo essa dificuldade também relatada por Crouau et al. (2002). Jahnel; Cardoso e Dias (1999), avaliando crescimento de micro-organismos, encontraram que a aplicação de 50 mg kg⁻¹ de Cr³⁺ na forma de K₂Cr₂O₇ em argissolo causou redução no número de bactérias totais no solo; quando essa mesma quantidade de Cr³⁺ foi aplicada ao argissolo juntamente com uma matriz orgânica não foi percebido nenhum efeito de redução no número total de bactérias.

O comportamento reprodutivo de *E. andrei* no Argissolo Vermelho Eutrófico do presente estudo não mostrou efeitos negativos com adição das doses. Nos resultados obtidos para esse solo as doses de 25, 50 e 100 m³ ha⁻¹ tiveram maior número de juvenis, o que mostra que essas têm efeito positivo sobre o potencial reprodutivo de *E. andrei*, e a perda de biomassa nestas doses não é diferente da D0. Da mesma maneira que para o teste de toxicidade crônica em SAT o aporte de material orgânico pode ter estimulado a reprodução das minhocas, e a toxicidade do material poderia ser encontrada em doses mais elevadas que as testadas.

No Latossolo Vermelho Eutrófico esse comportamento de aumento no número de indivíduos ocorreu apenas na dose de 25 m³ ha⁻¹, não sendo as demais doses diferentes do controle. As diferenças devido as doses aplicadas podem não ter sido encontradas por causa do alto valor do coeficiente de variação (CV) deste teste que foi de 35%, mascarando, desta forma, os efeitos do uso de dejeto de suínos. A biomassa corporal não diferiu para qualquer uma das doses testadas.

Para SAT, Argissolo Vermelho Eutrófico e Latossolo Vermelho Distrófico não foi possível calcular valores de EC nos testes de reprodução. Essa estimativa de dose tem por objetivo encontrar um valor que cause efeito deletério em um percentual da taxa de reprodução, por exemplo, 10, 20 e 50%. No entanto, para que essa estimativa seja feita, é preciso que exista efeito significativo de redução no número de juvenis em relação ao controle, comportamento não observado em nenhum destes solos.

Nos testes de reprodução no Neossolo Quartzarênico as doses de 30, 45 e 60 m³ ha⁻¹ foram significativamente diferentes do controle, provocando a redução no número de juvenis gerados. A dose estimada capaz de reduzir em 50% o número de juvenis gerados (EC₅₀) foi de 19,77 m³ ha⁻¹. O valor de EC₅₀ encontrado está abaixo do limite máximo permitido pela legislação do estado de Santa Catarina que estabelece aplicação anual de 50 m³ de dejetos por hectare de solo, independentemente do tipo de solo. Esses resultados servem de alerta para a importância de utilizar mais critérios relacionados a características dos solos, como o caso da textura, para a elaboração de novas diretrizes da legislação.

Efeitos mais pronunciados obtidos no Neossolo Quartzarênico podem estar associados a disponibilidade do resíduo adicionado. César et al. (2008), avaliando toxicidade do solo de mina contaminada com metais pesados, perceberam maior potencial de retenção de metais por partículas de granulometria menor. Isso pode causar maior disponibilidade dos metais, presentes no dejeto de suínos, especialmente no Neossolo Quartzarênico, devido a maior % de partículas maiores que esse solo apresenta naturalmente em relação aos demais solos avaliados.

Valores de pH mais baixos, próximos ao limite mínimo determinado pela ISO 15799 (ISO, 2003), após a aplicação de dejeto de suíno (5,6; 5,6; 5,7 e 5,9, respectivamente para as doses D1, D2, D3 e D4) podem ter influenciado a reprodução de *E. andrei*. Garcia (2004), comparando solo natural tropical (Acrisol – Podzólico Vermelho Amarelo) com solo LUFA 2.2 e solo artificial tropical com solo artificial temperado não encontrou no solo natural tropical o número mínimo de 30 juvenis necessários para validar o teste de reprodução, sendo esse fato atribuido ao valor mais baixo do pH do solo. Os valores de pH deste solo podem ainda ter aumentado a disponibilidade dos metais.

De acordo com Mattias et al. (2010) ocorre uma maior disponibilidade de Zn e Cu em valor de pH 5,5, bastante próximo aos valores encontrados nesse solo e os autores ainda consideram essa uma das características mais importantes na adsorção de metais aos solos, determinando assim, a biodisponibilidade destes. Nesse mesmo trabalho os autores avaliaram a disponibilidade e acúmulo de Cu, Zn e Mn em solo com sucessivas aplicações de dejeto de suínos no Estado de Santa Catarina e encontraram maior risco de contaminação ambiental em um Neossolo, devido seus menores valores de pH e conteúdo de matéria orgânica.

Complementando os testes que avaliam efeito na reprodução, foram usadas avaliações de comportamento dos indivíduos, pois tais testes apresentam respostas rápidas à presença de contaminantes, diminuindo o tempo despendido para realização de uma prévia avaliação da substância teste. Resultados obtidos nos testes de comportamento nos deram informações que não são obtidas nos demais testes ecotoxicológicos como, por exemplo, alterações comportamentais que podem ser resposta a estresse causado aos indivíduos (MARKERT; BREVER; ZECHMEISTER, 2003).

Nos resultados obtidos no teste de comportamento é possível perceber que tanto nos solos naturais testados (S2 e S3) como no SAT (S1) os indivíduos preferiram os solos contendo dejeto de suíno não podendo, portanto, ser considerado um comportamento de fuga. Mas é possível perceber na maior dose testada (D4), para Latossolo Vermelho Distrófico (S3), que ocorreu redução na preferência dos indivíduos pelo solo contaminado. O mesmo comportamento, de preferência, foi percebido nos solos S1 e S2, porém menos acentuado (Tabela 2.3).

Römbke et al. (2002), em teste de fuga com enquitreídeos não encontraram interferência da presença do metal Zn no comportamento desses organismos, no entanto alertam para o risco de obter um resultado mascarado pelo aumento de pH que a presença de Zn pode provocar. No presente estudo as doses de dejeto suíno causaram aumento de pH, passando de 6,2 sem adição de dejeto de suínos para 6,5 na maior dose adicionada para SAT de 5,6 sem adição de dejeto para 6,3 na maior dose testada para o Argissolo Vermelho Eutrófico e de 5,9 no solo sem adição de dejeto para 6,7 na maior dose avaliada para o Latossolo Vermelho Distrófico. Para Van Gestel e Hoogerwerf (2001), os efeitos do pH sobre o comportamento de *E. andrei* podem superar o efeito tóxico da substância avaliada. O efeito do valor de pH também foi encontrado em testes de reprodução.

Onuoha e Worgu (2011), avaliando efeito de combinações de metais pesados sobre *E. andrei*, atribuíram a redução no número de casulos e de juvenis a

aumentos nos valores de pH ao final do teste na combinação de Zn com Pb. Lima (2009), avaliando solo contaminado com Zn também obteve resultados de fuga e perda de biomassa de E. *andrei* para concentrações de Zn a partir de 2.100 mg kg⁻¹ solo. Os dados do presente estudo mostraram (Tabela 2.3) que existe uma menor preferência dos organismos pelo solo contaminado na dose de 100 m³ ha⁻¹ e sugerem que possíveis efeitos de fuga poderiam ser testados em doses mais elevadas que essa.

A preferência de *E. andrei* pelos solos com adição de dejeto de suínos pode estar relacionada com a presença de material orgânico, proporcionada pelas doses. Chelinho et al. (2011), avaliando 12 combinações de solos naturais do mediterrâneo e solo artificial OECD encontraram fuga de minhocas em sete das combinações, dos solos com menores teores de matéria orgânica para os solos com teores mais elevados. Resultados similares foram encontrados por Natal-da-Luz et al. (2008), avaliando diferentes formulações de solo artificial OECD com variações nos teores de argila e matéria orgânica e encontraram fuga de *E. andrei* em solos com menores proporções de matéria orgânica.

Os efeitos no comportamento dos indivíduos complementam a toxicidade do dejeto de suínos adicionado ao Neossolo Quartzarênico do presente estudo, pois houve efeito de fuga significativo nas três maiores doses testadas (Tabela 2.4). César et al. (2008), avaliando a toxicidade de lodo de esgoto em Latossolo e Chernossolo encontraram maior fuga de indivíduos no Latossolo e associaram esse efeito a características naturais do solo, como teores de argila mais baixos, o que pode disponibilizar maior quantidade do contaminante. A textura arenosa e os menores teores de matéria orgânica nesse solo podem ter potencializado os efeitos deletérios do dejeto de suínos, diferentemente dos resultados encontrados nos demais solos estudados.

Kula e Larink (1997), conduzindo estudos com *E. fetida,* comparando o solo LUFA 2.2 com solo artificial, encontraram valor de LC₅₀ menor no solo natural, o que foi relacionado com o menor teor de matéria orgânica presente nesse solo, deixando o contaminante mais biodisponível aos indivíduos. Já Chelinho et al. (2011), em combinações de solos naturais e solo OECD, encontraram fuga de solo com textura muito arenosa (91 % de areia).

Os resultados obtidos nesse estudo comprovam que Neossolo Quartzarênico causa efeitos deletérios mais pronunciados que os demais solos testados devido sua textura e teores iniciais de matéria orgânica muito baixos.

2.3 Conclusões

O Neossolo Quartzarênico mostrou maior sensibilidade para letalidade, reprodução e fuga de *Eisenia andrei* com aplicação de dejeto de suínos do que solo artificial tropical, Argissolo Vermelho Eutrófico, Latossolo Vermelho Distrófico.

Doses menores que as permitidas pela legislação (30 e 45 m³ ha⁻¹), de dejeto de suínos aplicado em Neossolo Quartzarênico, causaram efeitos negativos sobre o potencial reprodutivo e comportamental de *Eisenia andrei* em testes laboratoriais.

Mais testes devem ser desenvolvidos com diferentes organismos, incluindo enquitreídeos e plantas, para avaliar a toxicidade de dejetos de suínos, sendo importante avaliar diferentes classes texturais de solos.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. **Relatório ABIPECS 2010**. Diponível em: http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2010_pt.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2011.

AGRESTI, A.A. Survey of Exact Inference for Contingency Tables. **Statistical Science**, Hayward, v. 7, p.131-153, 1992.

AQUINO, A.M.; LOUREIRO, D.C. **Minhocultura.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2004. p. 1-2.

BUCH, A.C. *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) e *Eisenia andrei*, Bouché 1972, como bioindicadoras de solos contaminados por agrotóxicos. 2010. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2010.

CARDOSO, E.J.B.N.; ALVES, P.R.L. Soil Ecotoxicology. In: BEGUM, B. **Ecotoxicology**. Rijeka: InTech - Open Access Publisher, 2011. cap. 2. p. 27-50.

- CÉSAR, R.G.; EGLER, S.G.; ALAMINO, R.C.J.; POLIVANOV, H.; SILVA, R.C.; CASTILHOS, Z.C.; ARAÚJO, P.P. Avaliação do potencial tóxico de Latossolos e Chernossolos acrescido de lodo de esgoto utilizando bioensaios com Oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. **Anuário do Instituto de Geociências**, Rio de Janeiro, v. 31, p. 53-60, 2008.
- CÉSAR, R.G.; EGLER, S.G.; POLIVANOV, H.; CASTILHOS, Z.C.; RODRIGUES, A.P.C.; ARAÚJO, P.C. Biodisponibilidade de Metilmercúrio, Zinco e Cobre em distintas frações granulométricas de solo contaminado utilizando oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. **Anuário do Instituto de Geociências**, Rio de Janeiro, v. 31, p. 33-41, 2008.
- CHELINHO, S.; DOMENE, X.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; SCHEFFCZYK, A.; RÖMBKE, J.; ANDRÉS, P.; SOUSA, J.P. Improving ecological risk assessment in the Mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species. **Environmental Toxicology an Chemistry,** [s.l.], v. 30, n. 5, p. 1050-1058, 2011.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO CQFSRS/SC. Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10 ed. Porto Alegre: SBCS/NRS, 2004. 400p.
- CORRÊA, J.C.; BARILLI, J.; REBELLATTO, A.; VEIGA, M. **Aplicações de dejetos de suínos e as propriedades do solo**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. p. 1-18.
- CROUAU, Y.; GISCLARD, C.; PEROTTI, P. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidade) in bioassays of waste. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 19, p. 65-70, 2002.
- DOMENE, X.; RAMIREZ, W.; MATTANA, S.; ALCANIZ, J.M.; ANDRES, P. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. **Environmental Pollution**, Barking, [s.l.], v.155, p. 227-236, 2008.
- DOMINGUEZ-CRESPO, M.A.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, E.; TORRES-HUERTA, A.M.; NEGRETE-RODRÍGUEZ, M. L.X.; CONDE-BARAJAS, E.; FLORES-VELA, ABELARDO. Effects of the Heavy Metals Cu, Ni, Cd and Zn on the growth and reprodution of epigeic earthworms (*E. fetida*) during the vermistabilization of municipal sewage sludge. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, n. 223, p. 915-931, 2012.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.
- FAO/IFA Food and Agriculture Organization/International Fertilizer Industry Association. Global estimates of gaseous emissions of NH3, NO and N2O from agricultural land. Rome, 2006. 106p.

- Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina. FATMA. Instrução Normativa 11: Suinocultura. **FATMA.** Disponível em:
- http://www.fatma.sc.gov.br/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=32 & ltemid=83>. Acesso em: 10 nov. 2011.
- GARCIA, M.V. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. **Ecology and Development Series**, Germany:University of Bonn, 2004. 281p.
- GIROTTO, E. **Cobre e Zinco no solo sob uso intensivo de dejeto de suínos.** 2007. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.
- HUND-RINKE, K.; ACHAZI, R.; RÖMBKE, J.; WARNECKE, D. Avoidance test with *Eisenia fetida* as indicator for the habitat function of soils: Results of a laboratory comparison test. **Journal of Soils and Sediments**, [s.l.], v.3, n.1, p.7–12, 2003.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO-11268-2:** Soil quality Effects of pollutants on earth-worms (*Eisenia fetida*) Part 2: Method for the determination of effects on reproduction. Genève, Switzerland, 1998. 36p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO 15799:** Soil quality -- Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials. Genève, Switzerland, 2003, 33p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO 17512-1:** Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior -- Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Genève, Switzerland, 2008, 25p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO 17512-2**: Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior -- Pt 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Genève, Switzerland, 2008. 25p.
- JAHNEL, M.C.; CARDOSO, E.J.B.N.; DIAS, C.T.S. Determinação do número mais provável de microrganismos do solo pelo método de plaqueamento em gotas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.23, p.553-559, 1999.
- JÄNSCH, S.; AMORIM, M.J.; RÖMBKE, J. Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. **Environmental Reviews**, Ottawa, v.13, p. 51–83, 2005.
- KULA, H.; LARINK, O. Development and standardization of test methods for the prediction of sublethal effects of chemicals on earthworms. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, [s.l.] v. 29, n. 3/4, p. 635-639, 1997.
- LIMA, C.A. Avaliação de risco ambiental como ferramenta para o descomissionamento de uma indústria de metalurgia de Zinco. 2009. 238p. Tese (Doutorado em Ciências) Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

- LOCK, K.; JANSSEN, C.R. Comparative toxicity of a zinc salt, zinc powder and zinc oxide to Eisenia fetida, Enchytraeus albidus and Folsomia candida. **Chemosphere**, Oxford, [s.l], n. 53, p. 851–856, 2003.
- MATOS-MOREIRA, M.; NIEMEYER, J.C.; SOUSA, J.P.; CUNHA, M.; CARRAL, E. Behavioral avoidance tests to evaluate effects of cattle slurry and dairy sludge application to soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Lavras, v. 56, p. 1471-1477, 2011.
- MATTIAS, J.L.; CERETTA, C.A.; NESI, C.N.; GIROTTO, E.; TRENTIN, E.E.; LOURENZI, C.R.; VIEIRA, R.C. Copper, zinc and manganese in soil of two watersheds in Santa Catarina with intensive use of pig slurry. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Lavras, n. 54, p. 1445-1454, 2010.
- MARKERT, B.A.; BREURE, A.M.; ZECHMEISTER, H.G. **Bioindicators and Biomonitors: Principles, Concepts and Applications**. Trace Metals and other Contaminants in the Environment. Michigan: Elsevier Science, 2003. 997 p.
- MOREIRA, R.; SOUSA, J.P.; CANHOTO, C. Biological testing of a digested sewage sludge and derived composts. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 8382-8389, 2008.
- NATAL-DA-LUZ, T.; AMORIM, M.J.B.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J.P. Avoidance tests with earthworms and springtails: Defining the minimum exposure time to observe a significant response. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, n. 71, p.545-551, 2008.
- NATAL-DA-LUZ, T.; OJEDA, G. PRATAS, J.; VAN GESTEL, C.A.M.; SOUSA, J.P. Toxicity to *Eisenia andrei* and *Folsomia candida* of a metal mixture applied to soil directly or via an organic matrix. **Ecotoxology and Environmental Safety**, New York, n.6, p. 1715-1720, 2011.
- NATAL-DA-LUZ, T.; TIDONA, S.; JESUS, B.; MORAIS, P.V.; SOUSA, J.P. The use of sewage sludge as soil amendment. The need for an ecotoxicological evaluation. **Journal of Soils and Sediments**, [s.l], v. 9, p. 246-260, 2009.
- OECD ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD Earthworm Acute Toxicity Test**. Paris, 1984. 9 p. (Guideline for Testing of Chemicals, 207).
- ONUOHA, P.C.; WORGU, D.C. Combination toxicity effects of heavy metals on terrestrial animal (Earthworm *Eisenia Andrei*). **Journal of American Science**. Michigan, v. 7, p. 403-415, 2011.
- RAIJ, B. van.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, Campinas: Instituto Agrnômica, 2001. 400p.
- RÖMBKE, J. Ecotoxicological laboratory tests with enchytraeids: A review. **Pedobiologia**, Flörsheim, n. 47, p. 607-616, 2003.

- SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology**. Tokyo, v.33, n.3, p. 339-347, 1998.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: user's guide version 9.2 (software). Cary, 2008.
- SCHERER, E.E.; NESI, C.N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.34, p.1375-1383, 2010.
- SCHIEDECK, G.; STRASSBURGER, K.F.S.; SILVEIRA, E.F.; HOLZ, F.P. **Alimentação de minhocas:** teste de aceitação do alimento. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. p. 1-8,
- SISINNO, C.L.S.; BULUS, M.R.M.; RIZZO, A.C.; MOREIRA, J.C. Ensaio de comportamento com minhocas (*Eisenia fetida*) para avaliação de áreas contaminadas: Resultados preliminares para contaminação por hidrocarbonetos. **Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p. 137-140, 2006.
- SIZMUR, T.; PALUMBO-ROE, B.; WATTS, M.J.; HODSON, M. Impact of the earthworm *Lumbricus terrestris* (L.) on As, Cu, Pb and Zn mobility and speciation in contaminated soils. **Environmetal and Pollution**, Chicago, v. 15, n. 9, p. 742-748, 2011.
- SPURGEON, D.J.; HOPKIN, S.P.; JONES, D.T. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny): assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. **Environmental and Pollution**, Chicago, n. 84, p. 123–130, 1994.
- STATSOFT. **STATISTICA 7.0 (data analysis software system)**. [s.l]. 2004. Disponível em: http://www.statsoft.com> Acesso em: 15 dez. 2011.
- RIDA, A.M.M.A.; BOUCHÉ, M.B. Earthworm toxicology: from acute to chronic tests. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 29, n. 3/4, p. 699-703, 1997.
- RÖMBKE, J.; NOTENBOOM, J.; POSTHUMA L. The effects of zinc on enchytraeids: The Budel case study. **Natura Jutlandica Occasional Papers**, [s.l.], n. 2, p. 54–56, 2002.
- VAN GESTEL, C.A.M.; HOOGERWERF, G. Influence of soil pH on the toxicity of aluminum for *Eisenia andrei* (Oligochaeta: Lumbricidae) in an artificial soil substrate. **Pedobiologia**, Jena, n. 45, p. 385–395, 2001.
- VAN GESTEL, C.A.M.; VAN DER WAARDE, J.J.; DERKSEN, J.G.M.; VAN DER HOEK, E.E.; VEUL, M. F.X.W.; BOUWENS, S.; RUSCH, B.; KRONENBURG, R. The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil-polluted soils. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 20, n. 7, p. 1438–1449, 2001.

3 EFEITO ECOTOXICOLÓGICO DA APLICAÇÃO DE DEJETO DE SUÍNOS SOBRE *Folsomia candida* (Hexapoda: Collembola) EM SOLOS DE SANTA CATARINA

Resumo

O modelo de produção atualmente usado na suinocultura catarinense com elevada concentração de animais em menores extensões territoriais acarreta em dificuldade no descarte dos dejetos gerados na atividade, pois a alternativa mais econômica ao produtor é utilizar esse resíduo como fertilizante agrícola. Para esse estudo objetivou-se avaliar, por meio de testes ecotoxicológicos, o efeito de doses crescentes de dejeto de suínos aplicadas em solos do estado de Santa Catarina e em Solo Artificial Tropical sobre a sobrevivência, reprodução e comportamento de fuga de colêmbolos Folsomia candida. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com as doses D0:0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ -1; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹ aplicadas em Argissolo Vermelho Eutrófico, Latossolo Vermelho Distrófico, Neossolo Quartzarênico e Solo Artificial Tropical. Para a condução dos testes utilizaram-se metodologias padronizadas internacionalmente. Observou-se que o Neossolo Quartzarênico não é recomendado para uso em testes ecotoxicológicos com F. candida por estes não alcançarem a taxa mínima de sobrevivência mesmo sem aplicação de dejetos de suínos. Nos demais solos, todas as doses avaliadas causaram letalidade significativa, indicando toxicidade aguda do resíduo avaliado. Nos testes de reprodução doses de 10, 15, 20 e 25 m³ ha⁻¹ de dejeto de suínos, provocaram significativa redução no número de juvenis gerados. Nos testes de fuga, nessas mesmas doses, inicialmente houve preferência dos indivíduos pelo solo contaminado, nas doses 10 m³ ha⁻¹ e 15 m³ ha⁻¹, com posterior fuga nas doses mais elevadas (20 m³ ha-1 e 25 m³ ha-1) aplicadas no Argissolo Vermelho Eutrófico. No Latossolo Vermelho Distrófico houve fuga do solo contaminado em todas as doses avaliadas. Os resultados mostram que o dejeto de suínos são tóxicos, em doses menores que as recomendadas pela legislação vigente no estado de Santa Catarina, para F. candida, e que seu uso como fertilizante agrícola merece mais estudos, principalmente, sobre organismos da fauna do solo.

Palavras-chave: Ecotoxicologia; Colêmbolos; Argissolo Vermelho Eutrófico; Latossolo Vermelho Distrófico; Neossolo Quartzarênico

Abstract

The model currently used in swine production in Santa Catarina with a high concentration of animals in small territorial extensions leads to difficulty in disposing of wastes generated. The most economical disposal for the producer is using this residue as agricultural fertilizer. This study aimed to evaluate, by means of ecotoxicological tests, the effects of increasing doses of swine slurry applied to soils in the State of Sanata Catarina and on Tropical Artificial Soil on survival, reproduction and avoidance behavior of springtails of the species Folsomia candida. The experimental design was completely randomized with doses D0:0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ 1; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100m³ ha⁻¹ applied onto Ultisol, Oxisol and tropical artificial soil. Internationally standardized methodologies were used. It was observed that the Entisol is not recommended for use in ecotoxicological tests with F. candida because these organisms do not reach the minimum rate of survival, even without application of swine slurry in this soil. In the other soils, all evaluated doses caused significant lethality, indicating acute toxicity of the residue evaluated. In reproductive tests doses of 10, 15, 20 and 25 m³ ha⁻¹ of swine slurry caused significant reduction in the number of juveniles produced. In avoidance tests, with these same doses, initially there was a preference of individuals for treated soil at the doses 10 and 15 m³ ha⁻¹ with subsequent avoidance in the higher doses (20 and 25 m³ ha⁻¹), applied to Ultisol. In the Oxisol there was avoidance of the contaminated soil at all doses evaluated. The results show that swine manure is toxic for springtails even at lower doses than those recommended by the current legislation in the State of Santa Catarina. The use of swine slurry as fertilizer in agriculture deserves more studies, especially with soil fauna to maintain soil health.

Keywords: Ecotoxicology; Springtails; Ultisols; Oxisol; Entisols

3.1 Introdução

A destacada posição do estado de Santa Catarina no cenário mundial da cadeia suinícola é resultado de avanços tecnológicos e estratégias empresariais e tem como importante característica seu sistema de criação, conhecido com sistema integrado, no qual a parceria entre o produtor (integrado) e a empresa (integradora) que, garante a fidelidade de fornecimento dos animais com elevado padrão genético, alimentação e assistência técnica. O produtor cria animais exclusivamente para a integradora, na qual está ligado e fornece área e estrutura para as criações.

Esse modelo de criação permite maior concentração de animais por unidade de área tornando-se uma possibilidade de aumento de renda nas propriedades que se caracterizam por suas pequenas extensões territoriais. Essa crescente expansão e intensificação da produção de suínos geram grande volume de dejeto, aumentando a dificuldade de manejo e destino deste. O uso deste dejeto

produzido como fertilizante agrícola, seja em culturas de grãos ou pastagens, é ainda a alternativa de descarte de menor custo econômico para o suinocultor. Quando corretamente utilizado, esse material pode proporcionar redução na quantidade de adubo químico aplicado nas culturas, reduzindo os custos da produção vegetal para a propriedade.

Por outro lado, o uso inadequado deste resíduo pode resultar em problemas ambientais e a intensidade desse impacto é diretamente dependente das doses e da composição do dejeto utilizado. A elevada concentração de alguns nutrientes como N e P e metais como Cu e Zn adicionada ao solo através deste material pode causar um desequilíbrio químico, físico e biológico do solo (MATTIAS, 2006). A perda de nutrientes por lixiviação pode causar eutrofização de recursos água, acúmulo de metais pesado em camadas subsuperfíciais do solo e ainda elevada perda de N por volatilização. De acordo com a *Food and Agriculture Organization/International Fertilizer Industry Association* (FAO/IFA, 2006) essas perdas por volatilização na forma de NH₃ são de aproximadamente 23% para dejeto animal adicionado ao solo, esses valores podem ser ainda maiores em condições tropicais variando entre 40 e 60%.

É importante destacar que a legislação catarinense que determina as doses que podem ser aplicadas no solo não consideram fatores importantes como, por exemplo, tipo de solo, teor de argila, valores de pH, profundidade do solo, cultura a ser adubada e produtividade esperada da mesma (FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE - FATMA, 2011).

A suinocultura é, pelos órgãos ambientais, definida como uma atividade potencialmente poluidora e que representa uma fonte importante de degradação de recursos naturais (SANTOS, 2010). Sabendo da possibilidade do uso de dejeto de suíno como fertilizante agrícola causar impacto ambiental, é necessário que sejam conduzidos estudos objetivando mensurar ou estimar as alterações que essa prática causa. Mesmo já existindo alertas sobre os riscos ambientais do uso excessivo e/ou continuado de dejetos animais como fertilizante do solo e embora a literatura internacional tenha um aporte maior de estudos, no Brasil esses ainda são incipientes (SCHERER et al. 2010), sendo necessário avaliar o potencial ecotoxicológico desse material. Nesse contexto novos estudos devem ser conduzidos no intuito de utilização de dejeto de suínos sem causar dano ambiental e considerando a capacidade de suporte dos diferentes solos assim como as possíveis

alterações causadas pelo seu uso continuado nas características biológicas do ambiente em questão.

A magnitude dos efeitos, benéficos ou não, do uso de dejeto suíno na biota do solo pode ser medida através da ecotoxicologia que tem se mostrado uma ferramenta adequada para monitoramento de agentes químicos, físicos e biológicos nos ecossistemas (STÜTZER; GUIMARÃES, 2003).

A condução de testes de ecotoxicidade terrestre é baseada em metodologias padronizadas mundialmente como a Organização Internacional para Padronização (ISO). Esses protocolos utilizam organismos teste como os colêmbolos, minhocas, enquitreídeos, entre outros, que são considerados bons indicadores ambientais por participarem de processos biológicos importantes do solo, como a decomposição da matéria orgânica. A espécie *F. candida* é uma das espécies padrão de colêmbolos utilizada nos testes, a qual é sensível a presença de algumas substâncias contaminantes, sendo assim, considerada representante das demais espécies de colêmbolos.

O objetivo do presente estudo foi avaliar, por meio de testes ecotoxicológicos os efeitos de letalidade, reprodução e alterações comportamentais causados pela adição de doses crescentes de dejeto de suínos em solos naturais e um solo artificial sobre colêmbolos (*Folsomia candida*).

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

Solos

Os solos utilizados para a condução dos testes ecotoxicológicos foram coletados em áreas de mata e sem histórico de uso agrícola. Três diferentes solos naturais foram utilizados Argissolo Vermelho Eutrófico, coletado na Linha Cascavel, Latossolo Vermelho Distrófico, coletado na EPAGRI, ambos no município de Chapecó, SC e Neossolo Quartzarênico coletado na Fazenda Paredão Vermelho na cidade de Piracicaba (São Paulo). Os três solos foram coletados na camada de 0 - 0,20 m e, secos em estufa a 65 °C e tamisados em peneiras de 2 mm, para separação de resíduos vegetais e agregados de solo. Os parâmetros físico-químicos dos solos foram apresentados anteriormente no capítulo 2 (Tabela 2.1)

O substrato utilizado em testes ecotoxicológicos como solo padrão é uma mistura de 70% de areia industrial (fina), 20% de argila caulinítica, e 10% de turfa (moída e seca) (OECD, 1984), no entanto para esse estudo foi utilizada uma mistura com as mesmas proporções de areia e argila caulinítica, mas a turfa foi substituída por casca de coco em pó (seca e peineirada). Essa mistura é conhecida como Solo Artificial Tropical (SAT) (GARCIA, 2004). Para todos os testes conduzidos, o pH do SAT e dos solos naturais foram corrigidos para 6,0 ± 0,5 com adição de CaCO₃, assim como apresenta na Figura 2.1. no capítulo 2, e a umidade corrigida para 60% da capacidade de retenção de cada solo, no início do teste.

Dejeto de suínos

O dejeto utilizado para a realização dos testes foi coletado no município de Xaxim, SC. A propriedade escolhida para a coleta não utiliza sistema de lâmina de água nas baias o que diminui o volume de água nos dejetos. Essa é integrada de uma das maiores indústrias de abate e processamento de carne suína no Brasil. O dejeto foi coletado diretamente da baia e passou por um processo de estabilização por 120 dias como recomendado pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFRS/SC, 2004)

A fase de criação escolhida foi de crescimento (animais com aproximadamente 8 a 25 kg de peso corporal) que se caracteriza por ser uma fase com elevado fornecimento de Zn e Cu na ração dos animais e também é quando ocorre a maior incidência de distúrbios gastrointestinais, provocados pela mudança de dieta líquida para dieta sólida, o que favorece a perda de nutrientes da alimentação através das excretas. Os parâmetros físico-químicos dos dejetos estão apresentados na Tabela 2.2 (Capítulo 2), metodologias de análise de acordo com Raij et al. (2001).

As doses de dejeto de suínos foram calculadas baseando-se nas recomendações da Instrução Normativa número 11 (FATMA, 2000) para uso de dejeto como fertilizante agrícola, que recomenda a aplicação máxima de 50 m³ de dejeto de suíno ha⁻¹ ano⁻¹. A partir dessa recomendação máxima as doses utilizadas foram então 0, 25, 50, 75 e 100 m³ ha⁻¹ de dejeto de suíno, testadas nos quatro solos avaliados.

Tratamentos

Os tratamentos consistiam em diferentes doses de dejeto de suínos, a saber, D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ de dejeto de suíno ha⁻¹, em cada um dos três diferentes solos S1: SAT; S2: Argissolo Vermelho Eutrófico; S3: Latossolo Vermelho Distrófico.

A partir dos testes realizados com as doses acima citadas, estabeleceram-se novas doses para os testes de toxicidade crônica e de comportamento. Estas novas doses foram baseadas na menor dose testada com efeito significativo (LOEC) do teste de toxicidade aguda. As novas doses foram 0 m³ ha⁻¹, 10 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 20 m³ ha⁻¹ e 25 m³ ha⁻¹, aplicadas nos três solos

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições e com cinco doses de dejeto para cada um dos solos avaliados. Todos os testes foram realizados três vezes, com mesmo delianeamento, doses e com cinco repetições. Isso não é exigência da ISO, mas como o comportamento nos três testes foi similar reforça ainda mais os resultados aqui apresentados. Entretanto, optou-se por apresentar apenas os dados referentes a um dos testes já que foram similares, o que teve menor variabilidade. Os demais ensaios estão apresentados nos Apêndices.

Organismos para testes

Os exemplares de *F. candida* utilizados nos testes foram obtidos de criação já estabelecida no Laboratório de Microbiologia do solo ESALQ/USP, sendo mantidos de acordo com diretrizes estabelecidas pela ISO 11268-2 (1998).

Os colêmbolos foram mantidos em recipientes plásticos (diâmetro de 10,5 cm x 3,5 cm de altura), nos quais adicionou-se o substrato de criação, sendo este uma mistura homogênea de carvão ativado, gesso e água deionizada (1:11:7, p/p). Semanalmente os organismos foram alimentados com fermento biológico e a umidade do meio foi corrigida com água deionizada.

As criações e os testes foram mantidos em sala climatizada, com temperatura de 20° C \pm 2 e fotoperíodo de 12 h. Para os experimentos foram utilizados indivíduos adultos, com idade sicronizada entre 10 - 12 dias de vida.

Teste de toxicidade aguda – letalidade

A avaliação de letalidade de *F. candida* seguiu as recomendações da ISO 11267 (1999). Em recipientes de vidro com altura de 11,5 cm e diametro de 3,5 cm foram adicinados 30 g de solo com umidade corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água e pH corrigido para 6,0 ± 0,5 ISO 15799 (ISSO, 2008) e adicionadas as doses de dejeto de suínos.

Cada unidade experimental recebeu 10 indivíduos. Após 14 dias foi feita a avaliação da letalidade de indivíduos, para tanto, o solo juntamente com os colêmbolos foram transferidos para outro recipiente no qual foram adicionadas água e tinta de caneta esferográfica preta, desta forma os organismos sobreviventes flutuaram e o contraste de cor com a tinta de caneta permitiu a contagem destes indivíduos.

Teste de toxicidade crônica – reprodução

Para os teste de toxicidade crônica de *F. candida* as recomendações seguidas foram de acordo com a ISO 11267 (ISO, 1999), da mesma forma que para o teste de toxicidade aguda em recipientes de vidro com altura de 11,5 cm e diâmetro de 3,5 cm foram adicinados 30 g de solo com umidade corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água e pH corrigido para 6,0 ± 0,5 ISO 15799 (ISO, 2008) e adicionadas as doses de dejeto de suínos.

Cada unidade experimental recebeu 10 indivíduos. Semanalmente os recipientes foram abertos para promover a aeração e corrigida a umidade do solo por diferença de peso dos recipientes entre as semanas. No início do teste e após 14 dias decorridos, os organismos foram alimentos com fermento biológico. Após 28 dias do início do teste foi realizada a avaliação do número de indivíduos jovens gerados. Assim como no teste de letalidade, por flutuação com adição de água e tinta de caneta esferográfica preta, foi feita a contagem dos indíviduos gerados. Para realizar a contagem os recipientes foram fotografados e utilizou-se de um programa computacional para auxiliar a contagem (University of Texas Health Science Center, 2002).

Avaliação de comportamento – fuga

O teste de fuga foi conduzido de acordo com instruções da ISO 11268-2 (ISO, 1998). Utilizaram recipientes plásticos circulares (altura de 11,5 cm e diâmetro de 3,5 cm), que foram divididos ao meio com auxílio de divisória inserida verticalmente, onde cada um dos lados recebeu 60 g de solo com pH e umidade corrigidos. Um dos lados do recipiente recebeu solo sem adição de dejeto e no outro lado o solo estava tratada com as respectivas doses de dejetos. A divisória plástica foi então retirado e 20 indivíduos foram colocados sobre a linha de separação formada.

Os recipientes permaneceram tampados no escuro, para não ter influência da luminosidade sobre o comportamento. Esses foram mantidos em ambiente com tempertaura controlada de 20 C° ± 2. O teste teve a duração de 24 h e os indivíduos não receberam alimentação. Após 48 h a divisória foi inserida verticalmente no meio do recipiente dividindo-o em duas seções (solo tratado e solo não tratado) e foi contabilizado o número de indivíduos em cada seção da caixa. Da mesma forma que para os demais testes realizados, foi necessária a adição de água e tinta de caneta esferográfica preta para contabilizar os indivíduos. Os valores foram expressos e percentagem de fuga, ou seja, indivíduos que evitaram o solo contaminado.

Validação dos testes

A validação dos testes é feita de acordo com diretrizes a OECD e ISO que determinam alguns índices de mortalidade, reprodução e comportamento dos indivíduos. De acordo com a ISO 11267 (ISO, 1999) nos testes de toxicidade aguda a taxa de letalidade dos colêmbolos adultos não pode exceder 20% do total de indivíduos nos controles. O critério de validação usado na ISO 11267 (ISO, 1998), para os testes de reprodução (toxicidade crônica), é de que o número de juvenis no tratamento controle seja ≥ 200 indivíduos, e para ambos os testes o coeficiente de variação (CV) deve ser ≤ 30%. Para os testes de comportamento, a ISO 11268-2 (ISO, 2008) considera os testes validos se a taxa de mortalidade for de até 20% e se a distribuição dos organismos nos controles estiver dentro da faixa de 40 a 60%, comprovando que não há preferência significativa por um dos lados do recipiente do teste.

Análise de dados

Os dados de reprodução e letalidade foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Dunnet por meio do programa Software SAS 9.2 (SAS Institute, 1999).

Os valores de LOEC e NOEC foram obtidos a partir do teste de comparação de médias. Valores de EC₅₀ do teste de fuga e LC₅₀ no teste de letalidade foram feitas no Software PriProbit® 1.63 (SAKAMURA, 1998). A partir de análises de regressão não linear que foram desenvolvidas com o programa STATISTICA® 7.0 (STATSOFT, 2004) obtiveram-se valores de EC₅₀ dos testes de toxicidade crônica.

O número de indivíduos no teste de comportamento de fuga foram analisados através do "Fisher Exact Test" de acordo com Agresti (1992). Essa avaliação estatística consiste em comparar o comportamento observado com um comportamento esperado, que é a ausência de fuga, distribuição igual do organismos nas duas seções do recipiente (hipótese nula).

3.2.2 Resultados

Toxicidade aguda – letalidade

Na comparação dos solos naturais com SAT, sem adição de dejeto, observaram-se diferenças significativas no número de indivíduos vivos para Latossolo Vermelho Distrófico e Neossolo Quartzarênico (Figura 3.1) (APÊNDICES AF e AG). Como o Neossolo Quartzarênico teve taxa de 25% de letalidade dos indivíduos, não pode ser utilizado como solo para os testes com *F. candida*.

Nos testes com aplicação de dejeto de suínos, as doses D1, D2, D3 e D4 causaram significativa letalidade no SAT (Figura 3.2) (APÊNDICES AH e AI) assim como para Argissolo Vermelho Eutrófico (Figura 3.3) (APÊNDICES AJ e AK) e no Latossolo Vermelho Distrófico (Figura 3.4) (APÊNDICES AL e AM).

Para o SAT o valor de LC₅₀ calculado foi de 33,14 m³ ha⁻¹ (Figura 3.5) e a LOEC foi de 25 m³ ha⁻¹. O valor de LC₅₀ foi igual a 12,05 m³ ha⁻¹ (Figura 3.6) da NOEC foi de 25 m³ ha⁻¹ e LOEC de 50 m³ ha⁻¹ para o teste de toxicidade aguda no Argissolo Vermelho Eutrófico. O Latossolo Vermelho Distrófico teve a LC₅₀ calculada em 2,9 m³ ha⁻¹ (Figura 3.7) e valor de LOEC de 20 m³ ha⁻¹. No entanto a variabilidade encontrada nos dados para esses solos não possibilitou utilizar todas as doses para essa estimativa. Para cálculo de EC₅₀ no PriProbit apenas se

utilizaram as doses de 0, 10 e 25 m³ ha⁻¹, situação que pode ter subestimado o valor desta.

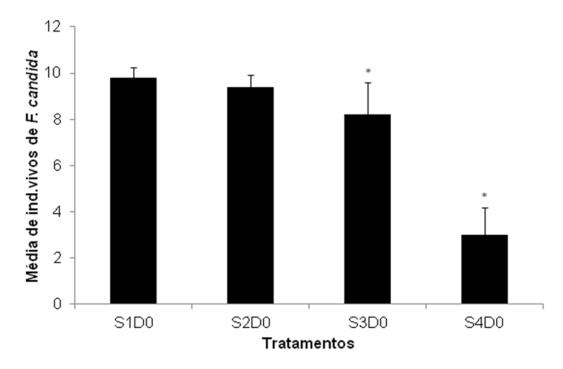


Figura 3.1 – Média de indivíduos (Ind.) vivos de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)

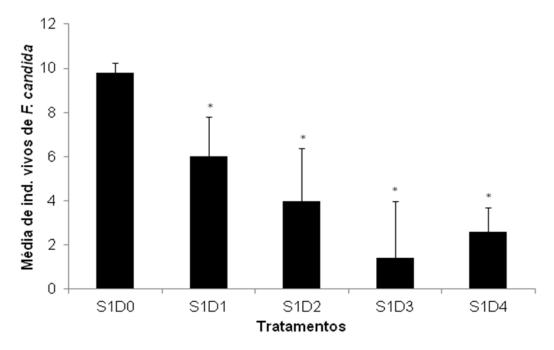


Figura 3.2 – Média de indivíduos (Ind.) vivos de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1) contaminado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). * Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

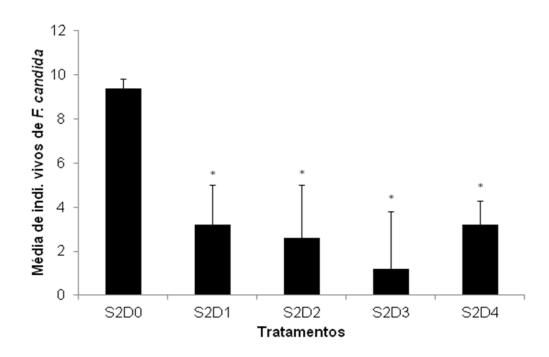


Figura 3.3 – Média de indivíduos (Ind.) vivos de *Folsomia candida* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

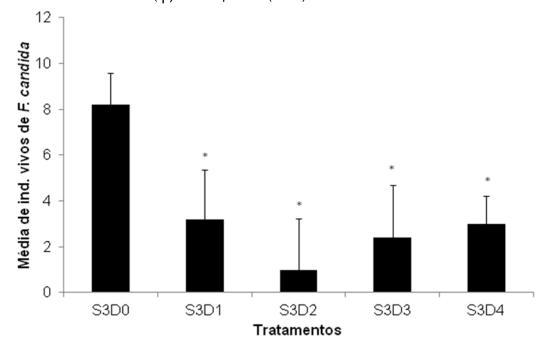


Figura 3.4 – Média de indivíduos (Ind.) vivos de *Folsomia candida* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)

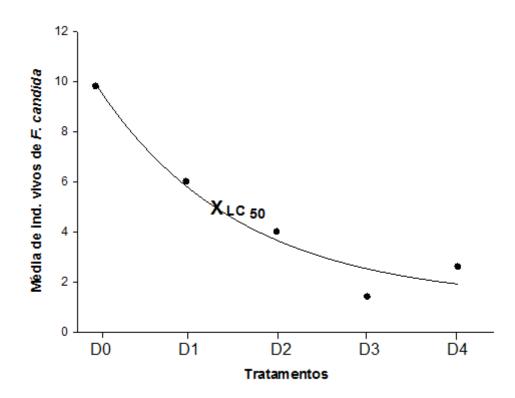


Figura 3.5 – Concentração letal (LC₅₀) para o teste de letalidade em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹)

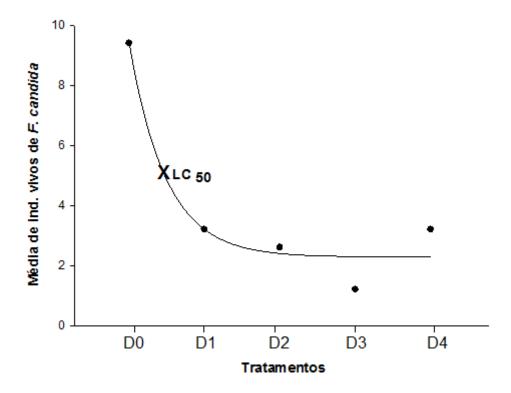


Figura 3.6 – Concentração letal (LC₅₀) para o teste de letalidade em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha¹; D1: 25 m³ ha¹; D2: 50 m³ ha¹; D3: 75 m³ ha¹ e D4: 100 m³ ha¹)

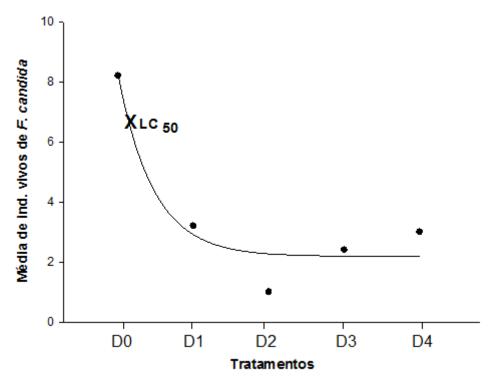


Figura 3.7 – Concentração letal (LC₅₀) para o teste de letalidade em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha¹; D1: 25 m³ ha¹; D2: 50 m³ ha¹; D3: 75 m³ ha¹ e D4: 100 m³ ha¹)

Toxicidade crônica - reprodução

Diferença na taxa de reprodução de colêmbolos ocorreu quando comparados apenas os solos naturais com o solo artificial tropical, sem adição de dejeto de suínos (Figura 3.8) (APÊNDICES AN e AO).

Os testes para avaliação de toxicidade crônica com *F. candida* foram realizados com as doses 0 m³ ha⁻¹, 10 m³ ha⁻¹, 15 m³ ha⁻¹, 20 m³ ha⁻¹ e 25 m³ ha⁻¹, obtidas a partir da menor dose com efeito significativo no teste de letalidade (25 m³ ha⁻¹).

Para os solos SAT (Figura 3.9) (APÊNDICES AP e AQ) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) (Figura 3.10) (APÊNDICES AR e AS) ocorreram reduções no número de juvenis gerados, em todas as doses avaliadas. Para Argissolo Vermelho Eutrófico essas reduções no número de juvenis ocorreram nas doses D2, D3 e D4 (Figura 3.11) (APÊNDICES AT e AU).

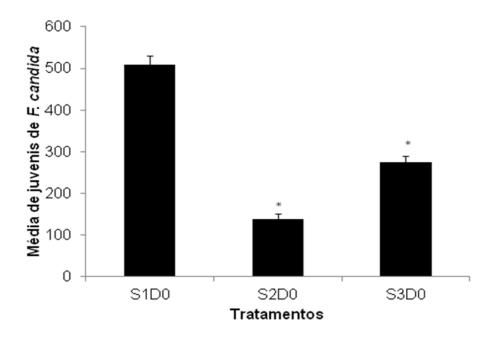


Figura 3.8 – Média de juvenis de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3), sem tratamento. *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (¬) Desvio padrão (n = 5)

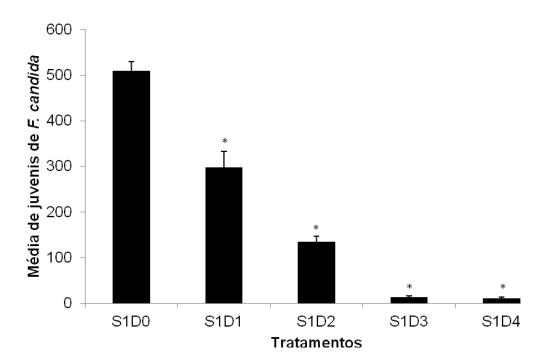


Figura 3.9 – Média de juvenis de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)

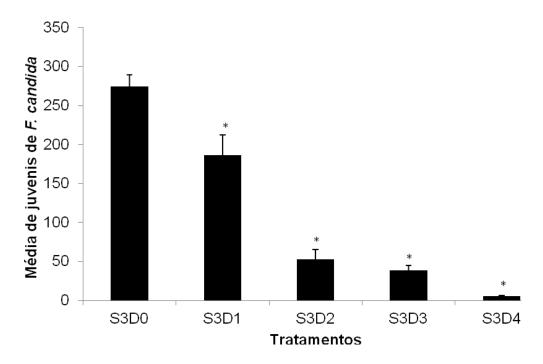


Figura 3.10 – Média de juvenis de *Folsomia candida* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)

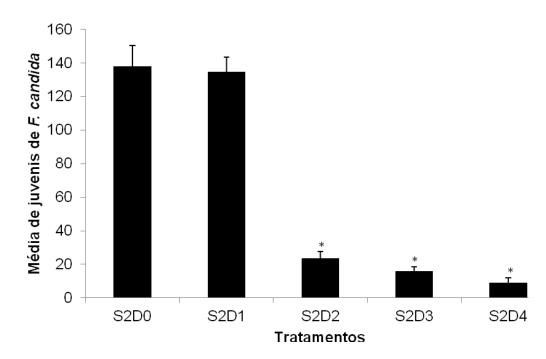


Figura 3.11 - Média de juvenis de *Folsomia candida* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). *Diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Dunnett. (T) Desvio padrão (n = 5)

O valor de LOEC de dejeto de suínos encontrado na avaliação da toxicidade crônica em SAT foi de 10 m 3 ha $^{-1}$ (D2), de NOEC de <10 m 3 ha $^{-1}$, e a EC $_{50}$

de 10,66 m³ ha⁻¹ com variação entre 9,91 e 11,40 m³ ha⁻¹ (Figura 3.12). No Latossolo Vermelho Distrófico o valor de LOEC encontrado nas foi de 10 m³ ha⁻¹ (D2), NOEC <10 m³ ha⁻¹ e o valor de EC $_{50}$ foi 11,11 m³ ha⁻¹ com intervalo de confiança de 10 -12 m³ ha⁻¹ (Figura 3.13). No Argissolo Vermelho Eutrófico a NOEC foi 10 m³ ha⁻¹, LOEC foi 15 m³ ha⁻¹ e o valor calculado de EC $_{50}$ foi de 11,92 m³ ha⁻¹, variando entre 10,68 e 13,1 m³ ha⁻¹ (Figura 3.14).

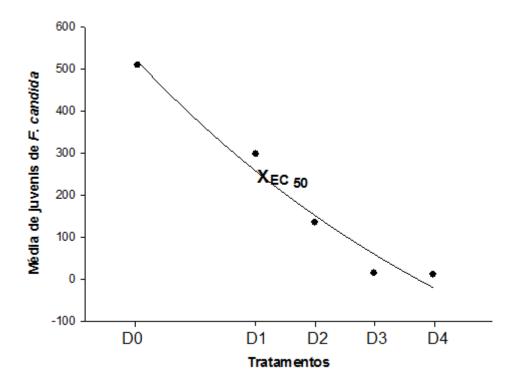


Figura 3.12 – Concentração efetiva (EC₅₀) para o teste de toxicidade crônica em solo artificial tropical tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹)

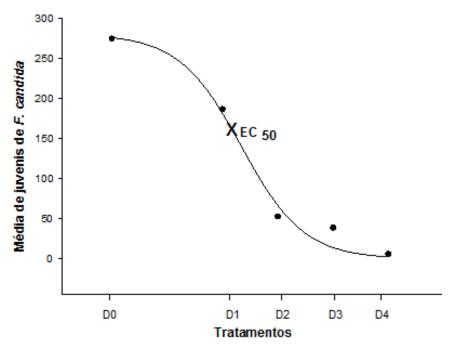


Figura 3.13 – Concentração efetiva EC₅₀ para o teste de toxicidade crônica em Latossolo Vermelho Distrófico tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹)

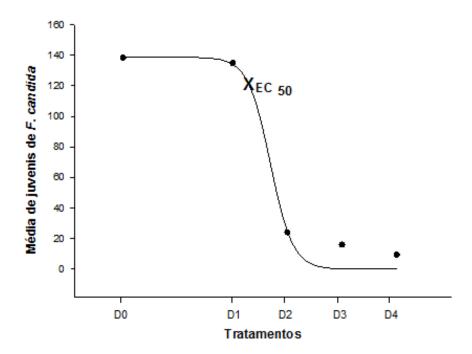


Figura 3.14 – Concentração efetiva EC₅₀ para o teste de toxicidade crônica em Argissolo Vermelho Eutrófico tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹)

Teste de comportamento – fuga

Resultados de fuga estão expressos em percentagem de fuga de indivíduos encontrados no solo contaminado. Nos "controles duplos", nos quais as duas secções dos recipientes foram preenchidas com solo sem adição de dejeto (D0), a distribuição dos indivíduos permaneceu dentro da faixa de 40 a 60% (faixa de distribuição determinada pela ISO 17512-1 (ISO, 2008)). Não foram encontradas diferenças significativas (p<0,05, *Fischer Exact Test*), tendo sido observada distribuição homogênea dos indivíduos nas duas seções, o que comprova que não houve preferência por um dos lados do recipiente.

Para o solo artificial tropical (S1) ocorreu preferência dos colêmbolos pelo solo contaminado e os valores foram significativos para as doses com adição de dejeto de suínos (D1, D2, D3 e D4) (p<0,05) (Tabela 3.1) (APÊNDICES AV e AX). Comportamento oposto foi observado no tratamento com Latossolo Vermelho Distrófico onde as doses testadas provocaram fuga dos organismos para o solo sem aplicação de dejeto (p<0,05) (Tabela 3.1) (APÊNDICES AV e AX). O valor de EC₅₀ calculado para este solo foi de 26,02 m³ ha⁻¹.

No Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), as duas menores doses (D1 e D2) adicionadas ao solo, aresentaram preferência significativa (p<0,05) dos organismos para o solo contaminado. No caso das duas doses mais elevadas (D3 e D4), houve fuga dos indivíduos do solo contaminado (Tabela 3.1) (APÊNDICES AV e AX). O valor de EC₅₀, calculado para este solo, foi de 28,85 m³ ha⁻¹.

Tabela 3.1 – Resposta de fuga para *Folsomia candida* em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1) e Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos. (n = 5)

Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos no	Fischer Exact
	solo tratado	Test
Solo Artificial Tropical		
0	50 <u>+</u> 1,87	n.s.
25	60,6 <u>+</u> 3,11	**
50	63,7 <u>+</u> 2,07	**
75	66,6 <u>+</u> 1,30	**
100	64,1 <u>+</u> 1,30	**
Argissolo		
0	51,8 <u>+</u> 2,30	n.s.
25	59,2 <u>+</u> 2,70	**
50	50,5 <u>+</u> 1,73	**
75	37,2 <u>+</u> 1,34	*
100	33,7 <u>+</u> 1,30	*
Latossolo		
0	44,8 <u>+</u> 1,51	n.s.
25	40,4 <u>+</u> 1,51	*
50	47,7 <u>+</u> 1,94	*
75	40,4 <u>+</u> 2,16	*
100	37,2 <u>+</u> 2,91	*

n.s. Não significativo. Fischer Exact test (p<0,05).

3.2.3 Discussão

A avaliação dos solos sem adição de dejeto de suínos comparados com o solo artificial tropical apresentou letalidade de colêmbolos no Latossolo Vermelho Distrófico, e no caso do Neossolo Quartzarênico, a letalidade excedeu os limites da ISO para validação do teste, não permitindo que esse fosse usado para realização dos demais testes ecotoxicológicos. De acordo com Domene et al. (2011), para utilização de solo natural em testes ecotoxicológicos, esse deve satisfazer as exigências biológicas da espécie em questão. O menor conteúdo de matéria orgânica pode ter causado menor sobrevivência de colêmbolos no Neossolo Quartzarênico. Natal-da-Luz et al. (2008), em testes avaliando diferentes

^{*}Significativo. Fischer Exact test (p<0,05). Fuga do solo tratado.

^{* *}Significativo. Fischer Exact test (p<0,05). Preferência pelo solo tratado.

composições de argila e material orgânico em solo OECD encontraram significativa fuga de *F. candida* dos solos com teores de matéria orgânica menor que 2%.

Os resultados obtidos no teste de toxicidade aguda mostram que todas as doses avaliadas causaram significativa letalidade nos indivíduos, que pode ser explicada pela presença de Zn e Cu promovida pela adição das doses de dejeto. Domene; Alcañiz e Andrés (2007) avaliaram diferentes resíduos orgânicos adicionados ao solo artificial sobre a sobrevivência de colêmbolos e encontraram efeitos de letalidade quando aplicado dejeto de suínos (24 g de dejeto kg⁻¹ solo) e associaram os resultados à elevação das concentrações de Zn no substrato. Sandifer e Hopkin (1996); Natal-da-Luz; Ribeiro e Sousa (2004), avaliando solos contaminados com Zn, também observaram letalidade de *F. candida* quando comparados com solo sem contaminação. Scott-Fordsmand et al. (2004), avaliando um gradiente de contaminação de Cu, observaram significativa letalidade de *F. fimetaria* com aumento deste gradiente. Crouau e Pinelli (2008) mostram que a toxicidade de metais pode ser aumentada na presença de Zn. Van Gestel e Hesenbergen (1997) também encontraram uma aditividade no efeito tóxico do Cd quando avaliado conjuntamente com o Zn.

Já Crouau et al. (1999) associou a letalidade de colêmbolos às variações ocorridas no pH do meio, não indicando se essa variação foi de aumento ou redução. No presente estudo foi observada variação do pH, após 14 dias, de 5,7 no Argissolo Vermelho Eutrófico sem adição de dejeto para 6,2 na maior dose aplicada. Já para Latossolo Vermelho Distrófico esse aumento foi de 5,8 para 6,4 e no solo artificial tropical os valores foram de 6,2 para 6,5, variações estas que podem ter influenciado a sobrevivência dos colêmbolos.

Crouau et al. (2002) já alertava para a dificuldade de se avaliar toxicidade de compostos orgânicos, pois os testes com colêmbolos podem ter diferentes respostas devido a variações ocorridas no pH, teor de umidade e presença de alta quantidade de matéria orgânica. Desta maneira, é importante que sejam feitos mais de um teste para avaliar a toxidez de um resíduo e não apenas os de toxicidade aguda.

No teste de reprodução de colêmbolos para SAT, e Latossolo Vermelho Distrófico, todas as doses testadas causaram redução no número de juvenis gerados. Já para Argissolo Vermelho Eutrófico a D1 foi a única que não apresentou significativa redução na taxa de reprodução. Domene; Alcañiz e Andrés

(2007) avaliaram a toxicidade de sete diferentes resíduos orgânicos adicionados ao solo e o dejeto de suínos foi o que apresentou maior efeito negativo sobre a reprodução de *F. candida*. O valor de EC₅₀ por eles encontrado foi de 24 g de resíduo por kg de solo. No presente estudo o valor calculado de EC₅₀ foi de 10,6; 11,9 e 11,1 m³ ha³ para solo artificial tropical, Argissolo Vermelho Eutrófico e Latossolo Vermelho Distrófico, respectivamente, valores que equivalem a 5,3; 6 e 5,5 g kg⁻¹.

Efeitos da toxicidade de Zn em colêmbolos ainda são bastante discrepantes. Smit e Van Gestel (1995), avaliando a toxicidade de Cl_2Zn em F. candida, encontraram valores de EC_{50} de 1.240 a 1.705 μg de Zn g^{-1} de solo seco, em amostras após um ano de adição de Zn. Para amostras de solo recentemente contaminadas esses valores se alteram para 185 a 348 μg de Zn g^{-1} de solo natural (SMIT; VAN GESTEL, 1996). Já Van Gestel e Hensbergen (1997) encontraram valores de 626 μg de Zn g^{-1} de solo artificial, valores maiores que os encontrados no presente estudo 4,7; 4,9 e 4,9 g kg⁻¹ de solo natural seco para solo artificial tropical, Argissolo Vermelho Eutrófico e Latossolo Vermelho Distrófico, respectivamente.

Domene et al. (2011), avaliando 19 diferentes solos naturais, encontraram menores desempenhos reprodutivos nos solos associado à presença de maiores concentrações de N total. Para Domene; Alcañiz e Andrés (2007), compostos derivados de N são tóxicos à espécie *F. candida*, especialmente amônio, que devido a forma de condução do teste, pode acumular no recipiente. Esses recipientes eram abertos apenas uma vez por semana, permitindo a troca de ar, com o ambiente gasoso, tornando-se tóxico aos indivíduos.

Outra possível causa na redução de reprodução e causa de mortalidade em *F. candida* é a redução na taxa de alimentação. Em trabalho avaliando a inibição no consumo de alimento pelos indivíduos, foram encontrados resultados que mostravam uma redução de 72% no consumo de alimento com adição de 1g de dejeto de suíno térmicamente tratado, por kg de solo, e que essa inibição foi aumentada com aumento das doses de dejeto aplicada. Os autores correlacionaram a letalidade e perda de potencial reprodutivo à restrição na alimentação que o resíduo causou (Domene et al., 2007).

Variações no número de juvenis encontrados nos tratamentos com adição de dejeto de suínos podem, ainda, ter sido causadas pelo pH do ambiente. Os valores de pH após 28 dias para esse estudo podem ser observados na Tabela

3.2. Alguns autores afirmam que o pH tem influência negativa sobre a reprodução de colêmbolos (VAN GESTEL; VAN DIEPEN, 1997; CROUAU; CHENON; GISCLARD,1999 E GREENSLADE; VAUGHAN, 2003) e que a máxima reprodução está em um valor de pH próximo de 5,5, sendo essa reduzida com valores acima e abaixo deste. No entanto, no presente estudo, valores de pH em solos naturais não confirmam a hipótese de que o pH influencia a taxa de reprodução. No caso do SAT o aumento do valor de pH ocorrido está acima do limite máximo da faixa determinada pela ISO (5,5 a 6,5), podendo ter afetado a taxa de reprodução das minhocas nesse solo.

Tabela 3.2 – Valores de pH após 28 dias em solos com adição de dejeto de suínos

Valores de pH				
Doses de dejeto		•		
de suínos	Solo artificial	Argissolo Verm.	Latossolo Verm.	
(m³ ha ⁻¹)	tropical	Eutrófico	Distrófico	
0	6,20	5,70	5,80	
10	6,18	5,38	5,40	
15	6,89	5,36	5,52	
20	6,90	5,33	5,73	
25	7,00	5,60	5,88	

No SAT as doses avaliadas provocaram preferência dos organismos e relação ao solo sem adição de dejeto. Esse comportamento pode ter ocorrido por diferenças nas populações microbianas. De acordo com Domene et al. (2011), populações microbianas são importantes para determinar comportamento de colêmbolos, visto que esses organismos se alimentam de micro-organismos. Aumento na população microbiana pode ter sido causado pela adição de dejetos de suínos, no entanto esses parâmetros não foram avaliados nesse trabalho.

O comportamento de F. candida em Argissolo foi significativo (Tabela 3.1). As menores doses avaliadas causaram preferência dos organismos pelo solo contaminado, comportamento que não foi observado nas duas maiores doses (D3 e D4). Esses resultados mostram que em pequenas doses o dejeto de suíno não é tóxico, porém, com o aumento pode afetar o comportamento. De acordo com Andrés e Domene (2005) resíduos orgânicos mostram—se tanto como uma fonte de alimento

como um resíduo tóxico, tais autores observaram esse mesmo comportamento em testes com *F. candida*.

No Latossolo Vermelho Eutrófico todas as doses de dejeto de suínos causaram fuga significativa dos organismos. Greenslade e Vaughan (2003) afirmam que colêmbolos são capazes de evitar concentrações de Cu abaixo dos níveis que causam algum efeito tóxico e, segundo Natal-da-Luz; Ribeiro e Sousa (2004) esse mesmo comportamento pode ser esperado para o Zn.

A umidade é fator de grande relevância para a presença de colêmbolos em um ambiente (DOMENE et al., 2011). Além da toxicidade aparente do resíduo testado no presente estudo, os conteúdos de umidade podem ter contribuído para a fuga dos indivíduos dos solos contaminados, isso por que de acordo com Domene; Alcañiz e Andrés (2007) a capacidade de retenção de água em resíduos orgânicos é normalmente maior que a dos solos. Nesse estudo a umidade nos tratamentos foi corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água dos solos, podendo ter resultado diferenciado em ambiente com diferentes teores de umidade após a aplicação de dejetos de suínos.

3.3 Conclusões

Os resultados deste estudo mostram que doses de dejeto de suínos aplicadas aos solos naturais causam letalidade, redução na taxa de reprodução e fuga dos indivíduos da espécie *F. candida.*

Neossolo Quartzarênico não se mostrou apto ao uso em testes de ecotoxicidade com *F. candida*.

A menor dose de dejeto de suínos proposta no estudo (25 m³ ha⁻¹) causou significativa mortalidade nos colêmbolos em todos os solos testados.

As doses capazes de causar efeitos negativos aos organismos são menores que as recomendadas pela legislação do estado de Santa Catarina, reforçando a necessidade de realizar estudos sobre os efeitos da aplicação de dejeto de suíno como fertilizante agrícola sobre a fauna do solo.

Referências

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. 576p.

AGRESTI A. A Survey of exact inference for contingency tables, **Statistical Science**, Hayward, v. 7, p.131-153, 1992.

ANDRÉS, P.; DOMENE, X. Ecotoxicological and fertilizing effects of dewatered, composted and dry sewage sludge on soil mesofauna: a TME experiment. **Ecotoxicology**, [s.l], v. 14, p. 545–557, 2005.

BERNARDES, R.S.; SOARES, S.R.A. Fundamentos da Respirometria no controle de poluição da água e do solo. Brasília: Finatec, 2005. 164p.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - CQFSRS/SC. **Manual de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10 ed. Porto Alegre: SBCS/NRS, 2004. 400p.

CROUAU, Y.; CHENON, P.; GISCLARD, C. The use of *Folsomia candida* (Collembola Isotomidae) for the bioassay of xenobiotic substances and soil pollutants. **Applied Soil and Ecology**, Amsterdam, v. 12, p. 103–111, 1999.

CROUAU, Y.; GISCLARD, C.; PEROTTI, P. The use of Folsomia candida (Collembola Isotomidae) in bioassays of waste. **Applied Soil and Ecology,** Amsterdam, v. 19, p. 65–70, 2002.

CROUAU, Y.; PINELLI, E. Comparative ecotoxicity of three polluted industrial soils for the Collembola *Folsomia candida*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 71, p. 643-649, 2008.

DOMENE, X; ALCAÑIZ, J.M; ANDRÉS, P. Ecotoxicological of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida*. **Applied Soil Ecology**, Barcelona, v. 35, p. 461-472, 2007.

DOMENE, X; CHELINHO, S.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; ALCAÑIZ, J.M.; ANDRÉS, P.; RÖMBKE, J.; SOUSA, P. Influence of soil properties on the performance of *Folsomia candida:* implications for its use in soil ecotoxicology testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 30, p. 1-9, 2011.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

FAO/IFA. Food and Agriculture Organization/International Fertilizer Industry Association. Global estimates of gaseous emissions of NH3, NO and N2O from agricultural land. Rome, 2006. 106p.

Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina. FATMA. Instrução Normativa 11: Suinocultura. **FATMA.** Disponível em:

http://www.fatma.sc.gov.br/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=32 & ltemid=83>. Acesso em: 10 nov. 2011.

- GARCIA, M.V. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Germany:University of Bonn, 2004. 281p.(Ecology and Development Series).
- GREENSLADE, P.; VAUGHAN, G.T.A comparison of Collembola species for toxicity testing of Australian soils. **Pedobiologia**, Jena, v. 47, p. 171–179, 2003.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO-11268-1:** Soil quality Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) Pt1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate. Genève, Switzerland, 1993. 39p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO-11268-2:** Soil quality Effects of pollutants on earth-worms (*Eisenia fetida*) Pt 2: Method for the determination of effects on reproduction. Genève, Switzerland, 1998. 36p.
- ISO International Organization for Standardization. **ISO-11267**: Soil Quality Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. Genève, Switzerland, 1999. 20p.
- MATTIAS, J.L. Metais pesados em solos sob aplicação de dejetos líquidos de suínos em duas microbacias hidrográficas de Santa Catarina. 2006. 164p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- MELO, G.S.L. Avaliação da viabilidade da utilização do teste respirométrico de Bartha para determinar a biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares em solo tropical: caso do fenantreno. 2005. 191p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.
- NATAL-DA-LUZ, T.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J.P. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tools for site-specific assessment of polluted soils. **Environmental Toxicology and Chemstry,** Coimbra, v. 23, n. 9, p. 2188-2193, 2004.
- NATAL-DA-LUZ, T.; AMORIM, M.J.B.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J.P. Avoidance tests with earthworms and springtails: Defining the minimum exposure time to observe a significant response. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, n. 71, p.545-551, 2008.
- OECD Organization for Economic Co-operation and Development. **Earthworm Acute Toxicity Test.** Paris, 1984. 9p. (OECD Guideline for Testing of Chemicals ,207)
- SANDIFER, R.D.; HOPKIN, S.P. Effects of pH on the toxicity of cadmium, copper, lead and zinc to Folsomia candida Willem 1902 (Collembola) in a standard laboratory test system. **Chemosphere**, Oxford, v. 33, p. 2475–2486, 1996.
- SANTOS, R.C dos. **Aplicação de dejetos líquidos de suínos em solos: aspectos biológicos e químicos do percolado.** 2010. 91p. Dissertação (Mestre em Ciência do Solo) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide version 9.2 (software). Cary, 2008.
- SCHERER, E.E.; NESI, C.N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de

Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.34, p.1375-1383, 2010.

SCOTT-FORDSMAND, J.J.; KROGH P.H. The influence of application form on the toxicity of nonylphenol to *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 58, p. 294–299, 2004.

SIGMAPLOT. 2008. Systat: for windows version 10.0 (Software). 2008.

SMIT, C.E.; VAN GESTEL. C.A.M. Comparison of the toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida* in artificially contaminated and polluted field soils. **Applied Soil Ecology,** Barcelona, v. 3, p. 127–136, 1996.

SMIT, C.E.; VAN GESTEL, C.A.M. Influence of temperature and humidity fluctuations on the sensitivity of *Folsomia candida* (Collembola) for zinc. In: VAN DEN BRINK, W.J.; BOSMAN, R.; ARENDT, F. **Contaminated Soil**. Netherlands: Kluwer. 1995. chap 3, p. 645–646.

STATSOFT. **STATISTICA 7.0 (data analysis software system)**. [s.l]. 2004. Disponível em http://www.statsoft.com Acesso em: 15 dez. 2011.

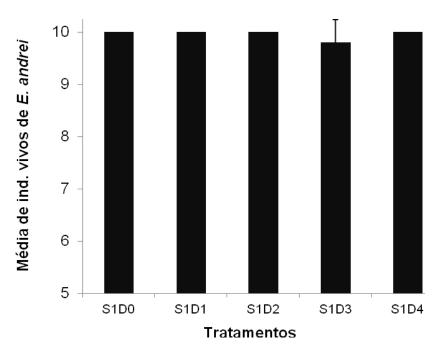
STÜTZER, G.:GUIMARÃES, G. Aspectos toxicológicos e ambientais relacionados com o uso de produtos fitossanitários. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.).**O que os Engenheiros Agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. Vicosa: UFV, 2003. p. 69-84.

UNIVERSITY OF TEXAS HEALTH SCIENCE CENTER. **ImageTool 3.0**. San Antonio, 2002.

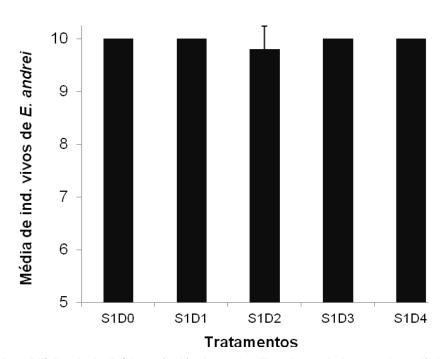
VAN GESTEL, C.A.M.; HENSEBERGEN, P.J. Interaction of Cd and Zn toxicity for *Folsomia candida* willem (collembolan: Isotomidae) in relation to bioavailability in soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 16, n. 6, p. 1177-1186, 1997.

VAN GESTEL, C.A.M.; VAN DIEPEN, A.M.F. The influence of soil moisture content on the bioavailability and toxicity of cadmium for *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety,** New York, v. 36, n. 2, p.123-132, 1997.

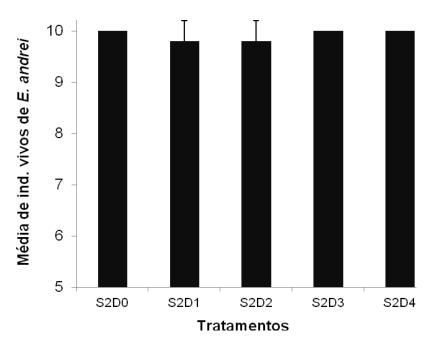
APÊNDICES



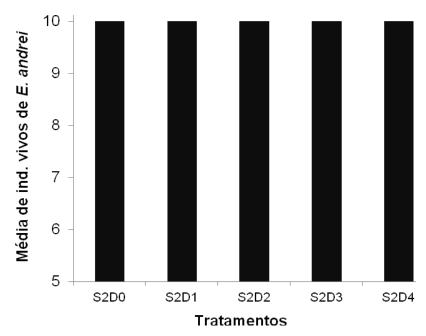
APÊNDICE A – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



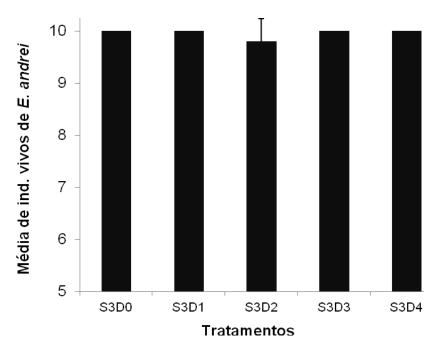
APÊNDICE B – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



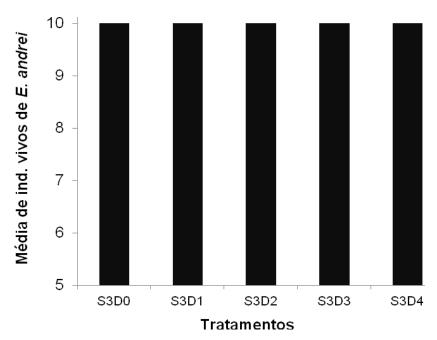
APÊNDICE C – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



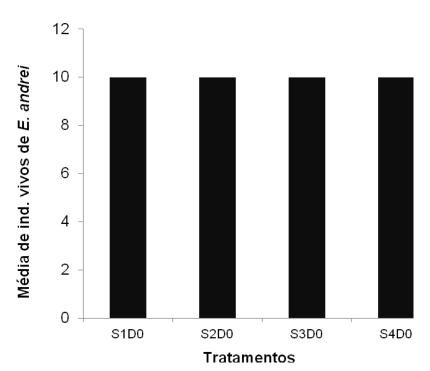
APÊNDICE D – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



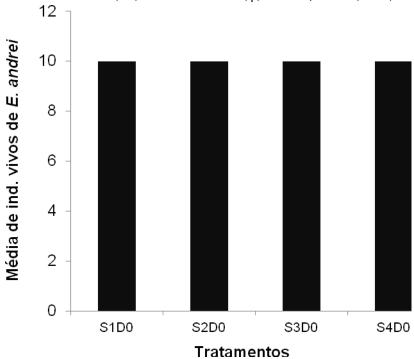
APÊNDICE E – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



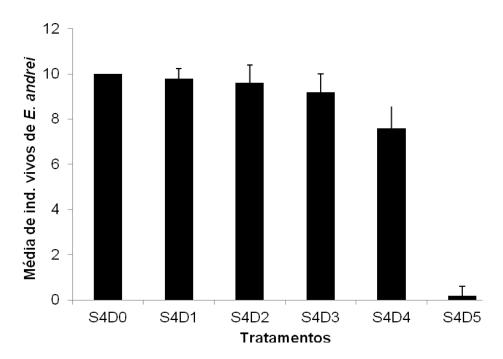
APÊNDICE F – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



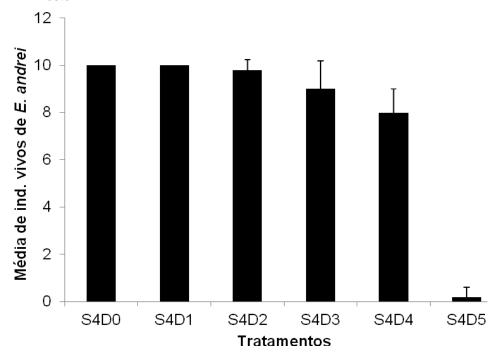
APÊNDICE G – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem tratamento. (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



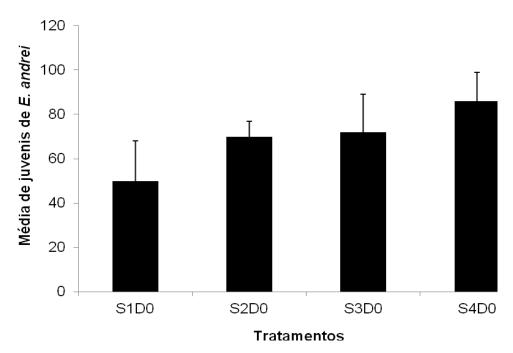
APÊNDICE H – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem tratamento. (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



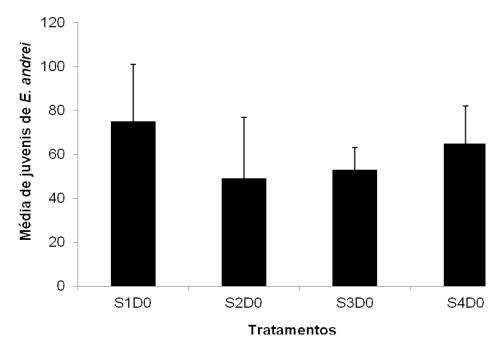
APÊNDICE I - Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹; D4: 60 m³ ha⁻¹ e D5: 75 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



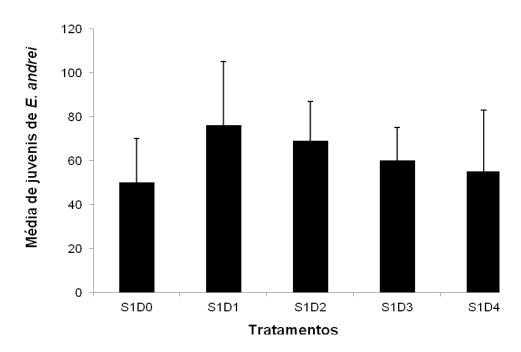
APÊNDICE J – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Eisenia andrei* em Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹; D4: 60 m³ ha⁻¹ e D5: 75 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



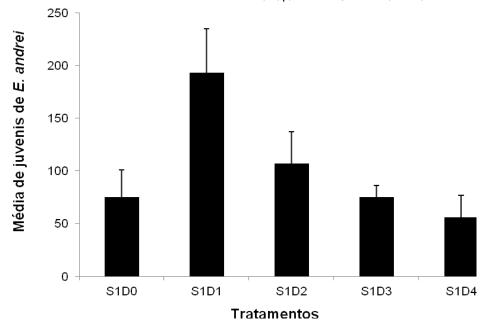
APÊNDICE K – Média de juvenis de *Eisenia andrei* solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem aplicação de dejeto de suínos (Dose zero - D0). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



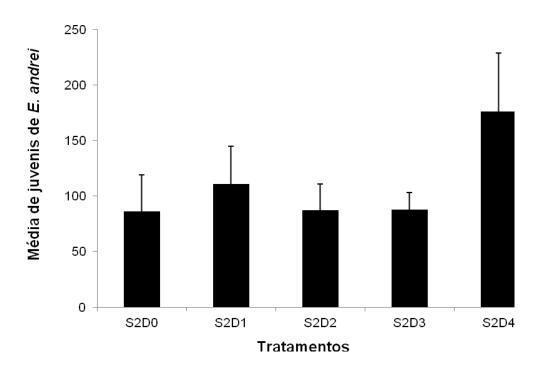
APÊNDICE L – Média de juvenis de *Eisenia andrei* solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem aplicação de dejeto de suínos (Dose zero - D0).. (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



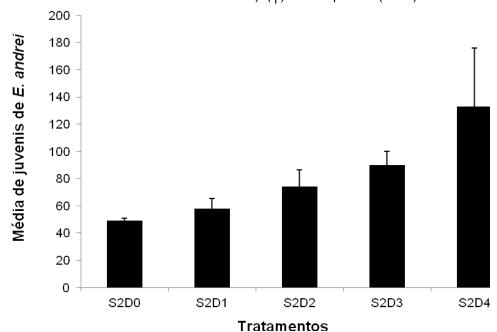
APÊNDICE M – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



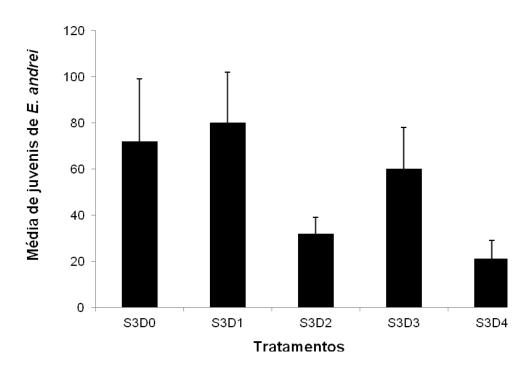
APÊNDICE N – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



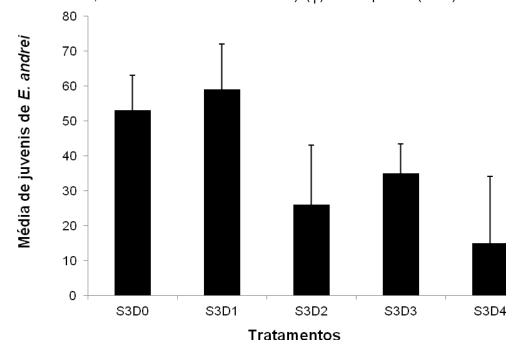
APÊNDICE O – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha¹; D1: 25 m³ ha¹; D2: 50 m³ ha¹; D3: 75 m³ ha¹ e D4: 100 m³ ha¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



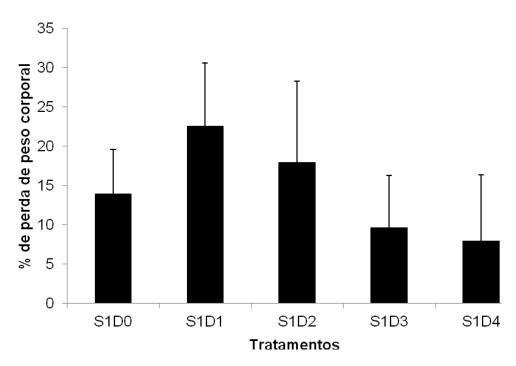
APÊNDICE P – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes. de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



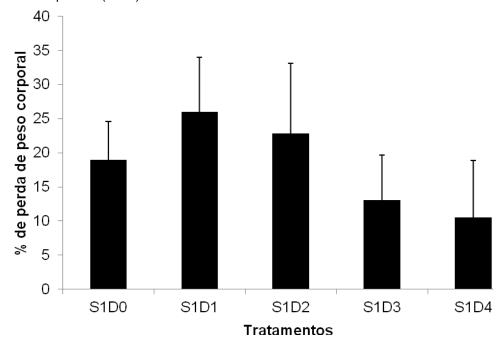
APÊNDICE Q – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



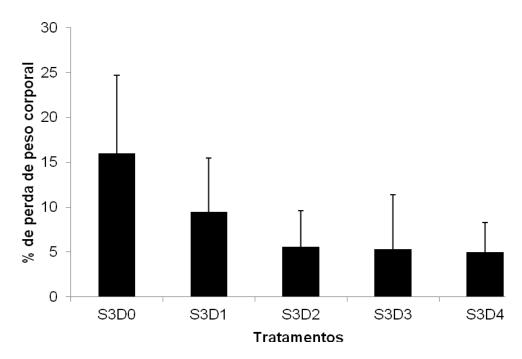
APÊNDICE Q – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



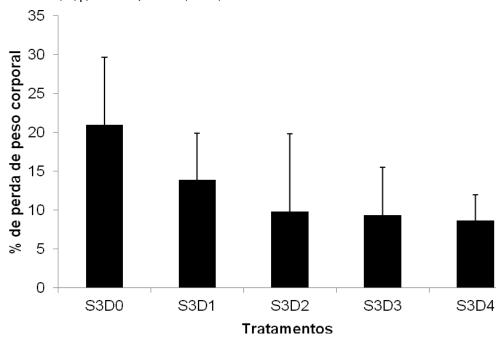
APÊNDICE R – Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



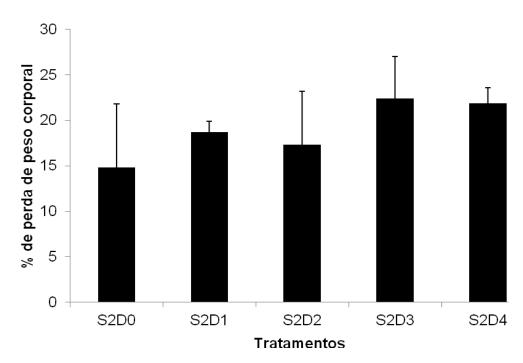
APÊNDICE S - Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



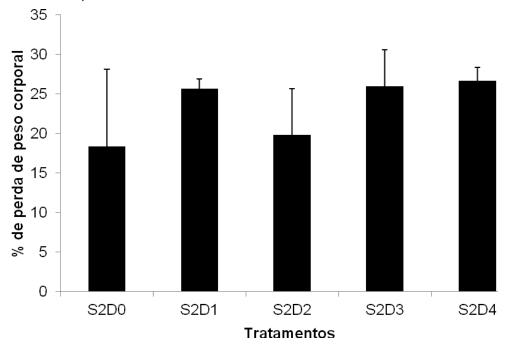
APÊNDICE T – Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



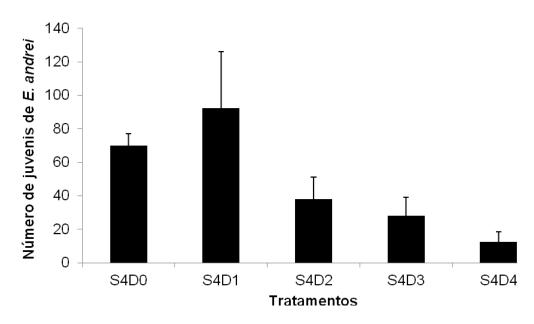
APÊNDICE U – Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



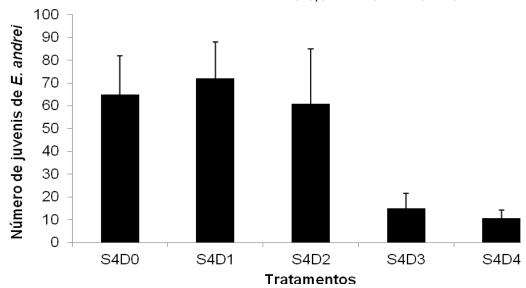
APÊNDICE V - Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Argissolo Vermelho Eutrófico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



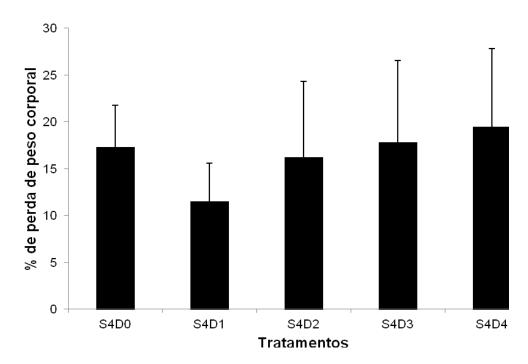
APÊNDICE X – Redução média de peso corporal (%) para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Argissolo Vermelho Eutrófico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



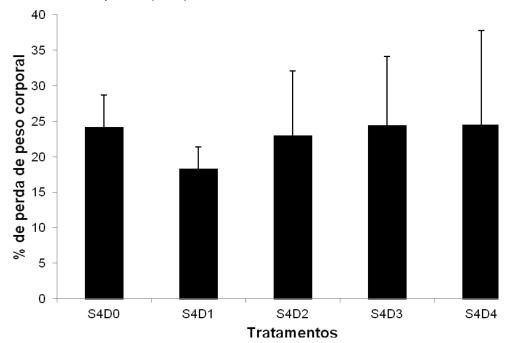
APÊNDICE W – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em solo Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



APÊNDICE Y – Média de juvenis de *Eisenia andrei* em solo Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



APÊNDICE Z – Redução média de peso corporal, (%), para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



APÊNDICE AA – Redução média de peso corporal (%), para *Eisenia andrei* após 28 dias de exposição ao Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 3

APÊNDICE AB – Resposta de fuga para *Eisenia andrei* em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). Teste 2

Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos
m ³ ha ⁻¹	no solo tratado
Solo Artificial Tropical	
0	52 <u>+</u> 0,83
25	54 <u>+</u> 1,51
50	85,7 <u>+</u> 0,89
75	94 <u>+</u> 0,54
100	85,1 <u>+</u> 1,30
Argissolo	
0	52 <u>+</u> 0,83
25	92 <u>+</u> 0,83
50	96 <u>+</u> 0,54
75	94 <u>+</u> 0,54
100	85 <u>+</u> 1,30
Latossolo	
0	48 <u>+</u> 1,67
25	96 <u>+</u> 0,54
50	98 <u>+</u> 0,44
75	94 <u>+</u> 0,54
100	52 <u>+</u> 1,92

APÊNDICE AC – Resposta de fuga para *Eisenia andrei* em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). Teste 3

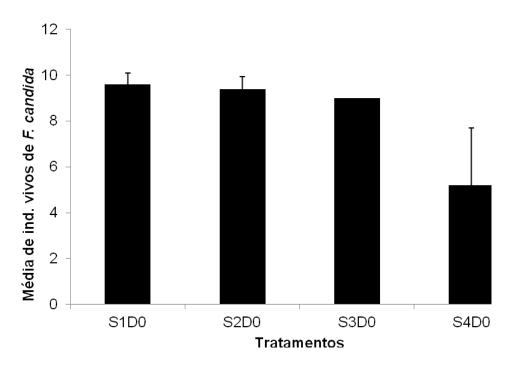
Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos
m³ ha ⁻¹	no solo tratado
Solo Artificial Tropical	
0	56 <u>+</u> 1,14
25	58 <u>+</u> 0,83
50	98 <u>+</u> 0,44
75	90 <u>+</u> 0,70
100	88 <u>+</u> 1,30
Argissolo	
0	50 <u>+</u> 2,34
25	98 <u>+</u> 0,44
50	92 <u>+</u> 1,30
75	92 <u>+</u> 0,44
100	88 <u>+</u> 0,83
Latossolo	
0	46 <u>+</u> 1,14
25	98 <u>+</u> 0,44
50	96 <u>+</u> 0,54
75	90 <u>+</u> 0,70
100	54 <u>+</u> 1,67

APÊNDICE AD – Resposta de fuga para *Eisenia andrei* em teste de comportamento com Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). Teste 2

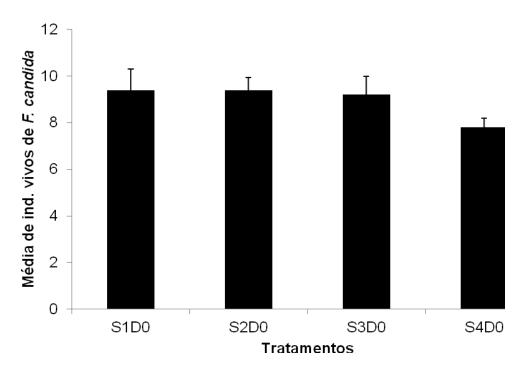
Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos
m ³ ha ⁻¹	no solo tratado
Neossolo	
0	45 <u>+</u> 2,30
15	47,5 <u>+</u> 1,30
30	11,25 <u>+</u> 0,74
45	8,7 <u>+</u> 0,83
60	6,2 <u>+</u> 0,70

APÊNDICE AE - Resposta de fuga para *Eisenia andrei* em teste de comportamento com Neossolo Quartzarênico (S4) tratado com crescentes doses de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 15 m³ ha⁻¹; D2: 30 m³ ha⁻¹; D3: 45 m³ ha⁻¹ e D4: 60 m³ ha⁻¹). Teste 3

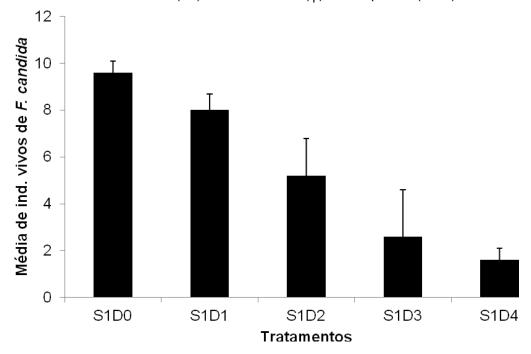
Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos
m ³ ha ⁻¹	no solo tratado
Neossolo	
0	50 <u>+</u> 0,70
15	32,5 <u>+</u> 0,89
30	8,7 <u>+</u> 0,54
45	5 <u>+</u> 0,89
60	2,5 <u>+</u> 0,44



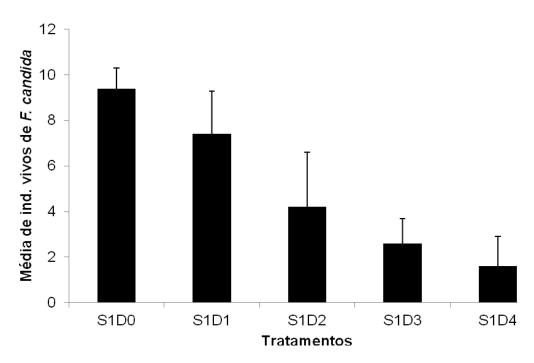
APÊNDICE AF – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem tratamento. (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



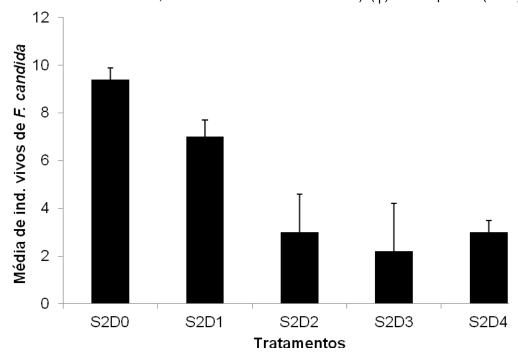
APÊNDICE AG – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2), Latossolo Vermelho Distrófico (S3) e Neossolo Quartzarênico (S4) sem tratamento. (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



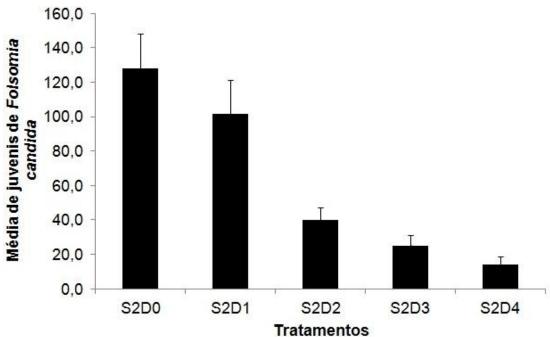
APÊNDICE AH – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1) contaminado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



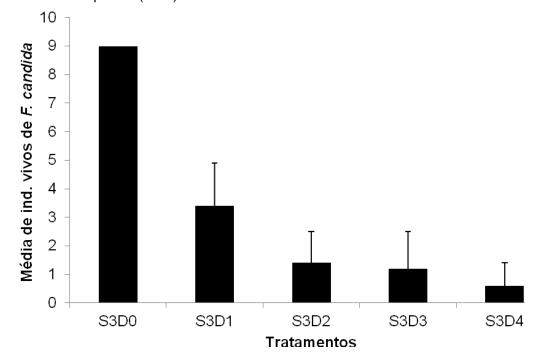
APÊNDICE AI – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



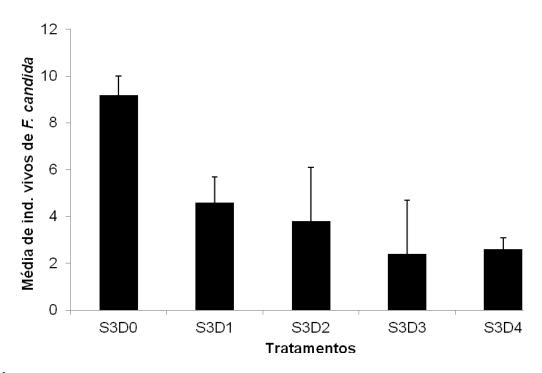
APÊNDICE AJ – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



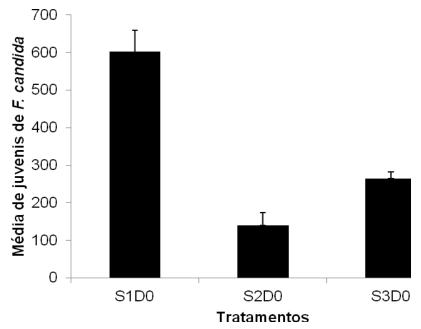
APÊNDICE AK – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



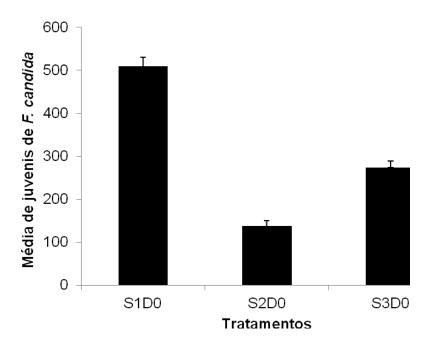
APÊNDICE AL – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 25 m³ ha⁻¹; D2: 50 m³ ha⁻¹; D3: 75 m³ ha⁻¹ e D4: 100 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



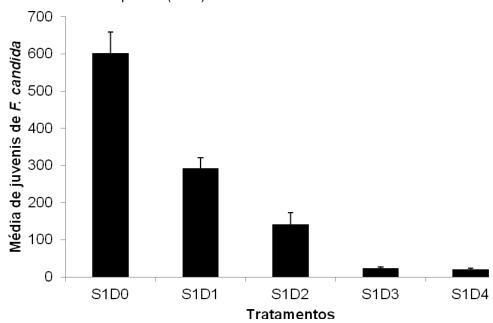
APÊNDICE AM – Média de indivíduos (ind.) vivos de *Folsomia candida* em Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha¹; D1: 25 m³ ha¹; D2: 50 m³ ha¹; D3: 75 m³ ha¹ e D4: 100 m³ ha¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



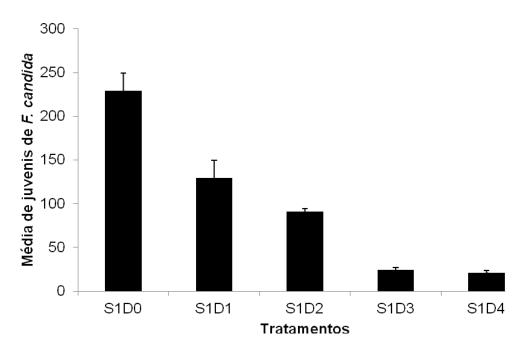
APÊNDICE AN – Média de juvenis de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) sem tratamento. (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



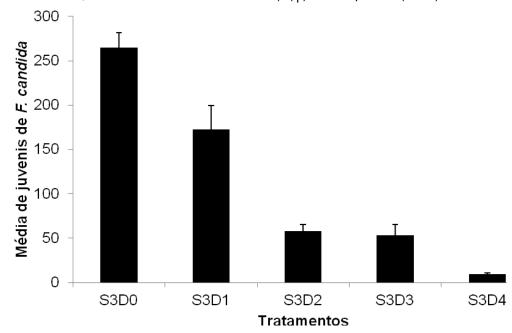
APÊNDICE AO – Média de juvenis de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1), Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) e Latossolo Vermelho Distrófico (S3) sem tratamento. (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



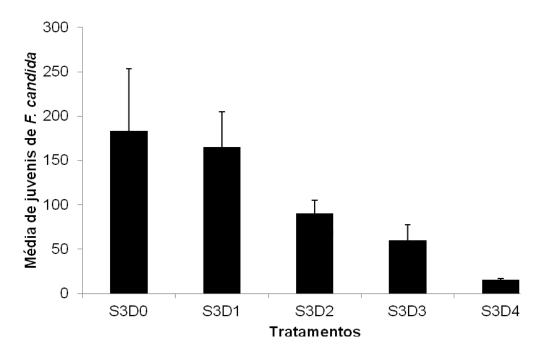
APÊNDICE AP – Média de juvenis de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



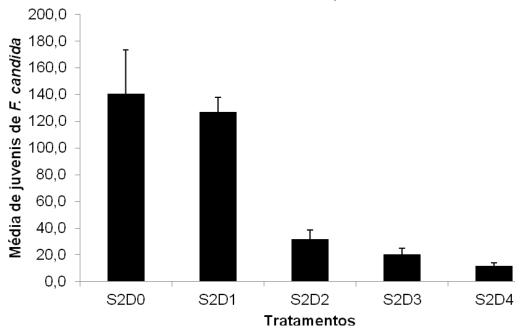
APÊNDICE AQ – Média de juvenis de *Folsomia candida* em solo artificial tropical (S1) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



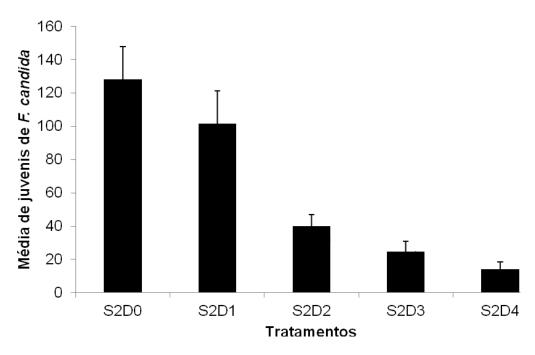
APÊNDICE AR – Média de juvenis de *Folsomia candida* Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



APÊNDICE AS – Média de juvenis de *Folsomia candida* Latossolo Vermelho Distrófico (S3) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 3



APÊNDICES AT – Média de juvenis de *Folsomia candida* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). (¬) Desvio padrão (n = 5). Teste 2



APÊNDICE AU – Média de juvenis de *Folsomia candida* em Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratado com doses crescentes de dejeto de suínos (D0: 0 m³ ha⁻¹; D1: 10 m³ ha⁻¹; D2: 15 m³ ha⁻¹; D3: 20 m³ ha⁻¹ e D4: 25 m³ ha⁻¹). (T) Desvio padrão (n = 5). Teste 3

APÊNDICE AV – Resposta de fuga para *Folsomia candida* em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1) e Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos. Teste 2

Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos no
m³ha ⁻¹	solo tratado
Solo Artificial Tropical	
0	50 <u>+</u> 1,87
25	59,5 <u>+</u> 1,41
50	65,5 <u>+</u> 3,03
75	66,6 <u>+</u> 1,30
100	63,6 <u>+</u> 1,92
Argissolo	
0	51,8 <u>+</u> 2,30
25	57,6 <u>+</u> 1,22
50	51,1 <u>+</u> 1,73
75	36,3 <u>+</u> 1,34
100	32,9 <u>+</u> 1,81
Latossolo	
0	44,8 <u>+</u> 1,51
25	38,4 <u>+</u> 2,91
50	48,9 <u>+</u> 1,73
75	39 <u>+</u> 2,16
100	38 <u>+</u> 2,91

APÊNDICE AX - Resposta de fuga para *Folsomia candida* em teste de comportamento com solo artificial tropical (S1) e Argissolo Vermelho Eutrófico (S2) tratados com crescentes doses de dejeto de suínos. Teste 3

Doses de dejeto de suínos	% de indivíduos no
m ³ ha ⁻¹	solo tratado
Solo Artificial Tropical	
0	50,5 <u>+</u> 1,78
25	62 <u>+</u> 3,11
50	62,5 <u>+</u> 1
75	64,1 <u>+</u> 1,87
100	62,7 <u>+</u> 1,30
Argissolo	
0	48,9 <u>+</u> 2,12
25	58,2 <u>+</u> 1,78
50	48,3 <u>+</u> 1,51
75	36,3 <u>+</u> 1,34
100	34,9 s 1,30
Latossolo	
0	48,4 <u>+</u> 1,14
25	38,4 <u>+</u> 1,41
50	49,4 <u>+</u> 1,78
75	39 <u>+</u> 1,34
100	38,9 <u>+</u> 2,40