

JOSIELI PIETRO BIASI

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ADIÇÃO DE RESÍDUO INDUSTRIAL DE
PAPEL E CELULOSE (*DREGS*) EM SOLOS DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Ciência do Solo**.

Orientador: Dr. Dilmar Baretta

**Lages, SC, Brasil
2017**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Pietro Biasi, Josieli

Avaliação ecotoxicológica da adição de resíduo
industrial de papel e celulose (Dregs) em solos de Santa
Catarina / Josieli Pietro Biasi. - Lages , 2017.

140 p.

Orientador: Dilmar Baretta

Co-orientador: Jose Paulo de Sousa Co-

orientador: Osmar Klauberg Filho

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,

Programa de Pós-Graduação em
Ciência Do Solo, Lages, 2017.

1. resíduo industrial. 2. risco ecológico. 3. solos
naturais. I. Baretta, Dilmar. II. Sousa, Jose Paulo de.
Klauberg Filho, Osmar.III. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC/CAV
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo

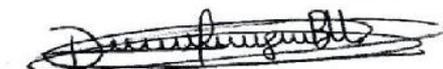
A Comissão Examinadora,
abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ADIÇÃO DE RESÍDUO INDUSTRIAL DE
PAPEL E CELULOSE (DREGS) EM SOLOS DE SANTA CATARINA**

Elaborada por
Josieli Pietro Biasi

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência do Solo

Comissão Examinadora:



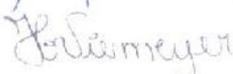
Dr. Dilmar Baretta
(Presidente/Orientador) (UDESC Oeste)



Dr. José Paulo de Sousa
(Membro Externo) (Universidade de Coimbra, Portugal)



Dr. Osmar Klauberg Filho
(Membro Interno) (UDESC/CAV)



Dra. Julia Carina Niemeyer
(Membro Externo) (UFSC)

Lages, 21 de julho de 2017.

A minha família, aos meus pais Deoclides e Hilda, a minha irmã e melhor amiga Grasieli, e a minha avó Delvina, pelo amor incondicional, luta e apoio durante todo o tempo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as forças superiores por essa conquista, oportunidade de aprendizado e crescimento pessoal.

Aos meus pais Deoclides e Hilda por estarem sempre ao meu lado, lutando, ensinando e acreditando sempre em mim. Serei eternamente grata.

A minha irmã Grasieli pela amizade, amor, carinho e todo o seu apoio nos momentos difíceis.

A minha avó Delvina pelos ensinamentos e conselhos de vida, pelo amor, compreensão e preocupação.

Ao professor orientador Dr. Dilmar Baretta, pela confiança, amizade, orientação e oportunidades proporcionadas.

Aos professores orientadores Dr. Osmar Klauberg Filho pela orientação, amizade, grandes oportunidades e disponibilidade de laboratório e material, e ao Dr. José Paulo Sousa pela orientação e sugestões durante o trabalho.

A Professora Dr. Mari Lucia Campos, pela ajuda, amizade, conselhos e por sempre acreditar em mim.

Aos irmãos que Lages me presenteou Luana, Amanda S, Amanda L, Deyvis, Felipe M, Felipe S, Eliana, Danielle O, Daniela T, Daniela O, Ângela, Amanda e Sibila por estarem sempre comigo, pela amizade sincera e confortante a qual sem não seria nada.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia do Solo, os velhos e os novos, agradeço a TODOS.

A UDESC, principalmente ao CAV e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo por me permitir cursar Pós-Graduação com ensino de alta qualidade. Aos professores do Departamento de Solos pelos ensinamentos nas disciplinas, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido através da bolsa de estudo.

Enfim, agradeço a todos que de alguma maneira colaboraram para a construção deste trabalho.

OBRIGADA!!!

“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram, mas na intensidade com que elas acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo
Universidade do Estado de Santa Catarina

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ADIÇÃO DE RESÍDUO INDUSTRIAL DE PAPEL E CELULOSE (*DREGS*) EM SOLOS DE SANTA CATARINA

AUTOR: Josieli Pietro Biasi
ORIENTADOR: Dilmar Baretta
Lages, 21 de Julho de 2017

A produção das indústrias de papel e celulose aumentou e junto a isso a quantidade de resíduos oriundos do processo de produção destas empresas, que acabam gerando preocupações quanto à destinação adequada destes materiais. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de concentrações de resíduos de indústria de papel e celulose (*dregs*) em dois solos (Cambissolo Háplico distrófico e Neossolo Quartzarênicos Órtico típico) sobre a letalidade e reprodução de minhocas (*Eisenia andrei*), colêmbolos (*Folsomia candida*), enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*), na germinação de aveia (*Avena strigosa*) e nabo (*Brassica rapa*). Para os ensaios de toxicidade aguda e germinação utilizaram-se as concentrações de 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100% de *dregs*, e com base nos resultados destes ensaios, foram calculadas as concentrações para os ensaios de toxicidade crônica para os organismos. Os ensaios foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado. Foi evidenciada a maior toxicidade aguda em *E. andrei*, seguidos dos *F. candida* e *E. crypticus*. Já nos ensaios de toxicidade crônica, os *F. candida* se mostraram mais sensíveis às concentrações, resultando em CE₅₀ (Concentração Efetiva para 50% dos organismos) de 4,7% para o Cambissolo e menor que 1% para o Neossolo, seguidos por *E. andrei* (13,7 e 6,5%) e *E. crypticus* (19,5 e 6,7%), respectivamente. Já para as plantas houve inibição total da germinação das sementes de *A. strigosa* e *B. rapa* em concentrações acima de 40%, independentemente do solo. A maior toxicidade pela aplicação de *dregs* foi encontrada no Neossolo em comparação ao Cambissolo para todos os ensaios. Entretanto, a deposição inadequada de *dregs* afeta negativamente a qualidade dos solos, percebida pela alta toxicidade dos organismos e na germinação de plantas em concentrações elevadas do resíduo, bem como as características específicas de cada solo influenciam nos efeitos deletérios que o resíduo pode causar aos ecossistemas terrestres.

Palavras-chave: resíduo industrial, risco ecológico, solos naturais.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em
Universidade do Estado de Santa Catarina

ECOTOXICOLOGICAL EVALUATION OF THE ADDITION OF INDUSTRIAL WASTE OF PAPER AND CELLULOSE (*DREGS*) IN SOILS OF SANTA CATARINA

AUTHOR: Josieli Pietro Biasi

ADVISER: Dilmar Baretta

Lages, July 21, 2017

The production of pulp and paper industries has increased drastically, and along with this the amount of waste from the production process of these companies, which end up generating large concerns about the proper destination of these materials. In this sense, the objective of this study was to evaluate the effect of the addition of industrial waste of paper and cellulose (*dregs*) on two soils (Dystrophic Haplic Cambisol and typic Orthic Quartzarenic Neosol), on the survival and reproduction as earthworms (*Eisenia andrei*), springtails (*Folsomia candida*), enchytraeids (*Enchytraeus crypticus*), and the germination of oats (*Avena strigosa*) and turnip (*Brassica rapa*). For the lethality and germination assays, concentrations of 0, 10, 20, 40, 60, 80 and 100% of *dregs* were used, and based on the results of these tests, the concentrations for the replication tests were calculated for the organisms. The tests were conducted in completely randomized experimental design. Showed a higher mortality of *E. andrei*, followed by the *F. candida* and *E. crypticus*. In the chronic toxicity tests, the *F. candida* were more sensitive to the concentrations, resulting in EC₅₀ (Effective Concentration for 50% of organisms) of 4.7% for the Cambisol and less than 1% for the Neosol, followed by the *E. andrei* (13.7 and 6.5%) and the *E. crypticus* (19.5 and 6.7%), respectively. For plants, there was a total inhibition of germination of *A. strigosa* and *B. rapa* seeds at concentrations above 40%, independently of the soil. The highest toxicity by application of *dregs* was found in the Neosol in comparison to Cambisol for all the evaluated tests. However, the inadequate deposition of *dregs* negatively affects the quality of the soils, perceived by the high sensitivity of the organisms and the germination of plant at high concentrations of the residue, as well as the specific characteristics of each soil influence deleterious effects that the waste can cause to terrestrial ecosystems.

Keywords: industrial waste, ecological risk, natural soils.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1 Vista do ensaio de toxicidade aguda com *E. andrei*, demonstrado minhocas adultas aclimatadas em solo natural (A), limpeza e quantificação de peso corporal de cada organismo (B), solo natural na concentração de 40% de *dregs* (C) e retirada e contagem dos organismos sobreviventes no final do ensaio (D).58
- Figura 3.2 *E. andrei* vivos após 14 dias em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão61
- Figura 3.3 Vista do interior do recipiente na concentraçõesde 40% aplicados no Neossolo62
- Figura 3.4.Reprodução (Rep.) de *E. andrei* após 28 dias em Cambissolo (A),com as concentrações de 0, 1, 2, 3, 5, 9 e 15% de *dregs* e em Neossolo (B) com as concentrações de 1, 1,5, 2,5, 4, 6,5, e 10%. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett (⊥) Desvio padrão.63
- Figura 3.5. Redução média de peso corporal (%) para *E. andrei* após 28 dias de exposição nas concentrações de 0,1, 2, 3, 5, 9 e 15% para Cambissolo (A) e nas concentrações 1, 1,5, 2,5 4, 6,5 e 10% para Neossolo (B). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett (⊥) Desvio padrão.....64
- Figura 4.1. Toxicidade crônica com *E. crypticus*, demonstrando a retirada dos organismos clitelados do meio de cultura (SAT) (A), detalhe do ensaio com solo natural (B), término do ensaio com álcool e corante rosa bengala (C) e visão dos organismos na lupa para contagem (D)..... 83
- Figura 4.2. *E. crypticus* vivos após 14 dias em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com contrações cencrescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão85
- Figura 4.3. Reprodução (rep) de *E. cryptidicus* após 28 dias em Cambissolo (A), com as concentrações de 0, 1, 2, 4, 10, 20 e 40% de *dregs*, e em Neossolo (B), com as concentrações de 0, 1, 4, 6, 10, e 20%. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett (⊥) Desvio padrão..87
- Figura 5.1. *F. candida* vivos após 14 dias em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão 104
- Figura 5.2. Vista do interior do recipiente na concentração de 2% aplicada no Neossolo..... 105
- Figura 5.3. Reprodução (rep) de *F. candida* após 28 dias em Cambissolo (A), com as concentrações de 0, 1, 2, 4, 8, 15 e 30% de *dregs* e em Neossolo (B), com as concentrações de 0, 1, 2, 2, 5, 9, e 15%. Os asteriscos indicam

diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett (\top) Desvio padrão	106
Figura 6.1. Vista do ensaio de germinação em sementes de <i>B. rapa</i> com concentrações crescentes de <i>dregs</i> da esquerda para direita (SAT, 0, 10, 20, 40, 60 e 80%) no Cambissolo (A) e no Neossolo (B).....	121
Figura 6.2. Germinação (germ) de <i>B. rapa</i> em Cambissolo (A) e Neossolo (B), contaminados com concentrações crescentes de <i>dregs</i> (0, 10, 20, 40, 60 e 80%) 10 dias após a germinação de 50% das sementes das amostras controles. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p <$ 0,05) pelo teste de Dunnett. (\top) Desvio padrão.....	123
Figura 6.3. Germinação (germ) de <i>A. strigosa</i> em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com concentrações crescentes de <i>dregs</i> (0, 10, 20, 40, 60 e 80%) 10 dias após a germinação de 50% das sementes das amostras controles. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p <$ 0,05) pelo teste de Dunnett. (\top) Desvio padrão.....	124

LISTA DE TABELAS

- Tabela 3.1. Valores de pH (KCl) e condutividade elétrica (C.E.) dos ensaios de toxicidade crônica com *E. andrei* para o Cambissolo e para Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (56 dias após).65
- Tabela 4.1 Valores de pH (KCl) e condutividade elétrica (C.E.) dos ensaios de toxicidade crônica com *E. crypticus* para o Cambissolo e para Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (28 dias após).....88
- Tabela 5.1 Valores de pH (KCl) e condutividade elétrica (C.E.) dos ensaios de toxicidade crônica com *F. candida* para o Cambissolo e para Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (28 dias após). 107

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	HIPÓTESES	28
1.2	OBJETIVOS	28
1.2.1	Objetivo Geral	28
1.2.2	Objetivos Específicos	29
2	REVISÃO LITERÁRIA	31
2.1	RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE (<i>DREGS</i>)	31
2.2	PROCESSO POLPA <i>KRAFT</i>	31
2.3	DESTINO FINAL DO RESÍDUO DAS INDÚSTRIAS	33
2.4	ELEMENTOS TRAÇOS NO SOLO	34
2.5	A ECOTOXICOLOGIA	35
2.5.1	Histórico da ecotoxicologia	37
2.5.2	Ensaio de ecotoxicidade	38
2.6	REFERÊNCIAS	43
3	CAPITULO I - ECOTOXIDADE DE RESÍDUO CELULÓSICO (DREGS) PARA <i>EISENIA ANDREI</i> EM SOLOS DE SANTA CATARINA	51
	RESUMO	51
3.1	INTRODUÇÃO	53
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	55
3.2.1	Origem e caracterização dos solos	55
3.2.2	O <i>dregs</i>	56
3.2.3	Ensaio de ecotoxicidade	56
3.2.3.1	Toxicidade aguda - letalidade	57
3.2.3.2	Toxicidade crônica – reprodução	58
3.2.3.3	Análise estatística	59
3.3	RESULTADOS	59
3.3.1	Validação dos ensaios	59
3.3.2	Toxicidade aguda- letalidade	60
3.3.3	Toxicidade crônica – reprodução	62
3.4	DISCUSSÃO	65
3.5	CONCLUSÕES	70
3.6	REFERÊNCIAS	71
4	CAPITULO II - EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE RESÍDUO DE CELULOSE E PAPEL (<i>DREGS</i>) SOBRE <i>ENCHYTRAEUS CRYPTICUS</i> (OLIGOCHETA, ENCHYTRAEIDAE)	77
	RESUMO	77
4.1	INTRODUÇÃO	79
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	80
4.2.1	Origem e caracterização dos solos	80
4.2.2	O <i>dregs</i>	80
4.2.3	Ensaio de ecotoxicidade	81
4.2.3.1	Toxicidade aguda - letalidade	81
4.2.3.2	Toxicidade crônica – reprodução	82

4.2.3.3	Análise estatística	83
4.3	RESULTADOS	84
4.3.1	Validação dos ensaios	84
4.3.2	Toxicidade aguda- letalidade	84
4.3.3	Toxicidade crônica – reprodução	86
4.4	DISCUSSÃO	88
4.5	CONCLUSÕES	91
4.6	REFERÊNCIAS	92

5 CAPITULO III - EFEITO DA APLICAÇÃO DE DREGS SOBRE A LETALIDADE E REPRODUÇÃO DE *FOLSOMIA CANDIDA* EM SOLOS DE SANTA CATARINA..... 97

RESUMO	97	
5.1	INTRODUÇÃO	99
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	100
5.2.2	Origem e caracterização dos solos	100
5.2.1	O <i>dregs</i>	100
5.2.3	Ensaio de ecotoxicidade	101
5.2.3.1	Toxicidade aguda - letalidade	101
5.2.3.2	Toxicidade crônica – reprodução	102
5.2.3.3	Análise estatística	102
5.3	RESULTADOS	103
5.3.1	Validação dos ensaios	103
5.3.2	Toxicidade aguda- letalidade	103
5.3.3	Toxicidade crônica – reprodução	105
5.4	DISCUSSÃO	107
5.5	CONCLUSÕES	111
5.6	REFERÊNCIAS	111

6 CAPITULO IV - EFEITOS DE DA APLICAÇÃO DE DREGS SOBRE A GERMINAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES DE INTERESSE AGRÍCOLA (*BRASSICA RAPA* E *AVENA STRIGOSA*) EM SOLOS DE SANTA CATARINA..... 117

RESUMO	117	
6.1	INTRODUÇÃO	119
6.2	MATERIAL E MÉTODOS	120
6.2.1	Origem e caracterização dos solos	120
6.2.2	O <i>dregs</i>	120
6.2.3	Ensaio de germinação	121
6.2.3.1	Análise estatística	121
6.3	RESULTADOS	122
6.3.1	Ensaio de ecotoxicidade - validação	122
6.3.2	Ensaio de germinação	122
6.4	DISCUSSÃO	125
6.5	CONCLUSÕES	128
6.6	REFERÊNCIAS	128

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 133

8 APÊNDICES..... 135

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos líderes mundiais na produção de celulose. Em 2016 apresentou um crescimento médio de 8,1% na produção anual, muito acima da média mundial (2,2%), correspondendo a uma produção de 13,3 milhões de toneladas de celulose e 9,4 milhões de toneladas de papel, o que rebate a 4,1% do PIB (Produto Interno Bruto) do país (DEPEC, 2017). Essa elevada produção faz com que o Brasil ocupe a posição de sexto maior produtor mundial de celulose, nono na produção de papel e líder na produção de celulose de fibra curta (TOLEDO et al., 2015). Essa elevada produção e a busca por produtos melhores acarretam em uma alta geração de resíduos (ANHAIA, BORSZOWSKI, 2012).

Dentre os principais resíduos gerados pelas indústrias de papel e celulose destacam-se a casca da madeira, o lodo da estação de tratamento de esgoto, o resíduo celulósico, a cinza de caldeira resultante da queima de biomassa, a lama de cal, o *dregs* e o *grits* (expressões que podem ser traduzidas como borra) (SILVA et al., 2009; GOLMAEI et al., 2017). Bellote et al. (1998) destacam que dentro da produção de celulose e papel, para cada 100 toneladas produzidas são geradas aproximadamente 50 toneladas entre sólidos, efluentes hídricos e gases.

A destinação dos resíduos gerados é um dos principais desafios enfrentados pelas indústrias, que buscam encontrar alternativas de reaproveitamento deste material, com intuito de minimizar os riscos ecológicos causados pela má deposição e pelo excesso de resíduos cujo destino final é os aterros sanitários e industriais (MACIEL et al., 2015; KRISTANTO, ASALOEI, 2017). De modo geral, os resíduos das indústrias de papel e celulose são enquadrados, segundo a norma NBR 10004 (2004) como classe II – materiais não inertes. No entanto, o *dregs* possuem valores de pH entre 10,5 – 13,3, que permite enquadrá-los na classe maior periculosidade, ou seja, na classe I – a de materiais corrosivos (MACIEL et al., 2015).

O *dregs* vem sendo disposto no solo como alternativa para adubação e calagem em culturas agrícolas, uma vez que este resíduo possui altos teores de matéria orgânica, além de características químicas similares as do calcário calcítico (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007b). Não obstante, o aproveitamento deste resíduo na agricultura, potencializado como condicionante

químico, físico e biológico do solo, beneficia desenvolvimento de plantas de interesse agrícola e florestal (ANHAIA, BÖRSZOWSKI, 2012).

Por outro lado, a aplicação de *dregs* no solo é limitada devido à elevada carga de sódio presente neste material. Uma vez que concentrações elevadas provocam a perda da qualidade do solo devido ao deslocamento do Ca e Mg, dispersão das argilas e diminuição da permeabilidade (TRIGUEIRO, 2006), além de ser altamente prejudicial a fauna edáfica. Adicionalmente a utilização de resíduos industriais na agricultura como fontes alternativas na correção de acidez do solo e na adubação podem ser uma fonte de contaminação, devido à grande concentração de condicionantes químicos encontrada em sua composição (CAMPOS et al., 2005).

Por ser tratar de um resíduo de origem industrial, o *dregs* pode conter concentrações elevadas de elementos traços, trazendo grandes preocupações quanto à sua utilização na adubação e calagem de plantas empregadas na alimentação humana, assim como na contaminação dos solos e lençóis freáticos (BJÖRKQVIST, 2015). Em contrapartida, algumas pesquisas mostram que o *dregs* apresenta baixas concentrações de elementos-traço, como o níquel (Ni), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007a). Porém, mesmo em quantidades-traço, alguns elementos são muito tóxicos, principalmente aos organismos do solo, e seus efeitos de contaminação aumentam na medida em que vão sendo incorporados aos solos (ALMEIDA et al., 2007b).

Uma alternativa para avaliar o risco da utilização do *dregs* nos solos é a utilização de organismos bioindicadores do solo (BARBOSA et al., 2017). Estes organismos são capazes de reduzir as incertezas de riscos ecológicos (ASSIS, 2016b) devido a alta sensibilidade destes a poluentes (ALVES, 2015). Dentro deste contexto, a ecotoxicologia destaca-se como a ciência que estuda os efeitos tóxicos das substâncias sobre os organismos vivos (HUND-RINKE, SIMON, 2004) e traz como principal característica a metodologia e padronização de ensaios laboratoriais (FLYNN, PEREIRA, 2011). O qual permite conhecer as consequências da liberação de resíduos no solo e compreender, até que ponto, substâncias químicas, isoladas ou em mistura, são nocivas a sistemas vivos, bem como, onde e como se manifestam seus efeitos (KNIE, LOPES, 2004; BIANCHI, 2013).

Na União Europeia a destinação de resíduos no solo é regulada pela Diretiva 2008/98/EC (EC, 2008) que estabelece conceitos básicos relacionados com a gestão de resíduos e classifica os materiais de acordo com propriedades de periculosidade, o qual exige que os resíduos sejam conduzidos sem pôr em perigo a saúde humana e prejudicar o meio ambiente, sendo que esta diretiva inclui também um critério para o risco ecotoxicológico (H14 – “ecotoxic”), este critério identifica o quanto um resíduo em caso de múltiplas contaminações representa ou pode representar de risco para o ecossistema utilizando organismos bioindicadores de qualidade do solo (MARALDO et al., 2015). Segundo a diretiva, o resíduo que não apresentar toxicidade pode ser utilizado como Matéria-prima Secundária (SRM), tanto para adubação e calagem do solo como para outros fins (EC, 2008). No Brasil ainda não existe uma legislação específica para as aplicações de resíduos industriais no solo. Para isto, é utilizada a resolução do CONAMA nº 420/09 que estabelece valores de referência de qualidade para a presença de elementos tóxicos no solo (CONAMA, 2009).

Atualmente, grande parte dos ensaios de ecotoxicidade terrestres são realizados utilizando invertebrados do solo, como minhocas, colêmbolos e enquitreídeos (RÖMBKE, BAUER, MARSCHNER, 1996). Além de possuírem protocolos padronizados destes organismos atendem a critérios chamados essenciais, tais como: tem importante papel ecológico no solo, estão em contato constantemente com o solo, possuem ampla distribuição geográfica, são de fácil manutenção em laboratório e também possuem altas taxa reprodutiva em curto espaço de tempo (SEGAT et al., 2015; MACCARI et al., 2016; VOLPATO, 2016; ZORTÉA et al., 2017).

As respostas destes organismos aos poluentes são distribuídas no tempo, podendo ocorrer imediatamente após o contato com o contaminante, ou respondendo a um estímulo ao longo do tempo. Estas respostas são divididas em toxicidade aguda (letalidade) e toxicidade crônica (reprodução) (SEGAT, 2015; MACCARI, 2016). Sendo capazes também de detectar efeitos mais sutis nos organismos, como desenvolvimento retardado, fertilidade reduzida, e efeitos de bioacumulação (ALVES et al., 2013).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de ensaios de ecotoxicidade padronizados (ISO), os efeitos da aplicação de

concentrações crescentes de resíduo de indústrias de papel e celulose (*dregs*) sobre a letalidade e reprodução de três organismos bioindicadores do solo, minhocas (*Eisenia andrei*), enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*), colêmbolos (*Folsomia candida*) e sobre a germinação de sementes de nabo (*Brassica rapa*) e aveia (*Avena strigosa*), em dois solos naturais do estado de Santa Catarina.

1.1 HIPÓTESES

1) A aplicação de concentrações elevadas de resíduos de indústria de celulose e papel (*dregs*) contamina o solo e conseqüentemente, afetam a letalidade e reprodução de organismos edáficos (minhocas, enquitreídeos e colêmbolos), bem como a germinação de plantas;

2) Os efeitos do *dregs* sobre a letalidade e reprodução dos organismos estão relacionado aos elevados teores de Ca, Na e elementos-traços na sua composição;

3) Solos arenosos possuem menor capacidade de suporte da aplicação de altas concentrações de rejeitos celulósico do que solos argilosos;

4) A partir da análise detalhada dos efeitos de ecotoxicidade do *dregs*, é possível recomendar concentrações a serem utilizadas nos solos de Santa Catarina, proporcionando um descarte adequado do material e minimizando os problemas ambientais.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar por meio de ensaios de ecotoxicológicos padronizados (ISO), os efeitos da aplicação de concentrações crescentes de resíduo da indústria de papel e celulose (*dregs*) sobre a letalidade e reprodução de três organismos chaves em termos de funcionalidade do solo, minhocas (*Eisenia andrei*), enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*), colêmbolos (*Folsomia candida*) e sobre a germinação de sementes de nabo (*Brassica rapa*) e aveia (*Avena strigosa*), em solos arenoso e argiloso naturais do estado de Santa Catarina.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Investigar os efeitos de concentrações crescentes de resíduo da indústria de papel e celulose (*dregs*) na letalidade e reprodução da fauna do solo utilizando ensaios ecotoxicológicos padronizados (ISO) para minhocas (*E. andrei*), enquitreídeos (*E. crypticus*) e colêmbolos (*F. candida*).

- Determinar concentrações de *dregs* a serem aplicadas nos solos com diferentes classes texturais visando um menor risco ecológico no solo.

- Determinar a capacidade de suporte de *dregs* para dois solos de Santa Catarina (Cambissolo e Neossolo) que não causam efeitos nocivos sobre os organismos edáficos.

1 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE (*DREGS*)

O Brasil apresentou em 2016 um crescimento médio de 8,1% na produção anual de celulose, muito acima da média mundial de 2,2% a.a. Esse aumento é em decorrência as 220 empresas de papel e celulose existentes no país, localizadas em 16 estados e em 540 municípios. Essas empresas produzem anualmente cerca de 13,3 milhões de toneladas de celulose e 9,4 milhões de toneladas de papel, o que responde a 4,1% do PIB (Produto Interno Bruto) do país (DEPEC, 2017). Assim, o Brasil ocupa a posição de sexto maior produtor mundial de celulose, sendo também o nono na produção de papel e líder na produção de celulose de fibra curta, além de ser o 13º maior mercado consumidor de papel (TOLEDO et al., 2015).

A elevada produção e a busca por produtos melhores induzem a uma alta geração de resíduos por estas empresas. Segundo Bellote et al. (1998) para cada 100 toneladas de celulose produzidas são geradas aproximadamente 50 toneladas de resíduos sólidos, efluentes hídricos e gases. Dentre os principais resíduos produzidos pelas indústrias de papel e celulose destacam-se a casca da madeira, o lodo da estação de tratamento de esgoto, o resíduo celulósico, a cinza de caldeira resultante da queima de biomassa, a lama de cal, o *dregs* e o *grits* (expressões que podem ser traduzidas como borra) (SILVA et al., 2009; GOLMAEI et al., 2017).

A destinação desses resíduos é um dos principais desafios enfrentados pelas indústrias, uma vez que a deposição em aterros sanitários ou no pátio das empresas não é favorável, pois geram elevados custos com o transporte, tratamento e manutenção, além de riscos de contaminação do solo e de lençóis freáticos, fazendo-se necessário desta forma, encontrar alternativas de reaproveitamento, para minimizar os riscos ecológicos causados por eles (MACIEL et al., 2015; KRISTANTO, ASALOEI, 2017).

2.2 PROCESSO POLPA *KRAFT*

O processo de polpa *kraft* é utilizado globalmente na produção celulósica (PINHO, CAHEN, 1981; TRIGUEIRO, 2006; STEEN, 2016), representando cerca de 90% da polpa química produzida e mais de 60% da polpa de fibras virgens produzidas no mundo (BJÖRKQVIST, 2015). Também chamado de processo de

sulfato, este processo consiste de um procedimento químico de polpação com hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na₂S) como produtos químicos ativos que originam o licor branco (GIERER, 1980). No início do “cozimento” os polímeros de celulose e hemicelulose são libertados por deslignificação, isto é conseguido pela clivagem de ligações éter e pela introdução de grupos fenolatos que tornam os fragmentos de lignina solúveis no licor de cozimento (SALTBERG, 2009; MÄKELÄ et al., 2016).

Durante o procedimento ocorre a degradação final da hemicelulose e da celulose, também conhecida como reação de descascamento, que leva a perda da hemicelulose, em decorrência ao menor grau de polimerização e maior reatividade da estrutura amorfa (BJÖRKQVIST, 2015). Da reação do licor branco com a madeira originam-se a polpa celulósica e o licor negro. Neste último, o teor de sólidos é queimado na caldeira e diluído com o licor branco fraco derivado da lavagem da lama de cal, formando um licor verde (Na₂CO₃ + Na₂SO₄ + Na₂S + Fe (OH)₂)₇. Após a causificação do licor verde, ou seja, a adição de óxido de cálcio (CaO), é extraído então a lama de cal, um resíduo de coloração branca formado principalmente por carbonato de cálcio (CaCO₃) (RODRIGUES et al., 2016; STEEN, 2016).

O *dregs* possui cor acinzentada e é removido durante a clarificação do licor verde, ou seja, é a remoção de impurezas como o carbono, partículas de lama, hidróxidos e sulfetos de metais e outros elementos (TRIGUEIRO, 2006). O magnésio (Mg) presente neste resíduo é adicionado à deslignificação e ao branqueamento juntamente com peróxido de hidrogênio, principalmente porque o magnésio inibe a degradação de carboidratos e diminui o uso de produtos químicos no processo. Mais tarde, o magnésio acaba na borra do licor verde e no *dregs* (BJÖRKQVIST, 2015).

Uma vantagem do processo de polpa *kraft* é a capacidade para recuperar os produtos químicos, cerca de 97% são restaurados no processo (PÖYKIÖ, NURMESNIEMI, KUOKKANEN, 2008; MÄKELÄ et al., 2016). A finalização do processo faz com que o *dregs* possua na sua composição química aproximadamente 3,0 % de Mg e de 1,0 a 4,0 % de Na (WALDEMAR, HERRERA, 1986; ALBUQUERQUE et al., 2002; ALMEIDA et al., 2007a; RODRIGUES et al., 2016) e um pH próximo de 10,7 (BRANCO et al., 2013), além de concentrações de níquel (Ni), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007b; ALMEIDA et al., 2008).

2.3 DESTINO FINAL DO RESÍDUO DAS INDÚSTRIAS

Nos últimos anos, surgiram diversos trabalhos que buscam alternativas para a utilização do *dregs*, permitindo assim o seu aproveitamento e a diminuição dos riscos ecológicos causados pela má destinação deste material (MEDEIROS et al., 2009; RIBEIRO, 2010; PÉRTILE, 2011; BJÖRKQVIST, 2015).

Alguns estudos relatam que o *dregs* pode ser utilizado como forma alternativa para a calagem e adubação nos solos, já que possui características químicas similares as do calcário calcítico, com aproximadamente 350 g kg⁻¹ de cálcio (Ca) entre 10 a 30 g kg⁻¹ de magnésio (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007a). Segundo Bellote (1998) resíduos celulósicos possuem também altos teores de matéria orgânica, além de altos teores de resíduo mineral, nitrogênio total, cálcio e relação Carbono/Nitrogênio (C/N) de 25/1 (KRISTANTO, ASALOEI, 2017). Características essas que favorecem o aproveitamento deste resíduo na agricultura, potencializado como condicionante químico, físico e biológico do solo, pode beneficiar o desenvolvimento de plantas de interesse agrícola e florestal (ANHAIA, BÖRSZOWSKI, 2012).

Sendo assim o reaproveitamento do *dregs* como condicionador no solo é uma alternativa, considerando a alta necessidade de calcário dos solos das regiões tropicais e subtropicais, ou seja, onde a grande maioria das indústrias de papel e celulose estão localizadas. Grande parte dos solos dessas regiões caracterizam-se pelo alto tamponamento de pH, relacionado principalmente aos elevados teores de matéria orgânica e Al trocável (ALMEIDA et al., 2007b, LUNARDI NETO et al., 2008; KRISTANTO, ASALOEI, 2017). Porém a aplicação de *dregs* nos solos é também limitada pela presença elevada de sódio presente neste material, uma vez que concentrações elevadas provocam, deslocamento do Ca e Mg e dos colóides do solo, dispersão das argilas, diminuição da permeabilidade e consequente perda da condutividade hidráulica dos solos (TRIGUEIRO, 2006). Além de afetar negativamente os organismos edáficos.

Por ser tratar de um resíduo de origem industrial, o *dregs* pode ser uma fonte de elementos traços para os solos, estes, quando em excesso trazem preocupações na utilização principalmente em plantas empregadas na alimentação humana, assim como na contaminação dos solos e lençóis freáticos (BJÖRKQVIST, 2015). A maior ou menor mobilidade dos elementos traços no solo depende de várias características intrínsecas do solo, principalmente o pH.

Na literatura alguns estudos mostraram alternativas de reaproveitamento do *dregs*, tais como agente alcalinizantes de solo (ALMEIDA et al., 2007a; MEDEIROS et al., 2009; PÉRTILE, 2011, STEEN, 2016), na recuperação de áreas degradadas pela extração de carvão (PÉRTILE, 2011; MÄKITALO et al., 2015), na estabilização de resíduos de minas (VILLAIN, 2008), como base e sub-base de construções rodoviárias (MOLINA et al., 2004; TORRES, 2016), na produção de cerâmica industrial (RIBEIRO, 2010; RODRIGUES et al., 2016), no processo de compostagem (CARVALHO et al., 2002. SÜRMEI, 2016), como agente de neutralização de efluentes ácidos (LANDIM, 1995; NUMESNIEMI, 2005), na substituição de calcário em geral (ALMEIDA et al., 2007a; BRANCO et al., 2013), entre outros.

2.4 ELEMENTOS TRAÇOS NO SOLO

A terminologia “elementos traços” é frequentemente usada para se referir a um conjunto heterogêneo de elementos químicos, inorgânicos com densidade igual ou superior a 5 g/cm³ (BJÖRKQVIST, 2015), assim como outros inorgânicos não tóxicos e metaloides também recebem essa denominação, pelos impactos negativos que promovem aos ecossistemas e seres vivos (SOUSA, 2016). Os elementos-traços são componentes naturais dos minerais que compõem o material de origem das rochas. Sendo que a entrada destes elementos nos solos está relacionada ao intemperismo das rochas, as erupções vulcânicas e aos diversos usos dos solos, atribuídos principalmente a produção agropecuária, industrial e a urbanização (CAIRES, 2009; KUMPIENE, 2017).

A presença de elementos traços no solo por si só não é motivo de preocupação, já que macronutrientes como potássio (K), nitrogênio (N), fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), e micronutrientes como o ferro (Fe), manganês (Mn), molibdênio (Mo), cobre (Cu), zinco (Zn), cloro (Cl), boro (B) e níquel (Ni) são essenciais para o desenvolvimento das plantas (KIRKBY, RÖMHELD, 2007; SOUSA, 2016). Porém, quando em concentrações elevadas, muitos deles comprometem a qualidade dos ecossistemas, sendo na grande maioria elementos persistentes, não degradáveis, mutagênicos e carcinogênicos (WEBER, 2004; CAIRES, 2009).

Nas últimas décadas, devido aos problemas ambientais resultantes da contaminação por elementos-traços, o número de estudos sobre esse assunto aumentou significativamente. Nesse sentido, criou-se órgãos governamentais com

regras criteriosas quanto à contaminação e recuperação de áreas contaminadas, como por exemplo, em 1970 nos Estados Unidos a USEPA (United States Environmental Protection Agency) (USEPA, 1999), na Europa em 1989 a EEA (European Environment Agency) (EEA, 2017) e, no mesmo ano no Brasil o IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente) (GUILHERME et al., 2005).

No Brasil, o ponto de referência para verificar se há ou não contaminação dos solos é a Resolução nº 420/2009 do CONAMA, que dispõe sobre critérios e valores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas, e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas decorrentes de atividades antrópicas (CONAMA, 2009).

De acordo com Guinee et al. (2000) há dois principais problemas ambientais relacionados com o acúmulo de elementos traços nos solos, primeiro, eles são tóxicos para os seres humanos e ecossistemas, e segundo, eles não são degradáveis, isso significa que uma vez no ambiente, estes se acumularão nos solos (BJÖRKQVIST, 2015). Estima-se que o cádmio permaneça entre 75 a 380 anos no solo, o mercúrio entre 500 a 1.000 anos, já o arsênio, o cobre, o níquel, o chumbo, o selênio e o zinco entre 1.000 e 3.000 anos (ALLOWAY, 1990).

Pesquisas comprovam que as concentrações de elementos traços em níveis tóxicos nos solos aumentaram consideravelmente nos últimos anos (KUMPIENE, 2017) chegando a alguns pontos a concentrações nocivas para animais e seres humanos. Este fato ocorre principalmente onde ações antrópicas são mais intensivas, como em práticas de mineração, áreas industriais, descarte de lodo de esgoto, fertilizantes químicos e na disposição de resíduos industriais no solo (SOUSA, 2016). Estudos apontam que o uso intenso e inadequado de fertilizantes minerais tradicionais ou de fontes alternativas como o lodo de esgoto e resíduos industriais na agricultura são fonte de contaminação de elementos traços, resultando em graves consequências como a contaminação do solo e lençóis freáticos (CAMPOS et al., 2005).

2.5 A ECOTOXICOLOGIA

Surgida como um ramo da toxicologia, a ecotoxicologia foi definida pela primeira vez em 1969 pelo toxicologista francês Rene Truhaut, que a descreveu como “a ciência que estuda os efeitos tóxicos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais,

terrestres ou aquáticas, que constituem a biosfera” (HUND-RINKE, SIMON, 2004; BARBOSA et al., 2017). Esta traz como principal característica metodológica a padronização de ensaios laboratoriais com espécies (FLYNN, PEREIRA, 2011).

Atualmente o conceito de ecotoxicologia pode ser expandido para a “ciência que prevê os efeitos de substâncias potencialmente tóxicas sobre os ecossistemas naturais e organismos” (ALVES et al., 2016) proporcionando a avaliação e identificação de interferências causadas por substâncias introduzidas no ecossistema por ações antrópicas e os seus efeitos nos organismos vivos (OLIVEIRA FILHO et al., 2017).

A ecotoxicologia deve ser tratada como multidisciplinar, ou seja, unindo a ecologia e a toxicologia com a química, farmacologia e epidemiologia, com a compreensão das origens e destinos dos produtos químicos no ambiente e suas interações com os organismos vivos (CONNELL et al., 1999). As ferramentas de análise da ecotoxicologia permitem responder antecipadamente a toxicidade de substâncias e compostos em organismos vivos e ainda orientar nas medidas de mitigação de contaminantes do meio ambiente (MAGALHÃES, FERRÃO FILHO, 2008; SEGAT et al., 2015; MACCARI et al., 2016; ZORTÉA et al., 2017).

A utilização de ensaios de ecotoxicidade são reconhecidos internacionalmente como uma ferramenta complementar da análise química do solo (CROUAU, MOÏA, 2006; BARBOSA et al., 2017). Por meio destes ensaios os ecotoxicológicos buscam-se conhecer os efeitos da liberação de resíduos e substâncias químicas sobre os organismos e compreender, até que ponto, substâncias químicas, isoladas ou em mistura, são nocivas a sistemas vivos, e como e onde se manifestam seus efeitos (KNIE, LOPES, 2004; BIANCHI, 2013).

Os ensaios de ecotoxicidade terrestres estão sendo utilizados para avaliar riscos ambientais de diferentes agentes, tais como os metais pesados (NURSITA et al., 2005; AMUNO, 2013), poluentes domésticos, como o lodo de esgoto (CARBONELL et al., 2009), resíduos e rejeitos da mineração (SISINNO, OLIVEIRA-FILHO, et al., 2013), dejetos de animais (SEGAT et al., 2015; MACCARI et al., 2016) e agrotóxicos (FANG et al., 2009; SILVA et al., 2010; SANTOS et al., 2012; CARNIEL, 2015), auxiliando no estabelecimento de limites máximos para descarte de contaminantes no solo (MACCARI et al., 2016). Por meio destes ensaios é possível reduzir as incertezas dos riscos ecológicos causados pela adição de resíduos e substâncias químicas no solo (BARBOSA et al., 2017).

Na União Europeia a destinação de resíduos no solo é regulada pela Diretiva 2008/98/EC (EC, 2008) que estabelece conceitos básicos relacionados com a gestão de resíduos e classifica os materiais de acordo com propriedades de periculosidade, o qual exige que os resíduos sejam conduzidos sem pôr em perigo a saúde humana e prejudicar o meio ambiente, sendo que esta diretiva inclui também um critério para o risco ecotoxicológico (H14 – “ecotoxic”). Este critério identifica o quanto um resíduo em caso de múltiplas contaminações representa ou pode representar de risco para o ecossistema, utilizando organismos bioindicadores de qualidade do solo (MARALDO et al., 2015). Segundo a diretiva, o resíduo que não apresentar toxicidade pode ser utilizado como Matéria-Prima Secundária (MPS), tanto para adubação e calagem do solo como para outros fins (EC, 2008).

No Brasil ainda não existe legislação específica para as aplicações de resíduos no solo. Para tanto, são utilizadas as resoluções do CONAMA nº 420/09 que estabelece valores de referência de qualidade para a presença de elementos tóxicos no solo (CONAMA, 2009) resultante de análises químicas.

2.5.1 Histórico da Ecotoxicologia

A ecotoxicologia teve início na década de 30, avaliando efeitos de contaminantes ou poluentes em organismos aquáticos, e só mais tarde os terrestres (ZAGATTO, 2006; ZORTÉA et al., 2017). No solo, a ecotoxicologia é uma ciência recente e eficiente para estimar o potencial perigo de substâncias. Onde o risco ecológico geralmente é medido através de “endpoints”, como reprodução dos organismos e concentrações de efeito letais, utilizando organismos, como colêmbolos (AMORIM et al., 2012), minhocas (PELOSI et al., 2013), enquitreídeos (CHELINHO et al., 2013a), ácaros (CHELINHO et al., 2013b) e algumas plantas (ZORTÉA et al., 2017).

Na década de 80, agências ambientais de todo o mundo, principalmente países Europeu e Estados Unidos, começaram a desenvolver protocolos padronizados para a realização de ensaios de toxicidade (MAGALHÃES, FERRÃO-FILHO, 2008; ALVES et al., 2016). No Brasil, o início da padronização de ensaios ocorreu em 1975 com protocolos para avaliar efeitos de substâncias químicas e misturas tóxicas em organismos aquáticos, dentro de um programa internacional para a padronização de ensaios, integrando a ISO com a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) do Estado de São Paulo (SEGAT et al., 2015).

Os estudos em ecotoxicologia terrestre no Brasil tiveram um crescimento expressivo após a criação do Solo Artificial Tropical (SAT) por pesquisadores brasileiros, em conjunto com grupos internacionais, que levaram em conta características de solos brasileiros, para se substituir o solo OCDE (Organização Para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) (OCDE, 1984) utilizado em climas temperados e tropicais (GARCIA, 2004). A partir de então, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) vem incluindo em suas normas ensaios com minhocas, colêmbolos, enquitreídeos e plantas (BIANCHI, 2013; SEGAT et al., 2015; MACCARI et al., 2016; OLIVEIRA FILHO et al., 2017; ZORTÉA et al., 2017).

2.5.2 Ensaio de ecotoxicidade

Os ensaios de ecotoxicidade, são ensaios laboratoriais padronizados realizados sob condições específicas e controladas, utilizados para estimar a periculosidade de substâncias químicas isoladas ou compostas. Esses ensaios são realizados expondo organismos padronizados a uma matriz contaminada, com o objetivo de identificar valores em que a contaminação é alta o suficiente para causar letalidade e efeitos adversos sobre o crescimento, desempenho reprodutivo e mudanças comportamentais dos organismos (LIMA, 2009; SEGAT et al., 2015; MACCARI et al., 2016).

As respostas da fauna aos poluentes são distribuídas no tempo, podendo ocorrer imediatamente após o contato com o contaminante ou respondendo a um estímulo ao longo do tempo. Estas respostas são divididas em toxicidade aguda, (letalidade) e toxicidade crônica (reprodução) (BRENDOLAN, 2004; SEGAT et al., 2015; ZORTÉA et al., 2017).

Nos ensaios de toxicidade aguda os organismos entram em contato com o contaminante num evento único, em curto período de tempo, variando de horas a dias. Os efeitos são imediatos, embora seja possível a produção de efeitos retardados (CARVALHO, PIVOTO, 2011). Esses ensaios avaliam uma resposta rápida e o efeito severo (BRENDOLAN, 2004; SEGAT et al., 2015; OLIVEIRA FILHO et al., 2017).

Já nos ensaios crônicos, os organismos são expostos a concentrações num período de tempo maior. Estes são diretamente dependentes dos ensaios agudos, já que as concentrações são obtidas a partir da menor concentração com efeito observado (Low Observed Effect Concentration - LOEC) (BRENDOLAN, 2004). De

maneira geral, são observados efeitos em concentrações que não causem letalidade, mas interferem nas funções biológicas, como inibição do crescimento, perda de massa, reprodução (SEGAT et al., 2015) e bioacumulação (ALVES et al., 2013).

Atualmente, grande parte dos ensaios de ecotoxicidade utilizando invertebrados do solo são desenvolvidos, com minhocas, colêmbolos, enquitreídeos e ácaros (RÖMBKE, BAUER, MARSCHNER, 1996; BARBOSA et al., 2017). Isso se deve ao fato destes organismos atenderem a critérios chamados essenciais, como: importante papel ecológico no solo, contato constante com o substrato, ampla distribuição geográfica, ser de fácil manutenção em laboratório e possuir alta taxa reprodutiva em um curto espaço de tempo (MACCARI et al., 2016; BARBOSA et al., 2017).

As minhocas compreendem de 40% a 90% de toda a biomassa da macrofauna dos ecossistemas (ANDRÉA, 2010). Sua importância é grande uma vez que são organismos imprescindíveis nos processos do solo, como a decomposição, homogeneização e incorporação de material orgânico e a ciclagem de nutrientes além de favorecerem a aeração, capacidade de infiltração, drenagem e retenção de água no solo (LAVELLE et al., 2006). Por meio dos deslocamentos, da ingestão de solo, ou do contato direto e passagem pela cutícula (CASTELLANOS, HERNANDEZ, 2007; ALVES et al., 2016), as minhocas entram em contato com os poluentes e, a partir desse contato, podem se intoxicar e morrer, ou sobreviver, incorporar e até mesmo bioacumular os contaminantes em seus tecidos (CURRY, 2004; ANDRÉA, 2010; OLIVEIRA FILHO et al., 2017).

Dentro da ecotoxicologia, minhocas são consideradas boas indicadoras de poluição. Globalmente, são utilizadas principalmente as espécies *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*, as quais possuem protocolos padronizados pela ISO (BUCH et al., 2015) para solos de regiões de clima temperado (OCDE, 1984; ISO 17512, 2008) e clima tropical (IBAMA, 1990; ABNT-NBR – 15.537, 2007). Ensaio com minhocas são considerados representativos da macrofauna do solo, já que a sensibilidade destes organismos a produtos químicos é compatível a de outras espécies edáficas (ANDRÉA 2010; OLIVEIRA FILHO et al., 2017).

Já os enquitreídeos (Annelida, Oligochaeta, Enchytraeidae), são pequenos oligoquetas, típicos da mesofauna terrestre, que são encontrados em solos de todo o mundo (RÖMBKE, SCHMELZ, PÉLOSI, 2017). Eles pertencem a um grupo

importante de decompositores de matéria orgânica, contribuindo para a ciclagem dos nutrientes e na microporosidade do solo, devido ao hábito de produzir galerias no seu deslocamento (RÖMBKE, 1991). Pela sua alta sensibilidade a estresses ambientais (RÖMBKE, 2003) eles têm sido utilizados para avaliação de risco ecológico. Nos últimos anos, vários estudos de ecotoxicidade foram realizados com a espécie *Enchytraeus crypticus* para poluentes orgânicos (RÖMBKE, 2003; ZORTÉA et al., 2016), pesticidas (KOBETIČOVÁ et al., 2009) e metais pesados (RÖMBKE, 2003; AMORIM et al., 2008; RÖMBKE, SCHMELZ, PÉLOSI, 2017).

Os colêmbolos, por sua vez, são pequenos artrópodes (Insecta: Collembola), abundantes nos solos de todo o mundo, podendo atingir de dezenas a centenas de milhares de organismos por m² (STEFFEN et al., 2007). Estes, são agentes transformadores das características físicas, químicas e biológicas dos solos. Culik, Martins e Ventura (2006) destacam que os colêmbolos podem estar entre as mais diversas e menos conhecidas espécies da fauna no mundo. Estudos utilizando colêmbolos, principalmente a espécie *Folsomia candida*, como indicadores de risco ecológico tem sido de grande importância, principalmente devido a sensibilidade de algumas espécies a alterações ambientais (CROUAU, MOÏA, 2006; ALVES et al., 2016; SLAWSKA, BRUCKNER, SLAWSKI, 2017; OLIVEIRA FILHO et al., 2017; ZORTÉA et al., 2017).

As plantas são componentes essenciais para os ecossistemas terrestres, sendo produtores primários de matéria orgânica e de oxigênio, além de ser fonte de alimento para muitos organismos (VERKLEIJ, 1994). O uso de plantas na avaliação do efeito de compostos químicos no ambiente terrestre é de grande importância, tanto do ponto de vista ecológico como para a saúde humana (FAROOQ et al., 2017). Levando em conta isso pesquisas mostram que espécies vegetais podem servir como indicadoras de risco ecológico, vista a sensibilidade em responder rapidamente aos efeitos tóxicos de poluentes nos solos (GAVINA, 2011).

Os ensaios de ecotoxicidade realizados com plantas são considerados ferramentas versáteis na avaliação de contaminantes no solo (LIMA, et al., 2010; FAROOQ et al., 2017). Desta forma, a USEPA e a OCDE em 2006, sugeriram diversas espécies consideradas sensíveis de mono e dicotiledôneas para ensaios de ecotoxicidade (OLIVEIRA, 2013; ZORTÉA et al., 2016). Estas, possuem características distintas, como são facilmente disseminadas, possuem tamanho reduzido, ciclo de vida curto e são de fácil cultivo em laboratório (BRITO et al.,

2009). Alguns exemplos de espécies utilizadas para estes ensaios são o nabo (*Brassica rapa* L.), a aveia (*Avena sativa* L), o milho (*Zea mays* L.), o trigo (*Triticum aestivum*), a alface (*Lactuca sativa* L.) e a cevada (*Hordeum vulgare* L.) (BRITO et al., 2009).

2.6 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J.A. et al. Propriedades físicas e químicas de solos incubados com resíduo alcalino da indústria de celulose. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.1065-1073, 2002.
- ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils. **Glasgow: Blackie Academic & Professional**, 1990.
- ALMEIDA, H.C et al. Composição química de um resíduo alcalino da indústria de papel e celulose (*dregs*). **Química Nova**, v.30, p.1669-1672, 2007a.
- ALMEIDA, H.C. et al. Influência da adição de um resíduo alcalino da Indústria de papel e celulose na lixiviação de cátions em um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1775-1784, 2008.
- ALMEIDA, H.C. et al. Influência da adição de um resíduo industrial alcalino na velocidade de neutralização da acidez do solo, adsorção de sódio e disponibilidade de magnésio para o trigo. **Revista Ciências Agroveterinárias**, Lages, SC, v.6, n.2, p.104-113, 2007b.
- ALVES, P.R.L. et al. Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. **Chemosphere**, v.90, p.2674-2683, 2013.
- ALVES, P.R.L. et al. Ecotoxicological impact of arsenic on earthworms and collembolans as affected by attributes of a highly weathered tropical soil. **Environmental Science pollutants**, 2016.
- AMORIM, M.J.B. et al. Assessing single and joint effects of chemicals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* (Collembola) in soil. **Environmental Pollution**, v.160, p.145-52, 2012.
- AMORIM, M.J.B. et al. Avoidance test with *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae): effects of different exposure time and soil properties. **Environmental Pollution**, v.155, p.112–116. 2008.
- AMUNO, S.A. Potential ecological risk of heavy metal distribution in cemetery soils. **Water Air Soil Pollut**, v.224, p.1435, 2013.
- ANDRÉA, M. M. de, O uso Dde minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoológica Mexicana**, v.2, n.2, p.95–107, 2010.
- ANHAIA, S.A. F.; BORSZOWSKI, P.R. Reaproveitamento de resíduos gerados na fabricação de celulose e papel como substrato na hidroponia para cultura de alface (*Lactuca sativa*). **Revista Technoeng**, Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais –CESCAGE. Ponta Grossa, PR, n.5, 2012.
- BARBOSA, L. R. et al. Indicadores microbiológicos e químicos de qualidade de um Latossolo Amarelo sob manejo convencional em diferentes idades. **Bioscience Journal**, v.33, n.3, p.601-609, 2017.

BELLOTE, A.F.J. et al. Resíduos da indústria de celulose em plantios florestais. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, Embrapa, v.37, p.99-106, 1998.

BIANCHI, M. de O. **Ensaio ecotoxicológico como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo**. Tese (Doutorado em Ciência do solo) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2013.

BJÖRKQVIST, S. Towards a circular economy in the pulp and paper industry: Possible reuse of solid residues from kraft pulp mills as fertilizer to the forest. **Chalmers University of technology**, Gothenburg, Sweden, 40 p, 2015.

BRANCO, S.B. et al. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.1, n.49, p.543–550, 2013.

BRENDOLAN, R. A. **Utilização do microcrustáceo *Kalliapseudes schubartii* em ensaios de ecotoxicologia**. Dissertação (Mestrado em Biologia Marinha) - Instituto de Biologia, Niterói, SP, 93 p, 2004.

BRITO, Q. B. et al. Arabidopsis thaliana: planta ensaio em estudos multidisciplinares. **Captar- Ciência e Ambiente para Todos**, v.1, n.2, p.205–216. 2009.

BUCH, A.C. et al. Characterization of soil fauna under the influence of mercury atmospheric deposition in Atlantic Forest, Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Environmental Sciences**, China, v.32, p.217–227. 2015.

CAIRES, S.M.D.E. **Determinação dos teores naturais de metais pesados em solos do estado de Minas Gerais como subsídio ao estabelecimento de valores de referência de qualidade**, Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Viçosa, MG, 270 p, 2009.

CAMPOS, M.L. et al. Determinação de cádmio, cobre, cromo, níquel, chumbo e zinco em fosfatos de rocha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n.40, v.4, p.361–367, 2005.

CARBONELL, G. et al. Sewages ludge applied to agricultural soil: ecotoxicological effects on representative soil organisms, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.1309–1319, 2009.

CARNIEL, L.S.C. **Avaliação do risco ecotoxicológicos de mancozebe e clorpirifós para representantes da macro e mesofauna do solo e eficiência de testes biológicos de descarte**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo)- Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 2015.

CARVALHO, A.G.M. et al. **A compostagem como processo catalisador para a reutilização dos resíduos de fábrica de celulose e papel**. In: 35º Congresso e Exposição Anual de Celulose e Papel. Associação Técnica Brasileira de Celulose e Papel, SP, 2002.

CARVALHO, N.L.; PIVOTO, T.S. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agrônômica. **Revista eletrônica do PPGEAmb-CCR/UFSM**, Santa Maria, RS, v.2, n.2, p.176-192, 2011.

CASTELLANOS, L.R.; HERNANDEZ, J.C. A. Earthworm biomarkers of pesticide contamination: Current status and perspectives. **Journal of Pesticide Science**, v.32, p.360-371, 2007.

CHELINHO, S. et al. Soil microarthropod community testing: A new approach to increase the ecological relevance of effect data for pesticide risk assessment. **Applied Soil Ecology**. v.83, p.200– 209, 2013b.

CHELINHO, S. et al. Toxicity of phenmedipham and carbendazim to *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in Mediterranean soils. **Journal of Soils and Sediments**, v.14, p.584-599, 2013a.

CONNELL, D.W. et al. Introduction to Ecotoxicology: An introduction to electronic and ionic materials. **Blackwell Publishing**, Hoboken, New Jersey, v.4, 170 p, 1999.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução Nº 420, de 28 de dezembro de 2009.

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

CROUAU, Y.; MOÏA, C. The relative sensitivity of growth and reproduction in the springtail, *Folsomia candida*, exposed to xenobiotics in the laboratory: Na indicator of soil toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.64, p.115-121. 2006.

CULIK, M.P.; MARTINS, D.S.; VENTURA, J.A. Collembola (Arthropoda: Hexapoda) communities in the soil of papaya orchards managed with conventional and integrated production in Espírito Santo, Brazil. **Biota Neotropica**. v.6, n.3. 2006.

CURRY, J.P. Factors affecting the abundance of earthworms in soils, p. 91-113. In: C. A. Edwards (Ed.). **Earthworm Ecology**, 2004.

DEPEC - Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos, **Papel e celulose**. BRADESCO. 2007.

European Community - EC. Council Directive 2008/98/EC: Directive of the European Parliament and of the Council of 19 November 2008 on waste and repealing certain Directives. 549. **Official Journal of the European Union**, Brussels, n.312, p.3-30, 2008.

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY - EEA. **EEA history in short**. Disponível em [http:// org.eea.eu.int/documents/ar1997/ar97_history.html](http://org.eea.eu.int/documents/ar1997/ar97_history.html). Acesso em 17 abr. 2017.

FANG H, et al. Degradation of chlorpyrifos in laboratory soil and its impact on soil microbial functional diversity. **Journal of Environmental Sciences**, v. 21, p.380–386, 2009.

FAROOQ, M. et al. Effects, tolerance mechanisms and management of salt stress in grain legumes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.17, 2017.

FLYNN, M.N., PEREIRA, W.R.L. Abordagem populacional na ecotoxicologia. **RevInter**, n.4, v.3, p.79–91, 2011.

GARCIA, M.V.B. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Ph.D. Thesis - University of Bonn. Bonn, Germany, 283 p, 2004.

GAVINA, A.C.S. **Ensaio com plantas na avaliação de risco da mina de Ervedosa**. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade de Aveiro, Portugal. 2011.

GIERER, J. Chemical aspects of kraft pulping. **Wood Science and Technology**, n. 4, p 241-266, 1980.

GOLMAEI, M, et al. Study on the filtration characteristics of green liquor *dregs*. **Chemical Engineering Journal**, 32 p, 2017.

GUILHERME, L.R.G. et al. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, n.27, v.3, p.345–390, 2005.

GUINEE, H. et al. General introduction. in Bergh, Bouman, Kandelaars, Lexmond, Moolenaar, Boelens, Voet, Heavy Metals: A problem solved? **Springer Science + Business Media Dordrecht**, p. 3-10, 2000.

HUND-RINKE, K.; SIMON, M. Terrestrial ecotoxicity of eight chemicals in a systematic approach. **Journal of Soils and Sediments**, n. 5, v.1, p.59–65, 2004.

International Organization for Standardization. **ISO 17512**: 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*). Geneva, 26 p, 2008.

KIRKBY, E A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas -funções, absorção e mobilidade. **Versão em português Boletim** Micronutrients in plant physiology: functions, Proceedings, The International Fertiliser Society, Reino Unido, v. 4, 546 p, 2007.

KNIE, J.L.W.; LOPES, E.W.B. **Ensaio ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA / GTZ, 289 p, 2004.

KOBETIČOVÁ, K.; HOFMAN, J.; HOLOUBEK, I. Avoidance response of *Enchytraeus albidus* in relation to carbendazim ageing. **Environmental Pollution**, n.2, v.157, p.704–706. 2009.

KRISTANTO, G.A.; ASALOEI, H. Assessment of anaerobic biodegradability of live different solid organic wastes. **American Institute of Physics**. v.1826, n.020029, 2017.

KUMPIENE, J. et al. Assessment of methods for determining bioavailability of trace elements in soils: a review. **Pedosphere**, v.23, n.3, p.389-406, 2017.

LANDIM, A.B. Reciclagem de resíduos sólidos-parte I: Adição de *dregs* ao efluente do branqueamento ácido. **Revista O Papel**, p 32-36, 1995.

LAVELLE, P. et al., Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v.42, p.3–15. 2006.

LIMA, C. A. **Avaliação de risco ambiental como ferramenta para o descomissionamento de uma indústria de metalurgia de zinco**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 238 p, 2009.

LIMA, C.V.S. et al. Potencial de fitoextração do nabo forrageiro e da aveia preta em argissolo contaminado por cádmio. **Revista de Estudos Ambientais**, n.1, v.12, p.39-49, 2010.

LUNARDI NETO, A. et al. Atributos físicos do solo em área de mineração de carvão influenciados pela correção da acidez, adubação orgânica e revegetação. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, n.32, v.4, p.1379–1388, 2008.

MACCARI, A.P. et al. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v.16, 26 p. 2016.

MACIEL, T.M.S, ALVES, M.C, SILVA, F. C. Atributos químicos da solução e do solo após aplicação de resíduo da extração de celulose. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.19, n.1, p.84–90, 2015.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, p.355-381, 2008.

MÄKELÄ, M. et al. Cyclone processing of green liquor *dregs* (GLD) with results measured and interpreted by ICP-OES and NIR spectroscopy. **Chemical Engineering Journal**, v.304, p.448-453, 2016.

MÄKITALO, M. et al. An evaluation of using various admixtures of green liquor *dregs*, a residual product, as a sealing layer on reactive mine tailings. **Mine Water Environ**, 2015.

MARALDO, K. et al. Enchytraeids as indicator of soil quality in temporary organic grass-clover leys under contrasting management: A feasibility study. **Soil Biology and Biochemistry**, n.91, p.32–39. 2015.

MEDEIROS, C.J. et al. Calagem superficial com resíduo alcalino na indústria de papel e celulose em um solo altamente tamponado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.6, p.1657-1665, 2009.

MOLINA, C.E.C. et al. **Comportamento mecânico de misturas de resíduos da fabricação de papel e solo para utilização na construção rodoviária**. In: XVIII Congresso de Pesquisa e Ensino em Transportes. Departamento de Transportes, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

NURMESNIEMI, H. et al. The use of a sequential leaching procedure for heavy metal fractionation in green liquor *dregs* from a causticizing process at a pulp mill. **Chemosphere**, n.61, p.1475-1484, 2005.

NURSITA, A. et al. The effects of cadmium, copper, lead, and zinc on the growth and reproduction of *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.60, p.306-14, 2005.

OCDE (Organisation for Economic Co-operation and Development). **OECD Guideline for Testing of Chemicals**. Earthworm, Acute Toxicity Tests, 9 p, 1984.

OLIVEIRA FILHO, L.C.I. et al. Resíduo piritoso provoca toxicidade aguda e crônica em collembola e oligochaeta. **Scientia Agraria**, n.1, v.18, p.64-75, 2017.

OLIVEIRA, V.H. de. **Concentração de base de risco ecotoxicológico de cádmio em solos**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) Instituto Agrônomo, Campinas, SP, 2013.

PELOSI, C. et al. Pesticides and earthworms. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.34, p.199-228, 2013.

PÉRTILE, P. **Resíduo alcalino da indústria de celulose em solos ácidos e área degradada**. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo)-Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, SC, 2011.

PINHO, M.R.R.; CAHEN, R. Polpação química. In: D'ALMEIDA, M.L.O, **Celulose e papel: tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, SP, v.1. p.165-315, 1981.

PÖYKIÖ, R.; NURMESNIEMI, H.; KUOKKANEN, T. Green liquor *dregs* as an alternative neutralizing agent at a pulp mill. **Environmental Chemistry Letters**, v.4, n.1, p37-40, 2008.

RIBEIRO, A.P. **Avaliação do uso de resíduos sólidos inorgânicos da produção de celulose em materiais cerâmicos**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo- UNESP, SP, 2010.

RODRIGUES, L.R. **Caracterização de resíduos sólidos da indústria de celulose tipo kraft visando sua aplicação no desenvolvimento de materiais cerâmicos**. In: 22º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Natal, RN, 2016.

RÖMBKE, J. Estimates of the Enchytraeidae (Oligochaeta, Annelida) contribution to energy flow in the soil system of an acid beech wood forest, **Biology and Fertility of Soils**, v.11, p.255-260, 1991.

RÖMBKE, J. The role of Gilberto Righi in the development of tropical microdrile taxonomy, **Pedobiologia**, v.47, p.405-412, 2003.

RÖMBKE, J.; BAUER, C.; MARSCHNER, A. Hazard Assessment of chemicals in soil: proposed ecotoxicological test strategy. **ESPR - Environmental Science and Pollution Research**, v.3, p.78-82, 1996.

RÖMBKE, J; SCHMELZ, R.M; PÉLOSI, C. Effects of organo pesticides on enchytraeids (Oligochaeta) in agroecosystems: laboratory and higher-tier tests. **Environmental Science**, v.5, n.20, 2017.

SALTBERG, A. **Inorganic ions in wood chips**. Gothenburg: Chalmers University of Technology. 2009.

SANTOS, G.G.; FORRER, K.K. Avoidance behaviour of *Eisenia fetida* to carbofuran, chlorpyrifos, mancozeb and metamidophos in natural soils from the highlands of Colombia. **Chemosphere**, v.84, p.651–656, 2012.

SEGAT, J.C. et al. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.122, p.91-97, 2015.

SILVA, F.R. et al. Cinza de biomassa florestal: alterações nos atributos de solos ácidos do planalto catarinense em plantas de eucalipto. **Scientia Agraria**, v.10, n.6, p.475-482, 2009.

SILVA, P.M.C.S. et al. Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. **Applied Soil Ecology**, v.44, p.56–60, 2010.

SISINNO, C.L.S.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. Princípios de toxicologia ambiental: conceitos e aplicações. **Interciência**. Rio de Janeiro, RJ, 2013.

SLAWSKA, M, BRUCKNER, A, SLAWKI, M. Edaphic collembolan assemblages of Europe temperate primeval forests gradually change along a forest-type gradient. **European Journal of Soil Biology**, v.80, p.92-101, 2017.

SOUSA, V. de. **Avaliação da contaminação do solo por metais tóxicos (cádmio, cromo, chumbo e alumínio) em estandes de tiro no estado do Paraná/Brasil**. (Doutorado em Ambiente e Desenvolvimento) Lageado, PR, 2016.

STEEN, C. Separation and utilization of solid residue streams from kraft pulp mills. Tese (Doutorado em Chemical Engineering) Chalmers University Technology, Gothenburg, Sweden, 59 p, 2016.

- STEFFEN, R.B. et al. Avaliação de substratos para reprodução de colêmbolos nativos em condições de laboratório. **Ciencia Florestal**, v.17, n.3, p.265–269, 2007.
- SÜRMEELI, R.O. Vermicomposting system for a sustainable waste management at marmara university, **International Center of Sustainability**, v.1, n.3, Istanbul, Turkey, 2016.
- TOLEDO, F.H.S.F. de et al. Composto de resíduos da fabricação de papel e celulose na produção de mudas de eucalipto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, PB, v.19, n.7, p.711–716, 2015.
- TORRES, C.M.M.E. **Incorporação de dregs e grits de fábrica de polpa celulósica kraft ao cliquer para a produção de cimento Portland**. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016.
- TRIGUEIRO, R.M. **Efeito de “dregs e grits” nos atributos de um neossolo Quartzarenico e na produção volumétrica de eucalipto**. Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, Botucatu, SP, 2006.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Background report on fertilizer use, contaminants and regulations**. Protec. Agency/ Office of Pollution Prevention and Toxics. EPA, 747-R-98-003, United States Environ,p. 365, 1999.
- VERKLEIJ, J.A.C. Effects of heavy metals, organic substances, and P pesticides on higher plants. **Ecotoxicology of Soil Organisms**. SETAC. p.139-161. 1994.
- VILLAIN, L. **Pulping wastes and abandoned mine remediation: Application of green liquor dregs and other pulping by-products to the solidification/stabilization of copper mine tailings**. Master Thesis Chemistry. Department of Civil and Environmental Engineering, 2008.
- WALDEMAR, C.C.; HERRERA, J. Avaliação do potencial de utilização do dregs e do grits como corretivo de acidez e fertilizantes na agricultura. In: **Congresso anual da ABCP**, São Paulo, p.12-18, 1986.
- WEBER, J. Biogeochemical processes and role of heavy metals in the soil environment. **Magazine Geoderma**, v.122, p.105-107, 2004.
- ZAGATTO, P. A. **Ecotoxicologia**. In: Zagatto, P.A.; Bertoletti, E. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. São Carlos, Rima, p.1-12, 2006.
- ZORTÉA, T. et al. Toxicidade do cobre em função da correção do pH em dois solos naturais – uma abordagem com plantas e organismos edáficos. **Scientia Agraria**, v. 17, n.1, p. 1-9, 2016.
- ZORTÉA, T. et al. Toxicity of four veterinary pharmaceuticals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* in tropical soils. **Chemosphere**, 26 p. 2017.

3 **CAPITULO I - ECOTOXIDADE DE RESÍDUO CELULÓSICO (*DREGS*) PARA *EISENIA ANDREI* EM SOLOS DE SANTA CATARINA**

RESUMO

O aumento da produção e a crescente demanda por produtos celulósicos vêm demandando das empresas soluções sobre a destinação adequada dos resíduos gerados (*dregs*) sem comprometer a qualidade dos solos. O presente trabalho objetivou avaliar, por meio de ensaios padronizados (ISO), os efeitos ecotoxicológicos agudos e crônicos de concentrações crescentes de *dregs* em minhocas da espécie *Eisenia andrei* em solos naturais do estado de Santa Catarina. Para os ensaios de toxicidade aguda, os organismos foram expostos a concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%) para ambos os solos testados. Para os ensaios de toxicidade crônica, foram usadas as concentrações de 0, 1, 2, 3, 5, 9 e 15% e 0, 1, 1,5, 2,5, 4, 6,5, 10% para Cambissolo e Neossolo, respectivamente. Os resultados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda demonstraram que o aumento da concentração de *dregs* ocasionou letalidade de *E. andrei* em curto prazo, sendo esse efeito no Cambissolo a partir da concentração de 20% e no Neossolo de 10%. Os dados obtidos nos ensaios de toxicidade crônica mostraram efeitos nas concentrações de 9% e 2,5% para o Cambissolo e o Neossolo respectivamente, afetando significativamente a reprodução das *E. andrei*, resultando na CE₅₀ (Concentração Efetiva) de 13,70 e 6,52% para os respectivos solos. Não houve diferença estatística na perda de massa dos organismos. Concentrações crescentes de *dregs* no Cambissolo e no Neossolo causam letalidade e afetam a capacidade reprodutiva de *E. andrei*, sendo que a magnitude dos efeitos dependente das características de cada solo.

Palavras-chave: ecotoxicologia terrestre, *dregs*, minhocas, resíduo industrial

3.1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil ocupa a posição de sexto maior produtor mundial de celulose, nono na produção de papel e líder na produção de celulose de fibra curta (DEPEC, 2017). Dentro desta produção, para cada 100 toneladas de produto final, são geradas aproximadamente 50 toneladas de resíduos, entre sólidos, gases e fluentes hídricos (BELLOTE et al., 1998). Em decorrência a crescente demanda por produtos celulósicos, a quantidade resíduos gerados também aumentou e vem demandando das indústrias soluções sobre a destinação adequada dos resíduos produzidos, na tentativa de minimizar os riscos ecológicos causados pelo descarte inadequado em aterros sanitários (TOLEDO et al., 2015).

Dentro das indústrias o processo, de polpa *kraft* representa cerca de 90% da polpa química e mais de 60% da polpa de fibra virgem produzida em escala mundial (BJÖRKQVIST, 2015). Entre os resíduos gerados durante este processo destacam-se o licor verde, a lama de cal, os *grits* e os *dregs*. Devido à problemática sobre a destinação adequada dos resíduos têm surgido nos últimos tempos diversos trabalhos que buscam alternativas para a utilização destes materiais, principalmente do *dregs*, o que permite o aproveitamento e a diminuição do risco ecológico causada pela má destinação dos resíduos (ARRUDA, 2012; MACIEL et al., 2015; KRISTANTO, ASALOEI 2017).

Por ser proveniente de um processo que envolve aditivos químicos como óxidos, carbonatos de cálcio (Ca) e magnésio (Mg), alguns autores relatam que as características químicas finais do *dregs* são semelhantes a do calcário calcítico, possuindo, segundo eles, aproximadamente 350 g kg⁻¹ de Ca e de 10 a 30 g kg⁻¹ de Mg em sua composição (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007). Além de materiais compostáveis, resíduo mineral, nitrogênio total, cálcio e uma relação C/N de 25/1 (KRISTANTO, ASALOEI, 2017). Segundo Anhaia e Borszowskei (2012) pela quantidade de Ca e Mg na composição, o *dregs* pode ser aproveitado na agricultura, como condicionante químico, físico e biológico do solo, favorecendo assim o desenvolvimento de plantas de interesse agrícola e florestal.

As principais indústrias de papel e celulose do país encontram-se localizadas nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, em regiões onde os solos predominantes caracterizam-se pelo alto tamponamento de pH, elevados teores de matéria orgânica e Al trocável (ALMEIDA et al., 2007; LUNARDI NETO et al., 2008).

Visando o aproveitamento do *dregs* nos solos próximos às indústrias de produção, uma alternativa é a sua utilização do mesmo como agente alcalinizante (ALMEIDA et al., 2007; MEDEIROS et al., 2009; PÉRTILE, 2011; STEEN, 2016).

Na União Europeia a Diretiva 2008/98/EC (EC, 2008), designa destinação de resíduos industriais no solo segundo 15 propriedades de periculosidade, incluindo um critério para o risco ecotoxicológicos (H14 – “ecotoxic”). Este critério, utilizando bioindicadores do solo, identifica o quanto esses resíduos representam ou podem representar de risco para o ecossistema edáficos (MARALDO et al., 2015). No Brasil, ainda não existe uma legislação específica para as aplicações de resíduos industriais no solo, são utilizadas as resoluções como a CONAMA nº 420/09 que estabelece valores de referência de qualidade para a presença de elementos traços (CONAMA, 2009). Todavia, estes valores são baseados em resultados de análises químicas e ensaios de risco à saúde humana, existindo uma carência na utilização de organismos edáficos como critério de risco ecológico sobre a destinação de resíduos industriais nos solos (ALVES et al., 2016).

Ensaio de ecotoxicidade terrestres padronizados (ISO e OCDE) utilizam organismos edáficos para estimar a periculosidade de substâncias químicas (BARBOSA et al., 2017) sendo possível a partir deles, identificar valores de concentrações de *dregs*, que podem causar letalidade, afetar o crescimento, desempenho reprodutivo e mudanças comportamentais dos organismos do solo (LIMA, 2009; MACCARI et al., 2016; ZORTÉA et al., 2017). As respostas destes organismos quando em contato com o resíduo pode ocorrer imediatamente após o contato com o contaminante, também conhecida como toxicidade aguda ou ao longo do tempo como em ensaios de toxicidade crônica (BRENDOLAN, 2004; SEGAT et al., 2015; OLIVEIRA FILHO et al., 2017).

Dentre os organismos edáficos utilizados em ensaios de ecotoxicidade, destacam-se as minhocas, principalmente das espécies *E. fetida* e *E. andrei*, (ANDRÉA, 2010). Sobretudo, por representarem um elo importante da cadeia trófica terrestre, sendo à base de várias cadeias alimentares (CESAR et al., 2015) e também pelo papel imprescindível em processos do solo como a decomposição, homogeneização e incorporação de material orgânico, ciclagem de nutrientes, formação de húmus, além de favorecem propriedades físicas como a aeração, a capacidade de infiltração, a drenagem e retenção de água (LAVELLE et al., 2006; ALVES et al., 2015). Não obstante, as minhocas são consideradas por muitos

autores representativas sobre a fauna do solo, pois sua sensibilidade a produtos químicos é compatível a de outras espécies edáficas (CURRY, 2004; ANDRÉA, 2010; OLIVEIRA FILHO et al., 2017).

Nesse sentido, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar, por meio de ensaios padronizados (ISO), o efeito de concentrações crescentes de *dregs* na letalidade e reprodução de *E. andrei* em dois solos naturais do estado de Santa Catarina.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Origem e caracterização dos solos

Os dois solos utilizados para a realização dos ensaios de ecotoxicidade foram coletados em áreas distintas do estado de Santa Catarina, sem intervenções antrópicas e sem histórico de aplicação de *dregs*. O Cambissolo Háptico distrófico (Cambissolo) foi coletado nas proximidades da Rodovia Régis Bittencourt, SC 116, no município de Lages, SC (27° 53' 06'' S e 50° 24' 57'' W) distante 25 m da rodovia, já o Neossolo Quartzarênico Órtico típico (Neossolo), foi coletado distante 20 m na lateral de uma estrada rural, no município de Araranguá, SC (29° 00' 19.98'' S e 49° 31' 02,84'' W) (EMBRAPA, 2006).

Esses solos possuem classe textural bastante diferenciada e características, com diferenças do pH natural e teor de matéria orgânica (Apêndice A). Ambas as coletas de solo foram realizadas na camada de 0-0,20 m, transferidas para o laboratório de Ecologia do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, do Centro de Ciências Agroveterinárias (UDESC-CAV), secos em estufas à 65°C e tamisados em peneiras de 2 mm para a separação de resíduos vegetais e homogeneização das amostras. Os parâmetros físicos e químicos dos solos estão apresentados no Apêndice A.

Como solo padrão para a validação dos ensaios de ecotoxicidade foi utilizado o Solo Artificial Tropical (SAT), o qual é uma adaptação de Garcia (2004) do solo artificial OCDE (Organização Para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) (OCDE, 1984). O SAT é uma mistura de areia fina (> 50% de grãos 0,05-0,2 mm), argila caulínica (caulim em pó) e pó de fibra de casca de coco, numa proporção de 70:20:10, respectivamente. O SAT foi homogeneizado, e quando necessário, sua

acidez foi corrigida para $6,0 \pm 0,5$ com Carbonato de Cálcio (CaCO_3). Também foi determinada a capacidade de retenção de água (CRA) seguindo a ISO (1998).

3.2.2 O *dregs*

O *dregs* utilizado para a contaminação dos solos foi proveniente da retirada das impurezas do licor verde durante o processo polpa *kraft* das indústrias de papel e celulose. O resíduo foi seco ao ar e depois homogeneizado em peneira de 2 mm. As características químicas obtidas com o Analisador Elementar CHNS (SOHL et al., 2001) do material estão descritas no Apêndice B.

Os teores químicos totais do *dregs* utilizado foram determinados pelo método USEPA 3050 B, da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América. Essa metodologia consiste na tamisação do material em grau-de-ágata, em peneira de 0,15 mm. Onde foram pesados 0,5 g do produto final dentro de tubos de digestão e adicionado 5 ml de ácido nítrico (HNO_3) concentrado. As amostras em tubos foram transferidas para bloco digestor aberto, dentro de uma câmara de fluxo e aquecidas por 10 minutos a $95 \pm 5^\circ\text{C}$. Após, as amostras foram arrefecidas, receberam mais 2,5 ml de HNO_3 e levadas novamente ao bloco digestor a $95 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 2 h. Ao término foram resfriadas, receberam 1 ml de água destilada e 5ml de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30%, quando a efervescência diminuiu, foram levados ao bloco digestor por mais 2 h na mesma temperatura ($95 \pm 5^\circ\text{C}$). Para finalizar a digestão as amostras foram resfriadas e receberam 5 ml de ácido clorídrico (HCl) concentrado mais 20 ml de água destilada e aquecidas pela última vez no bloco digestor durante 15 minutos a $95 \pm 5^\circ\text{C}$. E finalmente, os tubos foram resfriados e a alíquota filtrada para recipientes plásticos com auxílio de filtro quantitativo nº 41. As concentrações totais de Al, Ag, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Si, Sr e Zn foram determinadas em espectrometria de emissão óptica com plasma, ICP OES (Optima 8300) e os valores de Na e K foram determinados em fotômetro de chamas (DM-62). As características químicas obtidas pela análise no ICP e no fotômetro de chamas estão apresentadas no Apêndice C.

3.2.3 Ensaio de ecotoxicidade

Para que os ensaios fossem validados seguiram-se as diretrizes de acordo com a OCDE e ISO que determinam índices de toxicidade aguda e crônica para *E.andrei* no solo padrão (SAT). Segundo a OCDE (1984) e ISO (1998), nos ensaios

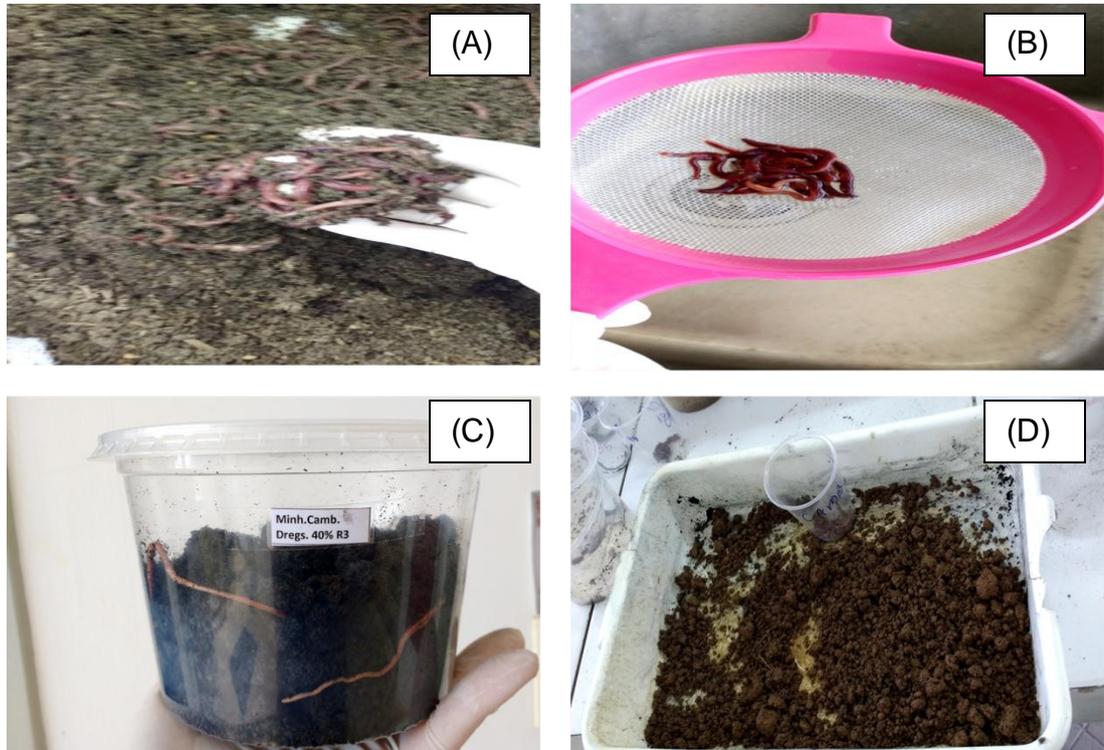
de toxicidade aguda a taxa de letalidade total de organismos nas amostras controles não pode exceder 10%. Esse mesmo critério de validação é usado para os ensaios de toxicidade crônica, além disso, o número de juvenis nos controles deve ser maior que 30 e o coeficiente de variação (CV) devem ficar abaixo de 30%.

As *E. andrei* foram cultivadas em laboratório, em meio de cultura constituído por esterco de equino livre de contaminantes, seco ao ar, peneirado a 2 mm e previamente submetido ao processo de desfauna (constituído de três ciclos de congelamento -20°C por 24 h), conforme as especificações e adaptações da ISO. Foi adicionado, juntamente com o esterco, fibra de casca de coco em pó e areia fina (> 50% de grãos medindo 0,05-0,2mm), na proporção 70:20:10 em peso seco respectivamente, como descrito por Alves et al. (2013). A acidez (pH) da mistura foi corrigida com CaCO₃ para 6,5 ± 0,5, e a umidade corrigida para 50% da capacidade de retenção. As *E. andrei* foram criadas em ambiente controlado com de 23±2°C e fotoperíodo de 12 h. A alimentação dos organismos baseou-se em mistura de aveia em flocos cozida em micro-ondas por cerca de 10 minutos com água destilada. A correção da umidade e a alimentação foram feitas semanalmente.

3.2.3.1 Toxicidade aguda - letalidade

Para os ensaios de toxicidade aguda seguiu-se protocolo ISO 11268-1(1998), onde foram utilizadas *E. andrei* adultas com clitelo desenvolvido, idade entre dois meses a um ano e com peso entre 300 e 500 mg cada (Figura 3.1 B), com aclimação em solo natural (Cambissolo e Neossolo), 24 h antes do início dos ensaios (Figura 3.1 A). Para o ensaio com o *dregs*, os solos foram contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40 60, 80 e 100%) (Figura 3.1 C). Foram realizadas quatro repetições, utilizando recipientes redondos de 1000 ml, com tampas perfuradas, e preenchidos com 500 g de cada solo, correspondendo no recipiente à altura entre cinco e seis centímetros. A umidade foi corrigida para 50 % da capacidade de retenção de água, e em cada uma das unidades experimentais foram adicionadas 10 organismos. As *E. andrei* ficaram expostos durante 14 dias em solo contaminado e em ambiente controlado (temperatura 23±2°C; fotoperíodo 12 h). Após esse período as *E. andrei* sobreviventes foram removidas, pesadas e contadas (Figura 3.1 D). Também foi feita a verificação da umidade, pH e condutividade elétrica final de cada concentração.

Figura. 3.1 Vista do ensaio de toxicidade aguda com *E. andrei*, demonstrado adultas aclimatadas em solo natural (A), limpeza e quantificação de peso corporal de cada organismo (B), solo natural na concentração de 40% de *dregs* (C) e retirada e contagem dos organismos sobreviventes no final do ensaio (D).



Fonte: Próprio autor (2017)

3.2.3.2 Toxicidade crônica – reprodução

Para os ensaios toxicidade crônica com *E. andrei* as recomendações seguidas foram de acordo com ISO: 11268-2 (ISO, 2012). Da mesma maneira que para o ensaio de toxicidade aguda, foram utilizadas minhocas com clitelo aparente, peso entre 300 e 500mg e aclimatadas 24 h antes. Utilizaram-se 500 g de solo em cada recipiente plástico, com as concentrações de *dregs* de 0, 1, 2, 3, 5, 9 e 15% para o Cambissolo e de 0, 1, 1,5, 2,5, 4, 6,5 e 10% para o Neossolo.

Essas concentrações foram estimadas a partir dos resultados dos ensaios de toxicidade aguda. Realizaram-se quatro réplicas com 10 organismos em cada unidade experimental. As *E. andrei* permaneceram por 28 dias em ambiente controlado (temperatura $23\pm 2^{\circ}\text{C}$; fotoperíodo 12 h). Após, as adultas foram retiradas, contadas e pesadas, permanecendo no recipiente o solo juntamente com os casulos e juvenis. Após 56 dias do início do ensaio (28 da retirada dos adultos), os

recipientes foram colocados em banho-maria a $60\pm 5^\circ\text{C}$ por 1 h, para forçar o deslocamento dos juvenis a superfície do solo, possibilitando a contagem. Para manutenção do ensaio foi fornecido, semanalmente, esterco de equino (seco, peneirado e desfaunado) na quantidade de 5 g (uma colher de sopa) por recipiente e corrigida a umidade dos solos por diferença de peso.

3.2.3.3 Análise estatística

Para os dados de toxicidade aguda foram estabelecidos os valores de CL_{50} e CL_{20} , ou seja, concentração letal que causa 50 e 20% de letalidade, respectivamente, utilizando-se o software PriProbit® 1.63 (SAKUMA, 1998). Foram verificadas também a normalidade e homogeneidade dos dados através dos ensaios de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, por meio do Software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004). Com o mesmo programa os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA One-way), seguida pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), para comparação dos resultados com as amostras controles.

Para os ensaios de toxicidade crônica, realizou-se análise de regressão não linear, com o programa Software Statistica 7.0 usando o modelo que melhor se ajustou aos dados entre os modelos: Exponencial, Logístico, Gompertz ou Hormesis (ENVIROMENT CANADA, 2007) para determinar os valores de CE_{50} e CE_{20} , (concentração de efeito em 50 e 20% sobre a reprodução, respectivamente). As médias obtidas no ensaio de toxicidade crônica foram também comparadas com a concentração controle ($0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$), pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Anteriormente também foram verificadas a normalidade e homogeneidade dos dados através dos ensaios de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett. A significância das respostas médias sobre alterações na biomassa corporal das minhocas foi testada por meio da análise de variância (One-way ANOVA).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Ensaios de ecotoxicidade - validação

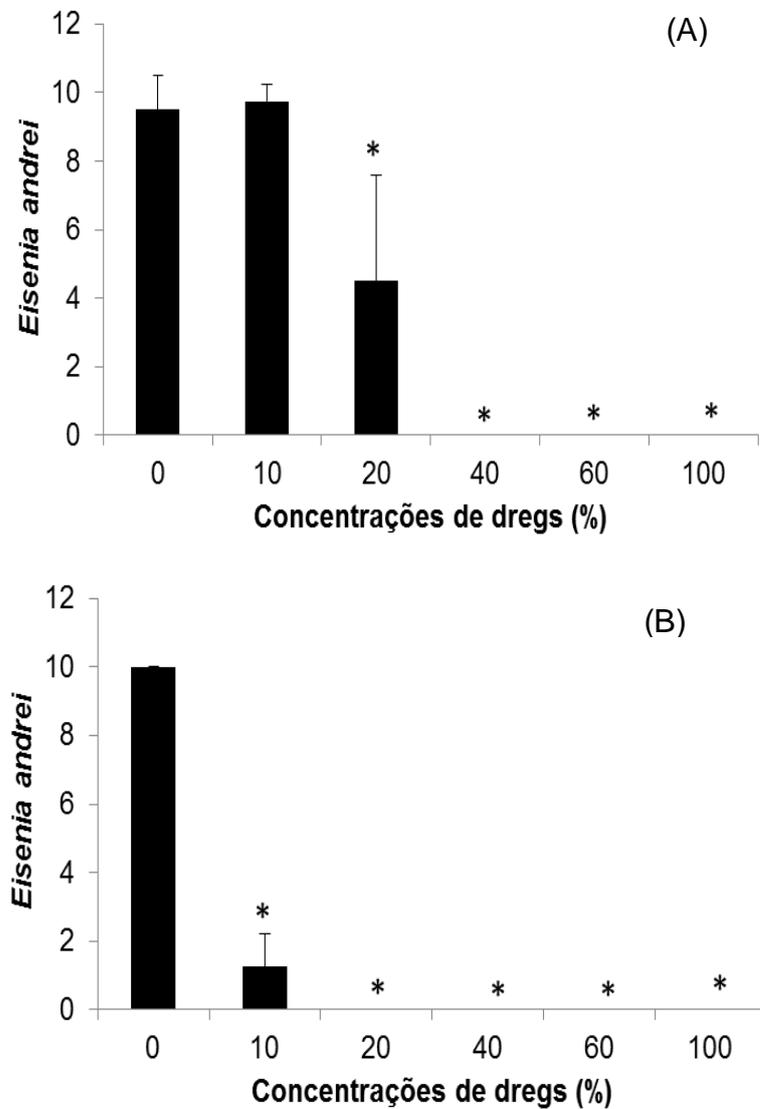
Os ensaios de toxicidade aguda e de toxicidade crônica cumpriram os critérios de validação exigidos pelas normativas ISSO 11268-1 e 11268-2 (ISO 1998). Nos ensaios de toxicidade aguda a letalidade das *E. andrei* adultas não ultrapassaram 10% do total de organismos nas amostras controles. Assim como nos

ensaios de toxicidade crônica, o número de juvenis nos controles seguiu os critérios de validação, ficando acima de 30 por recipiente (± 142 juvenis) e o coeficiente de variação (CV) ficou $< 30\%$ (CV de 7,35%), validando assim os ensaios.

3.3.2 Toxicidade aguda- letalidade

A sobrevivência para *E. andrei* nos tratamentos sem contaminação foi de 100% para o Neossolo e 95% para o Cambissolo. Os organismos tiveram comportamento diferenciado nos dois solos na medida em que houve aumento das concentrações de *dregs*. Para o Cambissolo foi observado letalidade significativa a partir da concentração de 20%, e morte total das *E. andrei* nas concentrações seguintes (40, 60, 80 e 100%). No Neossolo, as *E. andrei* apresentaram toxicidade na primeira concentração testada (10%), causando a letalidade de 88% dos organismos, e letalidade total dos organismos nas concentrações seguintes (Figura 3.2). Na Figura 3.3 é possível ver os organismos de *E. andrei* mortos na superfície da réplica de 40% no Neossolo.

Figura 3.2 *E. andrei* vivos após 14 dias em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (┐) Desvio padrão.



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura 3.3 Vista do interior do recipiente na concentração de 40% aplicados no Neossolo.



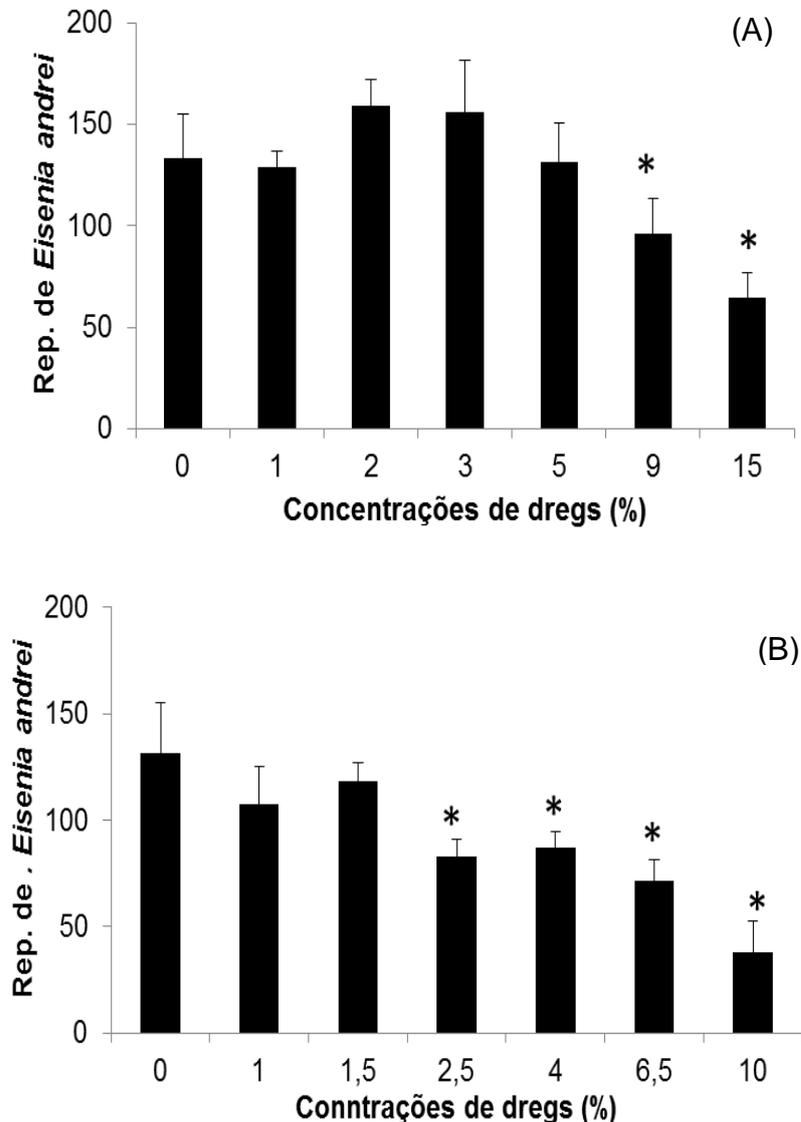
Fonte: Próprio autor (2017)

Com base nos dados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda, estimou-se a concentração letal para 50% e 20% dos organismos (CL_{50} e CL_{20}) e, quando gerados seus intervalos de confiança, para o Cambissolo o CL_{50} foi de 18,9% (14,2-25,2%) e CL_{20} : 24,4% (19,7-46,8). Já para o Neossolo o CL_{50} foi à concentração de 8,5% e o CL_{20} ficou em 9,6%.

3.3.3 Toxicidade crônica – Reprodução

A toxicidade crônica para *E. andrei* no Cambissolo aumentou nas concentrações 2% e 3% (± 160 e ± 157 respectivamente) quando comparados ao tratamento sem adição do resíduo (± 133) e, posteriormente, teve um decréscimo significativo ($p < 0,05$) no número de juvenis nas maiores concentrações testadas (9 e 15%). O incremento de *dregs* no Neossolo também afetou a reprodução de *E. andrei*, com uma redução significativa no número médio de organismos juvenis gerados a partir da terceira concentração testada de 2,5%, diminuindo ainda mais nas concentrações seguintes (Figura 3.4).

Figura 3.4 Reprodução (Rep.) de *E. andrei* após 28 dias em Cambissolo (A), com as concentrações de 0, 1, 2, 3, 5, 9 e 15% de *dregs* e em Neossolo (B) com as concentrações de 1, 1,5, 2,5, 4, 6,5, e 10%. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett (\top) Desvio padrão.

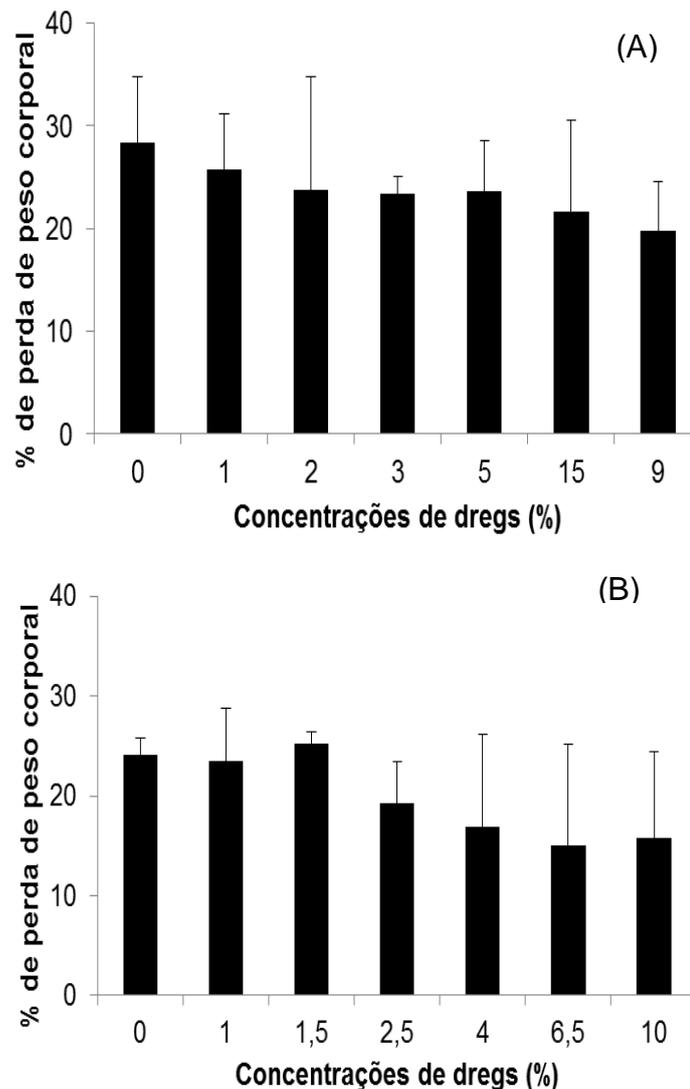


Fonte: Próprio autor (2017)

A partir dos resultados obtidos para o Cambissolo e o Neossolo estimou-se a concentração efetiva para 20 e 50% (CE_{20} e CE_{50}) com seus respectivos intervalos de confiança. O valor de CE_{20} para o Cambissolo foi 7,53% (4,3-10,7), enquanto o valor de CE_{50} ficou em 13,70% (10,9-16,5), calculados pelo Modelo Gompertz. Para o Neossolo o modelo que melhor se ajustou, ou seja, obteve o menor intervalo de confiança foi o Modelo Exponencial, tendo o valor de CE_{20} de 1,2% (0,1-9,5) e o CE_{50} de 6,52% (4,6-8,4).

A biomassa corporal dos organismos adultos após 28 dias de exposição a concentrações não letais de *dregs* não apresentou diferença estatística em nenhum dos solos avaliados. Para o Cambissolo a porcentagem de perda de peso corporal ficou próxima a 20% para todos os tratamentos, já para o Neossolo a perda de massa corporal foi maior nas três primeiras concentrações (0, 1 e 1,5%) ficando próximo a 25% e decaindo com o acréscimo de resíduo, com 15% nas maiores concentrações, como pode ser percebido na Figura 3.5.

Figura 3.5 Redução média de peso corporal (%) para *E. andrei* após 28 dias de exposição nas concentrações de 0,1, 2, 3, 5, 9 e 15% para Cambissolo (A) e nas concentrações 1, 1,5, 2,5 4, 6,5 e 10% para Neossolo (B). Sem diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett ($\bar{\tau}$) Desvio padrão.



A adição do *dregs* nos dois solos ocasionou um aumento do pH e da condutividade elétrica (C.E) tanto para os ensaios de toxicidade aguda (Apêndice D e E) como para os ensaios de toxicidade crônica. Onde tanto o Cambissolo como o Neossolo tiveram um aumento considerável nestas variáveis. Nos testes de toxicidade crônica a maior concentração testada para o Cambissolo (15%) atingiu um valor de pH de 7,24 e condutividade elétrica de 1.36 dS m⁻¹. Já para o Neossolo os valores aumentaram de 5,69 e 0,48 dS m⁻¹ no solo “in natura” para 7,80 e 0,79 dS m⁻¹ na concentração de 10% respectivamente (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 Valores de pH (KCl) e condutividade elétrica (C.E.) dos ensaios de toxicidade crônica com *E. andrei* para o Cambissolo e para Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (56 dias após).

Concentração (%)	Início do ensaio		Final de 56 dias	
	pH	C.E.	pH	C.E.
Cambissolo				
0	4,13	0,03	4,23	0,06
1	5,06	0,15	5,36	0,58
2	5,86	0,36	5,99	0,60
3	6,63	0,65	6,65	0,84
5	6,73	0,73	6,91	0,86
9	7,27	0,85	7,19	1,00
15	7,36	0,83	7,24	1,36
Neossolo				
0	5,46	0,05	5,69	0,48
1	6,02	0,13	6,73	0,49
1,5	6,51	0,16	6,97	0,60
2,5	6,85	0,24	7,21	0,64
4	7,18	0,36	7,24	0,71
6,5	7,25	0,52	7,53	0,76
10	7,37	0,72	7,80	0,79

Fonte: Próprio autor (2017)

3.4 DISCUSSÃO

Nos ensaios de toxicidade aguda, ocorreram efeitos significativos nas concentrações de 20% para o Cambissolo e na menor concentração para o Neossolo (10%). Percebeu-se que no Neossolo os efeitos são maiores quando comparados ao Cambissolo. Conforme Linfhurst et al. (1995) os ensaios de toxicidade aguda fornecem medidas diretas da biodisponibilidade dos poluentes no

solo e podem ajudar a estabelecer as ligações entre a contaminação e os efeitos ecológicos adversos.

O maior efeito de letalidade encontrada no Neossolo está relacionada com a disponibilidade elevada de elementos traços e Na (sódio) que a deposição de *dregs* proporciona nesse solo. Estudos como o de Scherer, Nesi e Massoti (2010) mostram que solo com características mais arenosas contribuem para a maior disponibilidade e mobilidade de elementos tóxicos. Chelinho et al. (2011) testando ensaios de ecotoxicidade com *E. andrei* em solos arenosos destacam que os resultados precisam ser interpretados com cautela, uma vez que as características pedológicas do solo podem influenciar nos resultados obtidos.

Segundo Natal-da-luz, Rombke e Sousa (2008) os atributos físicos e químicos do solo podem afetar de forma direta ou indireta os organismos, determinando uma maior ou menor disponibilidade de contaminantes nos solos, assim como, a maior biodisponibilidade de contaminantes via deposição de resíduos. Desta forma e faz de suma importância conhecer as características do solo, uma vez que elas podem ocasionar estresse aos organismos, que não aqueles relacionados ao contaminante, podendo confundir ou influenciar as respostas dos ensaios quanto a contaminantes (BARETTA et al., 2014).

Vários trabalhos relatam sobre a influência das características físicas e químicas dos solos sobre a absorção e a toxicidade de elementos traços em minhocas, pois tais características influenciam o comportamento de diferentes poluentes. Os efeitos mais pronunciados obtidos neste estudo para o Neossolo estão associados com a disponibilidade de contaminantes do resíduo adicionado.

César et al. (2008) avaliando toxicidade do solo de mina contaminada com elementos-traços, perceberam que solos com granulometria menor tem maior potencial de retenção de elementos-tóxicos, enquanto nos solos arenosos como é o caso do Neossolo do presente estudo, onde a disponibilidade dos elementos-tóxicos aumentou. Branco et al. (2013) testando a influência da aplicação de concentrações iguais de *dregs* nas propriedades químicas em um Cambissolo Húmico e em um Neossolo Quartzarênico constataram que a granulometria mais grosseira e a menor quantidade de matéria orgânica no Neossolo influenciam diretamente na adsorção dos compostos químicos, aumentando a concentração destes na solução do solo, o que em grande quantidade colaborou nesse estudo para a letalidade de *E. andrei* no solo.

A textura arenosa e os menores teores de matéria orgânica no Neossolo diminuíram a adsorção de contaminantes, aumentando conseqüentemente os efeitos deletérios do *dregs nas E. andrei*. Kula e Larink (1997) conduzindo estudos com a espécie *E. fetida*, e comparando o solo OCDE e um solo natural, encontraram valor de CL₅₀ menor no solo natural, o que foi relacionado com o menor teor de matéria orgânica, o que, segundo eles, deixou o contaminante mais biodisponível aos organismos. Os resultados obtidos nesse estudo corroboram para essa teoria, já que os ensaios de toxicidade no Neossolo causaram efeitos deletérios mais pronunciados, uma vez que o teor de matéria orgânica é de 1,3%, enquanto o Cambissolo testado é de 3,05% (Apêndice A).

Os ensaios de toxicidade crônica com *E. andrei* demonstraram a existência de uma relação concentração-resposta (aumento da concentração – diminuição dos juvenis) para ambos os solos estudados (Figura 3.4). Contudo, os ensaios de toxicidade crônica, mostraram que concentrações superiores a 9% para o Cambissolo e de 2,5% para o Neossolo têm indícios de toxicidade crônica, já que diminuem o número de juvenis gerados. Esse efeito encontrado nas concentrações mais elevadas foi causado pelas maiores concentrações de Na e elementos traços característicos do resíduo celulósico.

A redução no número de juvenis gerados no Neossolo foi influenciada pela maior disponibilidade de elementos traços encontrados no *dregs*. Waalewijn-kool et al. (2013) destacam que a biodisponibilidade de elementos traços para os organismos do solo, está associada às propriedades químicas (pH, teor de matéria orgânica e capacidade de troca catiônica), físicas e mineralógicas (granulometria) dos solos. Como o Neossolo apresenta uma CTC (Capacidade de Troca Catiônica) de 4,9 (Apêndice A) com poucas cargas negativas quando comparado com o Cambissolo testado (20,94), mostrando que o uso de resíduos em solos arenosos deve ser feita com cuidados adicionais, haja vista que a disponibilidade de elementos traços na solução do solo é prontamente disponível para os organismos, é maior do que em solos argilosos decorrente a menor valor de CTC (BRANCO et al., 2013).

Quando quantidades elevadas de resíduos celulósicos são utilizadas em culturas agrícolas, normalmente os organismos do solo ficam expostos a misturas de substâncias tóxicas. Onuoha e Worgu (2011) estudando a toxicidade de combinações de metais em *E. andrei* encontraram efeitos na reprodução em

concentrações de Zn igual 1000 mg kg^{-1} de solo, Pb $194,58 \text{ mg kg}^{-1}$ e Cu $103,9 \text{ mg kg}^{-1}$, maiores que as encontradas para o presente estudo. Para o Cambissolo os efeitos na toxicidade crônica foram significativos a partir das concentrações no *dregs* de 39,50, 33,37, $100,29 \text{ mg kg}^{-1}$ para Zn, Pb e Cu, e de 10,04, 6,09, $15,54 \text{ mg kg}^{-1}$ para Zn, Pb e Cu para o Neossolo, respectivamente. Onuoha e Worgu (2011) relatam que individualmente o Cu é mais tóxico que o Zn, mas o mesmo torna-se menos tóxico quando atua em concentração equitóxica com o Zn. De acordo com Domene et al. (2010) substâncias podem apresentar toxicidades diferenciadas dependendo das propriedades do solo, as quais determinam a biodisponibilidade de contaminantes.

Natal-da-Luz et al. (2011) avaliando a toxicidade de misturas de Cr, Cu, Ni e Zn constataram dificuldade de avaliar resíduos que apresentam mais de um composto passível de causar toxidez, sendo essa dificuldade também relatada por Crouau, Gisclard e Perotti (2002), o que também ocorre na avaliação de resíduos industriais como o *dregs*. Spurgeon et al. (1994) destacam que ensaios de toxicidade crônica, são um parâmetro importante para mensurar a toxicidade de elementos traços no solo. Alguns estudos indicaram que os elementos traços reduzem as taxas de reprodução de *E. andrei* por atuarem principalmente na redução da produção de casulos destes organismos (NEUHAUSER et al., 1984; SPURGEON et al., 1994, WEBER, 2004, CAIRES, 2005).

Minhocas da espécie *E. andrei* são tolerantes a uma faixa de pH entre 4 e 9, mas preferem condições de pH neutro a levemente ácidos entre 5 e 7 e solos com teores de matéria orgânica elevados (JÄNSCH et al., 2005). Para Van Gestel e Hoogerwerf (2001) os efeitos do pH sobre a reprodução de *E. andrei* podem superar o efeito tóxico da substância avaliada, os autores constataram uma redução no número de juvenis em valores de pH de 4, 6,5, 7,5 e 8 e uma alta reprodução em condições de pH entre 5 e 6. Os valores de pH nesse estudo coincidiram com os valores encontrados por Van Gestel e Hoogerwerf (2001), onde teve uma diminuição no número de juvenis nas maiores concentrações testadas, em que o pH ficou acima de 6 (Tabela 3.1).

Onuoha e Worgu (2011) avaliando efeito de combinações de elementos traços sobre *E. andrei*, atribuíram a redução no número de casulos e de juvenis ao aumento nos valores de pH no final do ensaio e não na combinação de Zn e Pb. Foi possível observar, no presente estudo, que ao adicionarmos o *dregs* aos solos, os

valores de pH tendem a se elevar, tal fato decorre da abundância de carbonatos neste material, o que prejudicou a reprodução das *E. andrei*. O mesmo ocorreu em estudos onde se adicionou sedimentos de dragagem com altos teores de carbonatos no solo (COLONESE, 2011). Este autor constatou que a condutividade do solo, quando adicionado o sedimento de dragagem, também aumentou, principalmente pela grande quantidade de íons do material, assim como ocorreu com resíduo celulósico (*dregs*).

As concentrações de micronutrientes encontrados no *dregs* “in natura” tiveram os teores de Cu (279 mg kg^{-1}) e de Zn (504 mg kg^{-1}) mais elevados que os teores encontrados por outros autores analisando lotes diferentes do mesmo material, que encontraram valores de 54 e 235 mg kg^{-1} (ALMEIDA et al., 2007), 123 e 256 mg kg^{-1} para Cu e Zn, respectivamente (BRANCO et al., 2013). Outros micronutrientes tem concentrações semelhantes com as de pesquisas já feitas, como é o caso do Na ($12,46 \text{ mg kg}^{-1}$), e Pb ($60,51 \text{ mg kg}^{-1}$), que se aproximam dos valores encontrado por Almeida et al. (2007) e Lunardi Neto et al. (2008) de Na ($10,2$ e 34 mg kg^{-1}), Pb ($62,9$ e $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$), respectivamente.

O aumento de Na nos solos causada pela adição de *dregs* causou efeitos deletérios às *E. andrei* (Figura 3.2). Owojori et al. (2009) observando o efeito na letalidade de minhocas pelos valores da condutividade elétrica, verificaram valores significativos a partir de $1,03 \text{ dS m}^{-1}$ e letalidade total a partir de $1,31 \text{ dS m}^{-1}$. Já neste estudo a condutividade elétrica nos ensaios de toxicidade crônica, correspondeu a concentrações significativa de 20% para o Cambissolo correspondendo a condutividade elétrica de $1,98 \text{ dS m}^{-1}$ e para o Neossolo de $1,48 \text{ dS m}^{-1}$ (concentração de 10%), acima da concentração onde ocorreu letalidade total das minhocas no estudo de Owojori et al. (2009) (Apêndice E).

As variações da biomassa das *E. andrei* nos bioensaios não diferiram significativamente ($p < 0,05$) da amostra controle em nenhum dos solos testados, uma vez que houve tendência de perda da biomassa das *E. andrei*, inclusive nos controles. Nunes e Spindola (2012) atribuíram a perda de biomassa nos solos controles à baixa concentração de matéria orgânica nos solos naturais utilizados, assim como ocorreu para o Cambissolo e o Neossolo “in natura” (Figura 3.5). Porém, foi possível observar que o acréscimo de *dregs* nos solos proporcionou uma leve diminuição da perda de peso dos organismos (Figura 3.5). Este fato está associado à abundância de matéria orgânica no *dregs* e o consequente aumento na oferta de

alimento. Da mesma forma que Colonese (2011) constatou, utilizando sedimentos de dragagem em um Chernossolo, concluindo que a perda de biomassa em minhocas pode não ser um bom indicador na avaliação ecotoxicológica de solos contaminados por materiais com alto teor de matéria orgânica.

Segundo Alves (2015) o que geralmente ocorre é a perda de biomassa conforme a quantidade de contaminante aumenta. Porém, Dores-Silva et al. (2013) mostraram que, quanto maiores as concentrações de resíduos da indústria de tabaco no solo, maiores foram os incrementos de biomassa, porém, os autores ressaltam que o aumento de material orgânico proporcionada pelo resíduo da indústria de tabaco não são suficientes para melhorar o crescimento dos organismos.

Contudo, o aumento de sódio nos solos devido a adição do resíduo pode ter levado a uma mudança osmótica no corpo das *E. andrei*, ocorrendo a absorção de sais pela epiderme dos organismos e conseqüentemente um aumento da concentração desse íon no corpo em um nível tal que levou à conseqüente absorção de água, o que determinou uma menor perda de peso corpóreo devido a maior absorção de água. Esse mesmo efeito foi relatado por Bianchi (2013), quando testou resíduos de mineração (lama vermelha) em ensaios de ecotoxicidade. Desta forma, a menor perda de peso pode ser atribuída pela absorção de água e não pelo aumento das concentrações de matéria orgânica do *dregs* no solo, principalmente no Neossolo.

3.5 CONCLUSÕES

Concentrações crescentes de resíduo de indústrias de papel e celulose (*dregs*), quando adicionados ao solo causam letalidade e afetam a capacidade reprodutiva de *E. andrei*, sendo que a magnitude destes efeitos depende do tipo de solo.

Concentrações de 20% de *dregs* aplicados em Cambissolo e de 10% para o Neossolo causam efeitos significativos na letalidade de *E. andrei*, enquanto que as concentrações de 18,9% e 8,5% causam letalidade de 50% destes organismos para os respectivos solos. Já concentrações muito menores de 13,70% e 6,52 (4,6-8,4) para o Cambissolo e o Neossolo respectivamente, causam efeitos nocivos na reprodução de 50% de *E. andrei*, fazendo com que a utilização de *dregs* nestes

solos quando nestas concentrações cause risco ecológico, comprometendo os organismos edáficos.

As concentrações de até 15% para o Cambissolo e de até 10% para o Neossolo, não afetam significativamente ($p < 0,05$) o peso corporal de *E. andrei*, porém tem efeitos pronunciados na reprodução destes organismos.

3.6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, H.C. et al. Influência da adição de um resíduo industrial alcalino na velocidade de neutralização da acidez do solo, adsorção de sódio e disponibilidade de magnésio para o trigo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, SC, n.2, v.6, p.104-113, 2007.
- ALVES, P.R.L. Ecotoxicological characterization of sugarcane vinasses when applied to tropical soils, **Science of the Total Environment**, v.526, p. 222-232, 2015.
- ALVES, P.R.L. et al. Ecotoxicological impact of arsenic on earthworms and collembolans as affected by attributes of a highly weathered tropical soil. **Environmental Science Pollutants**, 2016.
- ANDRÉA, M.M. de. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoológica Mexicana**, v.2, n.2, p.95–107, 2010.
- ARRUDA, O.G. **Uso do resíduo da extração de celulose e o impacto em solo de cerrado cultivado com eucalipto e espécie arbórea nativa**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, Botucatu, SP, 101 p, 2006.
- ANHAIA, S.A. F.; BORSZOWSKI, P.R. Reaproveitamento de resíduos gerados na fabricação de celulose e papel como substrato na hidroponia para cultura de alface (*Lactuca sativa*). **Revista Technoeng**, Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais –CESCAGE. Ponta Grossa, PR, n.5, 2012.
- BARBOSA, L.R. et al. Indicadores microbiológicos e químicos de qualidade de um Latossolo Amarelo sob manejo convencional em diferentes idades. **Bioscience Journal**, v.33, n.3, p.601-609, 2017.
- BARETTA, D. et al. Ecotoxicologia terrestre com ênfase na fauna edáfica. BROWN, G.G.; NIVA, C.C. **Ecotoxicologia Terrestre: Métodos e Aplicações dos Ensaio com Oligoquetas**. Curitiba: EMBRAPA Florestas, prelo, 2014.
- BRANCO, S.B. et al. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.1, n.49, p.543–550, 2013.
- BELLOTE, A.F.J. et al. Resíduos da indústria de celulose em plantios florestais. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, Embrapa, v.37, p.99-106, 1998.

BIANCHI, M. de O. **Ensaio ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo.** Tese (Doutorado em Ciência do solo) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2013.

BJÖRKQVIST, S. **Towards a circular economy in the pulp and paper industry: Possible reuse of solid residues from kraft pulp mills as fertilizer to the forest.** Chalmers University of technology. Gothenburg, Sweden, 40 p, 2015.

BRANCO, S.B. et al. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.1, n.49, p.543–550, 2013.

BRENDOLAN, R. A. **Utilização do microcrustáceo *Kalliapseudes schubartii* em ensaios de ecotoxicologia.** Dissertação (Mestrado em Biologia Marinha) - Instituto de Biologia, Niterói, SP, 93 p, 2004.

CAIRES, S.M. **Comportamento de mudas de espécies florestais nativas na fitorremediação de solo contaminado com zinco e cobre.** Dissertação (Mestrado em Solo e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 63 p, 2005.

CÉSAR, R. et al. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation based on bioassays with springtails and enchytraeids. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, p.2916-2924, 2015.

CÉSAR, R.G. et al. 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.

CHELINHO, S. et al. 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 oligochaeta species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.30, p.1050-1058, 2011.

COLONESE, J.P. **Disposição continental de sedimentos de dragagem: uma abordagem ecotoxicológica utilizando oligoquetas.** 2011.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução Nº 420, de 28 de dezembro de 2009.

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.

CURRY, J.P. Factors affecting the abundance of earthworms in soils. P. 91-113. In: C. A. Edwards (Ed.). **Earthworm Ecology**. 2nd. CRC Press, Boca Raton, 2004.

DEPEC - Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos, **Papel e celulose**, BRADESCO. 2007.

DOMENE, X. et al. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. **Environmental Pollution**, Barking, v.155, p.227-236, 2008.

DORES-SILVA P.R. et al. Bioensaios para avaliação da toxicidade aguda, reprodução e ganho de biomassa de minhocas (*Eisenia fetida*) ambientadas em lodo de esgoto doméstico. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, Itajaí, SC, v.8, n.1, p.143-146, 2013.

EMBRAPA, **Sistema brasileiro de classificação de solos** - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária-EMBRAPA Solo, 2.d, 286 p, 2006.

European Community - EC. Council Directive 2008/98/EC: Directive of the European Parliament and of the Council of 19 November 2008 on waste and repealing certain Directives. 549. **Official Journal of the European Union**, Brussels, n.312, p.3-30, 2008.

European Environment Agency - EEA. **EEA history in short**. Disponível em http://org.eea.eu.int/documents/ar1997/ar97_history.html. Acesso em 17 abr. 2017.

GARCIA, M.V.B. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Ph.D. Thesis - University of Bonn. Bonn: Germany, 283 p, 2004.

International Organization for Standardization. **ISO 11267**: Soil quality - Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. Geneva, 16 p, 1998.

International Organization for Standardization **ISO 11268-2**: Soil quality - Effects of pollutants on earthworms - Pt 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*. Geneva, 21 p, 2012.

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*). Geneva, 26 p, 2008.

JÄNSCH, S. et al. Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. **Environmental Reviews**, v.13, p.51-83, 2005.

KRISTANTO, G.A.; ASALOEI, H. Assessment of anaerobic biodegradability of live different solid organic wastes. **American Institute of Physics**. v.1826, n.020029, 2017.

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, v.29, n.4, p.635-639, 1997.

LAVELLE, P. et al. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v.42, p.3–15, 2006.

LIMA, C. A. **Avaliação de risco ambiental como ferramenta para o descomissionamento de uma indústria de metalurgia de zinco**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 238 p, 2009.

LINFHURST, R.A.; BOURDEAU, P.; TARDIFF, R.C. Methods to assess the effects of chemicals on ecosystems *In: SCOPE 53. Methods to study chemical effects. Scientific Committee on Problems of the Environment Report*, n.53, 1995.

LUNARDI NETO, A. et al. Atributos físicos do solo em área de mineração de carvão influenciados pela correção da acidez, adubação orgânica e revegetação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n.32, v.4, p.1379–1388, 2008.

MACCARI, A.P. et al. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v.16, 26 p. 2016.

MACIEL, T.M.S, ALVES, M.C, SILVA, F. C. Atributos químicos da solução e do solo após aplicação de resíduo da extração de celulose. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.19, n.1, p.84–90, 2015.

MARALDO, K. et al. Enchytraeids as indicator of soil quality in temporary organic grass-clover leys under contrasting management: A feasibility study. **Soil Biology and Biochemistry**, n.91, p.32–39. 2015.

MEDEIROS, C.J. et al. Calagem superficial com resíduo alcalino na indústria de papel e celulose em um solo altamente tamponado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.6, p. 1657-1665, 2009.

NATAL-DA-LUZ, T. et al. Toxicity to *Eisenia andrei* and *Folsomia candida* of a metal mixture applied to soil directly or via an organic matrix. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n.6, p.1715-1720, 2011.

NATAL-DA-LUZ, T.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J.P. Avoidance tests in site-specific risk assessment - influence of soil properties on the avoidance response of Collembola and earthworms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.27, p.1112-1117, 2008.

NEUHAUSER, E.F. et al. Toxicity of metals to the earthworms *Eisenia foetida*. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.1, p.149-152, 1985.

NUNES, M.E.T.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Sensitivity of *Eisenia Andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. **Ecotoxicology**, v. 2, p.1063-1071. 2012.

NURMESNIEMI, H. et al. The use of a sequential leaching procedure for heavy metal fractionation in green liquor *dregs* from a causticizing process at a pulp mill. **Chemosphere**, n.61, p.1475-1484, 2005.

OLIVEIRA FILHO, L.C.I. et al. Resíduo piritoso provoca toxicidade aguda e crônica em collembola e oligochaeta. **Scientia Agraria**, n.1, v.18, p.64-75, 2017.

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.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 207: Earthworm Acute Toxicity Test**. Paris, 9 p, 1984.

OWOJORI, O.J. et al., Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (*Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*). **Pedobiologia**, v.52, p.351—360. 2009.

PÉRTILE, P. **Resíduo alcalino da indústria de celulose em solos ácidos e área degradada**. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo). Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages, SC, 2011.

SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology**. Tokyo, v.33, n.3, p.339-347, 1998.

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.

SEGAT, J.C. et al. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.122, p.91-97, 2015.

SOHI, S. et al. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.1121-1128, 2001.

SPURGEON, D. J. et al. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia foetida* (Savigny): assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution**, Amsterdam, v. 84, p. 123-130, 1994.

STATSOFT, I. Estatística 6.0 - Data Analysis Software System. 2004.

STEEN, C. **Separation and utilization of solid residue streams from kraft pulp mills**. Tese (Doutorado em Chemical Engineering) Chalmers University Technology, Gothenburg, Sweden, 59 p, 2016.

TOLEDO, F.H.S.F. de et al. Composto de resíduos da fabricação de papel e celulose na produção de mudas de eucalipto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, PB, v.19, n.7, p.711–716, 2015.

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**, n.45, p.385–395, 2001.

WAALEWIJN-KOOL, P.L. et al. The effect of pH on the toxicity of zinc oxide nanoparticles to *Folsomia candida* in amended field soil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.32, p.2349–2355, 2013.

WEBER, J. Biogeochemical processes and role of heavy metals in the soil environment. **Magazine Geoderma**, v.122, p.105-107, 2004.

ZORTÉA, T. et al. Toxicity of four veterinary pharmaceuticals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* in tropical soils. **Chemosphere**, 26 p. 2017.

4 CAPITULO II - EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE RESÍDUO DE CELULOSE E PAPEL (*DREGS*) SOBRE *ENCHYTRAEUS CRYPTICUS* (OLIGOCHETA, ENCHYTRAEIDAE)

RESUMO

Nos últimos anos a produção de resíduos de papel e celulose (*dregs*) no país aumentou drasticamente. O *dregs* possui alta quantidade de Ca e Mg e pode ser utilizado como fonte alternativa de correção de acidez e adubação em solos agricultáveis. Porém, o uso excessivo e em grandes quantidades pode interferir na letalidade e reprodução de organismos edáficos e, conseqüentemente, afetar na qualidade dos solos. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de concentrações de *dregs*, por meio de ensaios de ecotoxicidade padronizados (ISO), sobre a letalidade e reprodução de *Enchytraeus crypticus* em dois solos naturais do estado de Santa Catarina. Para os ensaios de toxicidade aguda os organismos foram expostos a concentrações crescentes de 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100% de *dregs*. Já para os ensaios de toxicidade crônica, foram utilizadas concentrações de 0, 1, 4, 10, 20 e 40% e 0, 1, 2, 4, 6, 10, e 20% para o Cambissolo e o Neossolo, respectivamente. O aumento das concentrações de *dregs*, proporcionou a letalidade de 100% dos *E. crypticus* nas concentrações superiores a 60% e 40% para o Cambissolo e para o Neossolo, respectivamente. Já nos ensaios de toxicidade crônica os efeitos ocorreram a partir das concentrações de 20 e 4% para os respectivos solos. Resultando em uma concentração efetiva de 50% (CE₅₀) de 19,52 para o Cambissolo e de 4,34% para o Neossolo. Os *E. crypticus* demonstraram sensibilidade na adição de *dregs* nos dois solos naturais testados, mostrando efeitos deletérios tanto nos ensaios de toxicidade aguda e crônica, o que ocasiona conseqüentemente efeitos negativos na qualidade do ecossistema terrestre.

.Palavras-chave: ecotoxicologia, *Enchytraeus crypticus*, resíduo industrial.

4.1 INTRODUÇÃO

O Brasil teve um crescimento médio de 8,1% na produção anual de celulose em 2016, muito acima da média mundial de 2,2% a.a. As 220 empresas existentes no país produzem cerca de 13,3 milhões de toneladas de celulose e 9,4 milhões de toneladas de papel anualmente, correspondendo a 4,1% do PIB (Produto Interno Bruto), deixando o Brasil na sexta colocação na produção mundial de celulose e nono na produção de papel (DEPEC, 2017).

Com a crescente produção, aumentou também a quantidade de resíduos gerados por estas empresas (ANHAIA, BORSZOWSKI, 2012). Dentre os principais resíduos produzidos pelas empresas de papel e celulose destacam-se a casca da madeira, o lodo da estação de tratamento de esgoto, o resíduo celulósico, a cinza de caldeira resultante da queima de biomassa, a lama de cal, o *dregs* e o *grits* (borra do processo de polpa *kraft*) (SILVA et al., 2009; GOLMAEI et al., 2017). Sendo que um dos principais desafios enfrentados pelas indústrias atualmente é a destinação correta dos resíduos produzidos (MACIEL et al., 2015).

Frente a isso pesquisadores encontraram alternativas de reaproveitamento para o *dregs*, tais como a de agente alcalinizante do solo (ALMEIDA et al., 2007a; MEDEIROS et al., 2009; PÉRTILE, 2011), principalmente porque o *dregs* possui características químicas similares as do calcário calcítico (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007b), tornando a utilização na correção de pH e na adubação dos solos uma alternativa de destinação deste material. Porém, por ser tratar de um resíduo de origem industrial, este resíduo pode ser também uma fonte de elementos traços para os solos, trazendo grandes preocupações quanto à contaminação dos ecossistemas (BJÖRKQVIST, 2015).

Uma alternativa para estimar os efeitos relacionados a deposição e ao uso de *dregs* nos solos é a utilização de bioindicadores de qualidade do solo. Por meio de ensaios de ecotoxicidade utilizando organismos edáficos se reduzi as incertezas dos riscos ecológicos causados por a adição de resíduos e substâncias químicas nos solos (SEGAT et al., 2015; BARBOSA et al., 2017). Através destes ensaios, é possível responder antecipadamente sobre a toxicidade de substâncias e compostos em organismos vivos, e ainda orientar as concentrações adequadas que cada solo pode receber de resíduo industrial sem que haja interferências no ecossistema terrestre (MAGALHÃES, FERRÃO FILHO, 2008; MACCARI et al., 2016).

Devido à sua sensibilidade a estresses ambientais (RÖMBKE, 2003; NIVA et al., 2015) os enquitreídeos, especialmente a espécie (*Enchytraeus crypticus*), estão sendo utilizados em ensaios de ecotoxicidade com poluentes orgânicos (RÖMBKE, 2003), pesticidas (AMORIM et al., 2008), metais pesados (RÖMBKE, 2003; AMORIM et al., 2008), entre outros estudos. Estes são pequenos oligoquetas com cerca de 2 a 20mm de comprimento, típicos da mesofauna terrestre, encontrados em solos de todo o mundo. Pertencem também a um grupo importante de decompositores de matéria orgânica, além de contribuir a para a ciclagem dos nutrientes e na microporosidade do solo (RÖMBKE, 1991).

Levando em conta esses fatores, o presente trabalho teve como objetivo avaliar, através de ensaios padronizados (ISO), os efeitos de concentrações crescentes de *dregs* sobre a letalidade e reprodução de *E. crypticus*, em dois solos naturais (Cambissolo e Neossolo) de Santa Catarina.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Origem e caracterização dos solos

Para os ensaios de ecotoxicidade, foram utilizados dois solos do estado de Santa Catarina, sem intervenções antrópicas e sem histórico de aplicação de *dregs*. Um Cambissolo Háplico distrófico (Cambissolo), do município de Lages, SC, e um Neossolo Quartzarênico Órtico típico (Neossolo), do município de Araranguá, SC (EMBRAPA, 2006). As características físicas e químicas de cada solo estão dispostas no Apêndice A. Mais detalhes sobre cada solo e procedimentos do material no Capítulo I, item 3.2.1.

Como solo padrão para a validação dos ensaios de ecotoxicidade foi utilizado o SAT, o qual é uma adaptação de Garcia (2004) do solo artificial OCDE (OCDE, 1984). Outras informações podem ser obtidas no Capítulo I, no item 3.2.1.

4.2.2 O *dregs*

O *dregs* utilizado para a contaminação dos solos é proveniente da retirada das impurezas do licor verde durante o processo polpa *kraft* das indústrias de papel e celulose. Mais informações estão descritas no Item 3.2.2. As características químicas obtidas com o Analisador Elementar CHNS (SOHI et al., 2001) do material estão descritas no Apêndice B.

Já os teores químicos totais do *dregs* utilizado, foram determinados pelo método USEPA 3050B, da Agência de Proteção Ambiental dos EUA. Metodologia descrita no capítulo I, item 3.2.2. As características químicas estão apresentadas no Apêndice C.

4.2.2 Ensaios de ecotoxicidade

Para os ensaios de toxicidade seguiram-se as diretrizes da ISO 16387 (2004) que determina critérios de toxicidade aguda e crônica dos organismos no solo padrão (SAT). Segundo a normativa nos ensaios de toxicidade aguda em *E. crypticus* a taxa de letalidade total de organismos nos controles não pode exceder 20%. Esse mesmo critério de validação é usado na para os ensaios de toxicidade crônica, além disso, número de juvenis no controle deve ser maior que 25 e o coeficiente de variação (CV) não podem exceder 50%.

Os *E. crypticus* utilizados nos ensaios foram cultivados em ambiente controlado com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h, em recipientes plásticos com tampas perfuradas, com capacidade de 1 L, preenchidos com aproximadamente 10 cm de SAT. A acidez foi corrigida para $6,0 \pm 0,5$ com CaCO_3 . Os organismos foram alimentados e umedecidos três vezes por semana com aveia fina moída e água destilada. Para os ensaios, foram utilizados organismos adultos e clitelados, ou seja, com estrutura reprodutiva perceptível.

4.2.3.1 Toxicidade aguda – Letalidade

Para os ensaios de toxicidade aguda (14 dias) seguiu-se protocolo ISO 16387 (2004). Para tanto, foram utilizados organismos clitelados, mantidos em recipientes plásticos com capacidade para 120 mL, preenchidos com 30 g de cada solo natural contaminado com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%) e com a umidade corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água (ISO) para cada solo. Cada unidade experimental recebeu 10 *E. crypticus* e foram alimentados com 2 mg de aveia fina moída. Realizaram-se seis repetições, sendo cinco contendo os organismos e uma sem, para verificação da umidade, pH e condutividade elétrica ao final dos ensaios. Os ensaios foram mantidos em ambiente controlado com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo 12 h e a umidade foi corrigida semanalmente por diferença de peso.

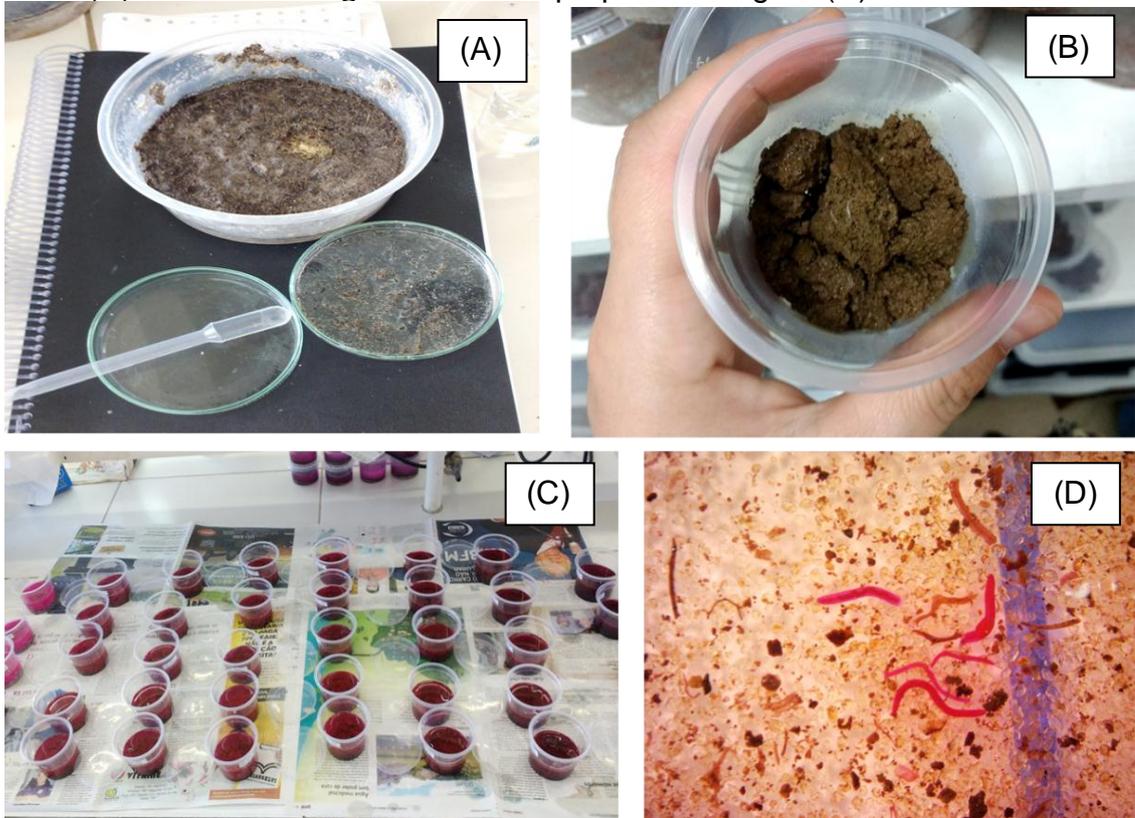
Ao final dos ensaios, adicionou-se 5 mL de álcool absoluto (99%) para preservação dos *E. crypticus*, 10 gotas de solução corante rosa bengala (1%) e 50 ml de água destilada para evitar o ressecamento dos organismos. Após 48 h, as amostras foram lavadas sob peneira de malha 100 mm. Os organismos foram colocados em placas de petri e posteriormente contabilizados com auxílio de uma lupa com aumento de 20 vezes.

4.2.3.2 Toxicidade crônica – Reprodução

O ensaio de toxicidade crônica com *E. crypticus* seguiu o protocolo padronizado da ISO 16387 (2004). Os ensaios tiveram duração de 28 dias. Em cada unidade experimental foram adicionados 30 g de solo e as concentrações de 0, 1, 4, 10, 20 e 40% para o Cambissolo e de 0, 1, 2, 4, 6, 10 e 20% para o Neossolo, juntamente com 10 organismos clitelados (Figura 4.1 A), foram alimentados com 2 mg de aveia em flocos moída. Realizaram-se seis repetições, sendo cinco com organismos e uma sem para verificação da umidade, pH e condutividade elétrica ao final do ensaio (Figura 4.1 B). Durante os ensaios, os recipientes foram mantidos em ambiente controlado (temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo 12h), alimentados semanalmente com aveia moída e a umidade corrigida por diferença de peso.

Ao final dos ensaios, foram adicionados 5 mL de álcool absoluto (99%), 10 gotas de solução corante rosa bengala (1%) e 50 mL de água destilada (Figura 4.1 C). Após 48 horas, as amostras foram lavadas, e os organismos contabilizados com auxílio de uma lupa (Figura 4.1 D) assim como nos ensaios de toxicidade aguda.

Figura 4.1 Ensaio de toxicidade crônica com *E. crypticus*, demonstrando a retirada dos organismos clitelados do meio de cultura (SAT) (A), detalhe do ensaio com solo natural (B), término do ensaio com álcool e corante rosa bengala (C) e visão dos organismos na lupa para contagem (D).



Fonte: Próprio autor (2017)

4.2.3.3 Análise estatística

Para os dados de toxicidade aguda estabeleceram-se os valores de CL_{50} e CL_{20} (concentração letal que causa 50 % e 20% de morte) utilizando o software PriProbit® 1.63 (SAKUMA, 1998). Posteriormente, foram verificadas a normalidade e homogeneidade dos dados através dos ensaios de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, por meio do Software Statística 7.0 (STATSOFT, 2004). Com o mesmo programa os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA One-Way), seguida pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Para os ensaios de toxicidade crônica, foram realizadas análises de regressão não linear, com o programa Software Statística 7.0, usando o modelo que melhor se ajustou aos dados entre os modelos: Exponencial, Logístico, Gompertz ou Hormesis (ENVIRONMENT CANADA, 2007) para determinar os valores de CE_{50} e CE_{20} (Concentração de efeito em 50% e 20% sobre a reprodução). As médias obtidas no ensaio de toxicidade crônica foram também comparadas com a

concentração controle (solo natural) pelo teste de Dunnett ($M < \text{controle}$, $p < 0,05$). Antes das análises foram verificadas a normalidade e homogeneidade dos dados através dos ensaios de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett.

4.3 RESULTADOS

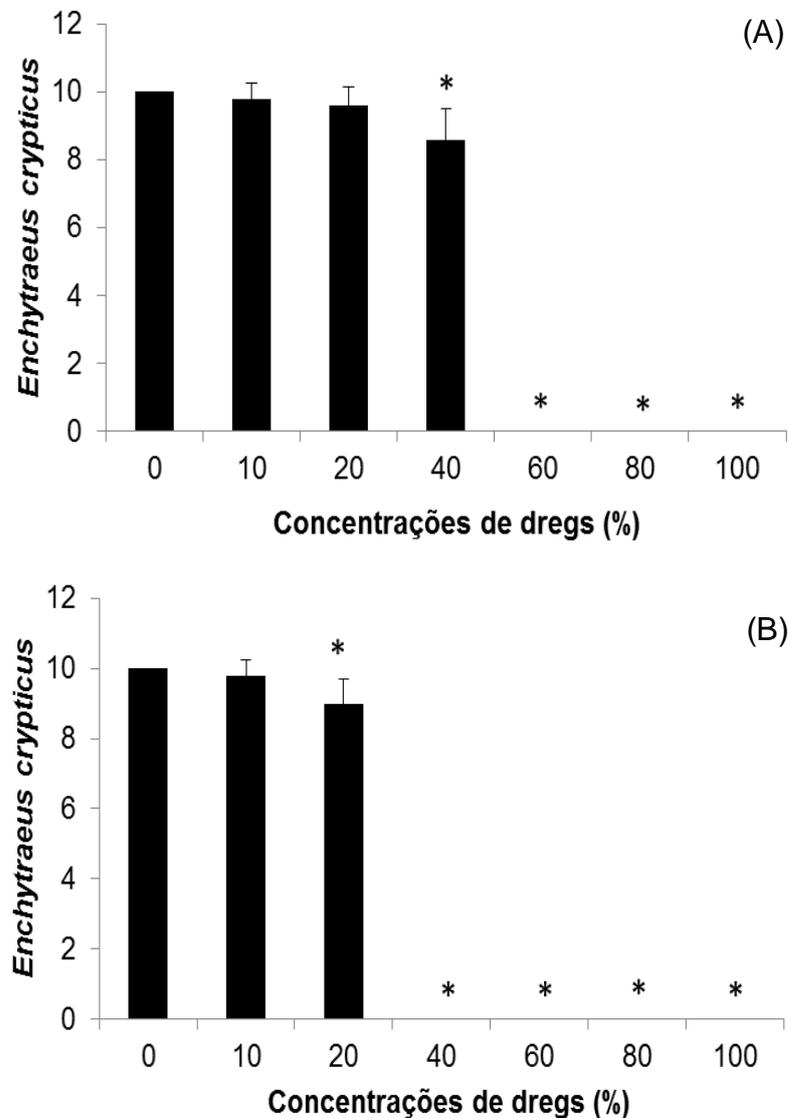
4.3.1 Ensaios de ecotoxicidade - validação

Os ensaios com *E. crypticus* cumpriram os critérios de validação de acordo com as normativas da ISO 16387 (ISO, 1999) tanto os de toxicidade aguda como os de toxicidade crônica. Onde a letalidade dos *E. crypticus* adultos ficou abaixo de 20% tanto para os ensaios de toxicidade aguda como crônica, além de que os juvenis dos ensaios de toxicidade crônica no tratamento controle ultrapassaram 25 organismos, ficando com média de ± 1.270 indivíduos de *E. crypticus*, com CV de 6,78%, cumprindo os requerimentos para validação.

4.3.3 Toxicidade aguda- letalidade

A taxa de letalidade obtida nas amostras de solo natural de Cambissolo e Neossolo foi de 98%, para ambos os solos. Para o Cambissolo a letalidade dos organismos após os 14 dias de exposição mostrou-se significativa a partir da concentração de 40%, tendo letalidade de 100% dos organismos nas concentrações seguintes (60, 80 e 100%). Já para o Neossolo, a taxa de letalidade de mostrou-se significativa a partir da concentração de 20%, tendo letalidade total nas concentrações seguintes (Figura 4.2).

Figura. 4.2 *E. crypticus* vivos após 14 dias em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão.



Fonte: Próprio autor (2017)

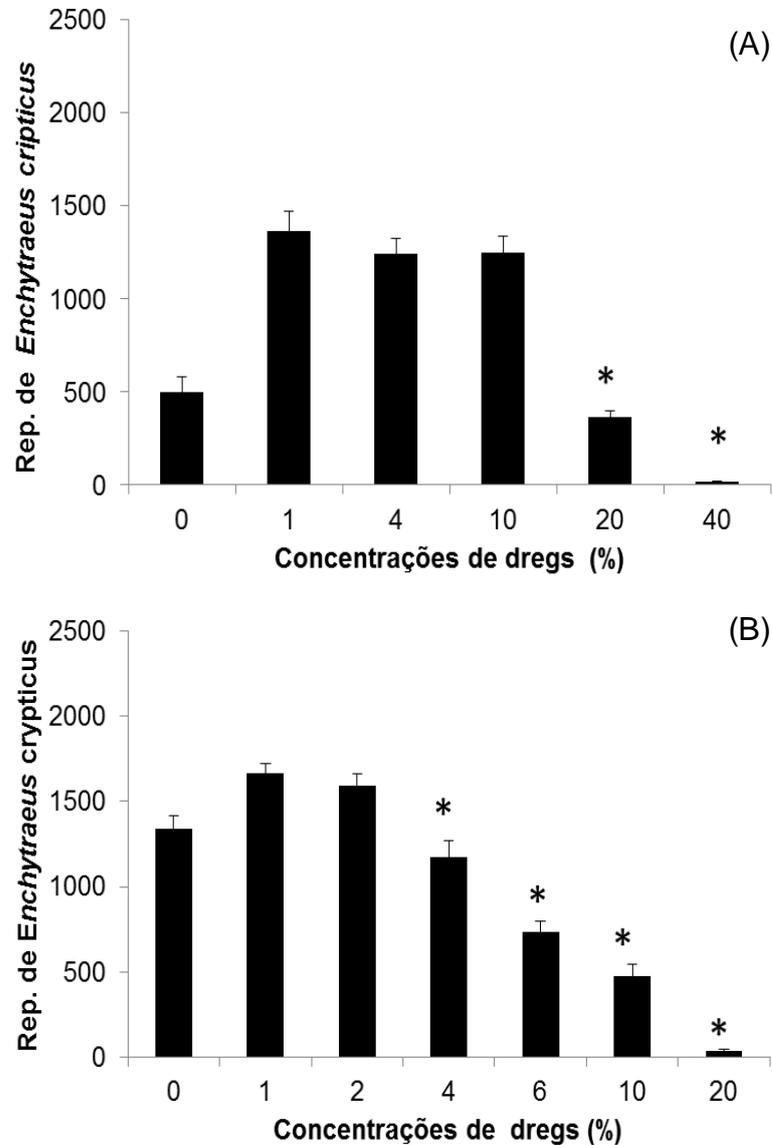
A partir dos ensaios de toxicidade aguda estimou-se a concentração letal (CL) que causa a letalidade de 20 e 50% dos *E. crypticus* (CL₂₀ e CL₅₀) e seus intervalos de confiança. Para o Cambissolo o valor CL₂₀ ficou em 55,6, e o CL₅₀ em 41,7%. Já para o Neossolo a CL₂₀ ficou em 31,0% e o CL₅₀ em 25,1%.

4.3.3 Toxicidade crônica – Reprodução

Os resultados obtidos nos ensaios de toxicidade crônica para o Cambissolo mostraram que houve uma reprodução maior, de ± 1.363 e ± 1.996 organismos nas concentrações de 1% e 2 % respectivamente, quando comparados com a amostra sem adição de resíduo com ± 497 organismos. Apenas os dois últimos tratamentos testados (20 e 40%) tiveram efeitos significativos ($p < 0,05$) na reprodução. Para o Neossolo também ocorreu um aumento na reprodução para as concentrações de 1 e 2% quando comparadas ao solo natural (± 1.338), tendo a reprodução afetada drasticamente nas concentrações de 4, 6, 10 e 20% (Figura 4.3).

Pode-se observar claramente um efeito de Hormesis para os dois solos, onde nas concentrações mais baixas houve um aumento no número de juvenis, quando comparado as amostras controles.

Figura. 4.3 Reprodução (rep) de *E. crypticus* após 28 dias em Cambissolo (A), com as concentrações de 0, 1, 2, 4, 10, 20 e 40% de *dregs*, e em Neossolo (B), com as concentrações de 0, 1, 4, 6, 10, e 20%. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett (\top) Desvio padrão.



Fonte: Próprio autor (2017)

A partir dos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade crônica para o Cambissolo e o Neossolo com *E. crypticus* estimou-se as concentrações efetivas de 20 e 50 % (CE_{20} e CE_{50}) para os dois solos, bem como os seus intervalos de confiança. Para o Cambissolo CE_{20} ficou em 15,55% (12,43-18,67), enquanto o para CE_{20} ficou em 4,34% (3,97-4,71) e o CE_{50} em 6,67% (6,18-7,17), todos calculados com o Modelo Hormesis.

A adição do *dregs* tanto para ensaios de toxicidade aguda como para os ensaios de toxicidade crônica acarretaram num aumento do pH e da condutividade elétrica para o os dois solos. Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda no pH estão descritos no apêndice D e os de condutividade elétrica no apêndice C. Nos ensaios de toxicidade crônica o Cambissolo “in natura” tem 4,08 e 0,05 dS m⁻¹ para concentração máxima testada de 40% que ficou com pH de 7,48 e condutividade elétrica de 3,26 dS m⁻¹ no final dos 28 dias. Para o Neossolo o aumento do solo sem contaminação para a concentração de 20% foi de 5,17 para 8,19 e de 0,06 para 1,71 dS m⁻¹ para o pH e condutividade elétrica, respectivamente (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 Valores de pH (KCl) e condutividade elétrica (C.E.) dos ensaios de toxicidade crônica com *E. crypticus* para o Cambissolo e para Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (28 dias após).

Concentração (%)	Início do ensaio		Final de 28 dias	
	pH	C.E.	pH	C.E.
Cambissolo				
0	4,06	0,03	4,08	0,05
1	5,67	0,09	6,10	0,22
2	6,17	0,15	6,15	0,36
4	6,64	0,28	6,61	0,49
10	7,12	0,72	7,09	1,01
20	7,23	1,26	7,28	1,77
40	7,61	2,49	7,48	3,26
Neossolo				
0	6,24	0,06	5,17	0,06
1	6,77	0,13	6,53	0,23
2	7,12	0,23	7,05	0,30
4	7,55	0,43	7,51	0,57
6	7,47	0,62	7,74	0,69
10	7,81	0,79	7,94	1,08
20	8,26	1,39	8,19	1,71

Fonte: Próprio autor (2017)

4.4 DISCUSSÃO

De modo geral a toxicidade aguda observada sobre os *E. crypticus* aumentou com o aumento das concentrações de *dregs*, em respostas as características intrínsecas de cada solo. No Cambissolo ocorreu toxicidade aguda a partir na concentração de 40% e para o Neossolo na concentração 20%. Percebe-se que

para o Neossolo a toxicidade aparente nos organismos foi maior do que para o Cambissolo com a adição do *dregs*.

Segundo Almeida et al. (2007b) as reações químicas do *dregs* são rápidas, e reagem completamente com o solo num período inferior a duas semanas. Esses autores relatam que, na primeira semana após a mistura do *dregs* com o solo, mais de 90% das reações químicas já se completaram, uma vez que o *dregs* reage rapidamente devido ao pequeno diâmetro de suas partículas. Isso aponta que quando em concentrações elevadas no solo o efeito do *dregs* na letalidade dos organismos é quase imediato, podendo causar sérios danos ecológicos.

Pesquisas demonstram que quando um poluente é adicionado ao solo, parte de suas partículas se associam com a matéria orgânica (MO) presente no solo (ALVES et al., 2015). Desta forma, solos com menor porcentagem de MO tendem a ter menor associação entre as partículas do poluente, o que torna o contaminante mais disponível na solução do solo, fato este que pode ser observado na diferença da toxicidade aguda dos organismos encontrada entre o os solos estudados (Figura 4.2). O menor teor de MO no Neossolo (1,3%) possivelmente acarretou em maior disponibilidade dos contaminantes, e conseqüentemente, a maior toxicidade nos *E. crypticus* quando comparado ao Cambissolo cujo teor de MO é de 3,05%.

Entre os diferentes tipos de solos a CTC (Capacidade de Troca de Cátions) pode ser considerada uma variável determinante na biodisponibilidade de contaminantes (LOCK, JANSSEN, 2001), já que esta é uma medida relativa dos sítios de ligação, que determina as ligações entre os contaminantes e o solo. Em solos com menor CTC (Neossolo < Cambissolo) (Apêndice A) existe uma menor capacidade de adsorção dos contaminantes e, conseqüentemente, maior disponibilidade das substâncias tóxicas na solução, o que influenciou juntamente com os menores teores de MO e argilas (CESAR et al., 2012; CESAR et al., 2015) para a maior toxicidade do *dregs* aos *E. crypticus* no Neossolo.

Alleoni (2005) destaca que a textura pode interferir na capacidade dos solos de reter contaminantes, sendo que solos argilosos possuem maior capacidade de retenção de poluentes, deixando-os menos disponíveis quando comparado a solos arenosos. Nesse sentido, pode-se dizer que, devido a maior quantidade de argila no Cambissolo (33%) quando comparada a baixa quantidade do Neossolo (4%), ocorreu maior retenção das partículas do *dregs*, deixando-as menos disponíveis e minimizando o risco ecológico nos *E. crypticus*. Scherer, Nesi e Massoti (2010)

comprovaram que solos com características mais arenosas contribuem para a maior disponibilidade e mobilidade de elementos tóxicos. Branco et al. (2013) testando a influência da aplicação de concentrações iguais de *dregs* nas propriedades químicas em um Cambissolo Húmico e em um Neossolo Quartzarênico constataram que, a granulometria mais grosseira no Neossolo, influencia diretamente na adsorção dos contaminantes, o que acarretou em um aumento do composto na solução do solo.

Os valores significativos ($p < 0,05$) de *dregs* que causam toxicidade aguda nos *E. crypticus* para o Cambissolo na concentração de 20% corresponde 6354 mg kg^{-1} de sódio (Na^+), já para o Neossolo foi na concentração de 4%, correspondendo a 7783 mg kg^{-1} . Estes valores de N^+ estão acima dos encontrados por Owojori et al. (2009) onde verificaram que uma concentração de 3586 mg kg^{-1} de NaCl (cloreto de sódio) foi suficiente para inibir o crescimento de *Eisenia fetida* em 50%. O que também ressalta que resíduos com altos teores de sódio, como o *dregs*, quando aplicados em solos com textura arenosa, são mais suscetíveis à contaminação (TRIGUEIRO, 2006). Pesquisadores destacam que o uso de resíduos em solos arenosos deve ser realizado com ponderação, haja vista que a fração biodisponível, ou seja, o que está na solução do solo e prontamente disponível para as plantas e aos microrganismos é maior que em solos argilosos (BRANCO et al., 2013).

Branco et al. (2013) perceberam em suas pesquisas um aumento linear no teor de Na^+ trocável com o aumento da concentração de *dregs* em um Cambissolo Háplico. Os autores relatam que os íons Na^+ apresentam um elevado raio hidratado e possuem dificuldade de se aproximar das partículas sólidas dos solos, ficando na forma disponível, o que ocasionou malefícios aos *E. crypticus* neste estudo, uma vez que os *E. crypticus*, assim como as minhocas, interagem diretamente com as partículas e soluções do solo, que em contato com seu corpo mole e permeável, absorvem grandes quantidades de sódio presentes nos solo, resultando na letalidade destes organismos (PEIJNENBURG et al., 2012), assim como relatou Bianchi (2013) testando resíduo de mineração em ensaios de ecotoxicidade.

Percebeu-se que os ensaios de toxicidade crônica mostraram redução na reprodução a partir da concentração de 20% para o Cambissolo e de 4% no Neossolo e nos valores de condutividade elétrica de $1,77 \text{ dS m}^{-1}$ e $0,77 \text{ dS m}^{-1}$, respectivamente. O valor encontrado para o Cambissolo ficou acima do encontrado por Owojori et al. (2009), que observaram redução na reprodução de *E. crypticus* no valor de condutividade elétrica de $1,03 \text{ dS m}^{-1}$, chegando a zero em valores de $1,62$

dS m⁻¹. Já Cesar (2015) avaliando sedimento de dragagem encontrou valores significativos na reprodução de *E. crypticus* na concentração do sedimento “*in natura*” com condutividade elétrica de 0,475 dS m⁻¹, próximo do valor encontrado para o Neossolo com a adição 4% (0,77 dS m⁻¹) de *dregs* do presente estudo.

A baixa reprodução dos *E. crypticus* nos solos controles pode estar relacionada aos valores de pH dos solos naturais, principalmente do Cambissolo. Estudos comprovam a preferência dos *E. crypticus* por diferentes faixas de pH, por exemplo, o *E. albidus* responde com melhores taxas de reprodução a um pH entre 6,8 – 7,0 os que difere da espécie *E. crypticus*, que por sua vez prefere ambientes mais ácidos, com pH entre 4,8 – 6,5, não tolerando muita variação (ASSIS, 2016). Foi possível observar que ao se adicionar *dregs* nos solos os valores de pH tendem a se elevar, tal fato decorre da natureza do resíduo, como a alta quantidade de carbonato (ALMEIDA, 2007a) o que pode ter favorecido o aumento da reprodução nas primeiras concentrações testadas (1 e 2%) (Figura 4.3), elevando o pH dos solos naturais ao nível considerado por Assis (2016) ideal para a reprodução de *E. crypticus*. Os resultados encontrados para o aumento do pH do solo devido à adição do *dregs* é em consequência da diminuição da acidez potencial dos solos (MEDEIROS et al., 2009) causada pela composição química do resíduo (Apêndice B).

4.5 CONCLUSÕES

Os *E. crypticus* demonstraram alta toxicidade à adição de concentrações crescentes de *dregs* nos dois solos naturais estudados, tanto nos ensaios de toxicidade aguda como de toxicidade crônica, sendo que a magnitude dos efeitos depende das características de cada solo.

Concentrações de 40% e 20% de *dregs* quando aplicados no Cambissolo, e no Neossolo respectivamente, causam letalidade em *E. crypticus*, de forma que os efeitos deletérios nos organismos aumentam proporcionalmente com o aumento das concentrações, sendo que concentrações de 41,7 e 25,1% para os respectivos solos causa a letalidade de 50% dos *E. crypticus*.

As concentrações de 20% para o Cambissolo e de 4% para o Neossolo causam efeitos na reprodução de *E. crypticus*, interferindo na qualidade dos solos, resultando num CE₅₀ de 19,52 e 6,67% para o Cambissolo e o Neossolo, respectivamente. Assim sendo, a adição de *dregs* nos solos deve ser feita com

cuidado já que a magnitude da interferência na fauna edáfica depende das características distintas de cada solo.

4.6 REFERÊNCIAS

ALLEONI, L.R.F. et al. Atributos do solo relacionados à adsorção de cádmio e cobre em solos tropicais. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v.27, n.4, p.729-737, 2005.

ALMEIDA, H.C et al. Composição química de um resíduo alcalino da indústria de papel e celulose (*dregs*). *Química Nova*, v.30, p.1669-1672, 2007a.

ALMEIDA, H.C. et al. Influência da adição de um resíduo industrial alcalino na velocidade de neutralização da acidez do solo, adsorção de sódio e disponibilidade de magnésio para o trigo. *Revista Ciências Agroveterinárias*, Lages, SC, n.2, v.6, p.104-113, 2007b.

ALVES, P.R.L. et al. Ecotoxicological characterization of sugarcane vinasses when applied to tropical soils, *Science of the Total Environment*, v.526, p. 222-232, 2015.

AMORIM, M.J.B. et al. Avoidance test with *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae): effects of different exposure time and soil properties. *Environmental Pollution*, v.155, p.112–116. 2008.

ANHAIA, S.A.F.; BORSZOWSKI, P.R. Reaproveitamento de resíduos gerados na fabricação de celulose e papel como substrato na hidroponia para cultura de alface (*Lactuca sativa*). *Revista Technoeng.* Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais –CESCAGE. Ponta Grossa, PR, n.5, 2012.

ASSIS, O. et al. **Efeito dos solos de sistemas de produção convencional e orgânico de Quitandinha-PR sobre a abundância, diversidade de gêneros e a reprodução de enquitreídeos.** In: XIV Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. Curitiba, PR, 2016.

BARBOSA, L.R. et al. Indicadores microbiológicos e químicos de qualidade de um Latossolo Amarelo sob manejo convencional em diferentes idades. *Bioscience Journal*, v.33, n.3, p.601-609, 2017.

BIANCHI, M. de O. **Ensaio ecotoxicológico como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo.** Tese (Doutorado em Ciência do solo) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2013.

BJÖRKQVIST, S. **Towards a circular economy in the pulp and paper industry: Possible reuse of solid residues from kraft pulp mills as fertilizer to the forest.** Chalmers University of technology. Gothenburg, Sweden, 40 p, 2015.

BRANCO, S.B. et al. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.1, n.49, p.543–550, 2013.

CÉSAR, R. et al. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation based on bioassays with springtails and enchytraeids. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, p.2916-2924, 2015.

CESAR, R.G. et al., H. Influence of the properties of tropical soils in the toxicity and bioavailability of heavy metals in sewage sludge-amended lands. **Environmental Earth Sciences**, v.66, p.2281-229, 2012.

DEPEC - Departamento de pesquisas e estudos econômicos, **Papel e celulose**, BRADESCO, 2007.

EMBRAPA, **Sistema brasileiro de classificação de solos** - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária-EMBRAPA Solo, 2.d, 286 p, 2006.

European Environment agency - EEA. **EEA history in short**. Disponível em http://org.eea.eu.int/documents/ar1997/ar97_history.html. Acesso em 17 abr. 2017.

GARCIA, M.V.B. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Ph.D. Thesis - University of Bonn. Bonn: Germany, 283 p, 2004.

GOLMAEI, M, et al. Study on the filtration characteristics of green liquor *dregs*. **Chemical Engineering Journal**, 32 p, 2017.

International Organization for Standardization. **ISO 16387**: Soil quality - effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*) - Determination of effects on reproduction and survival. Geneva, 26 p, 2004.

LOCK, K.; JANSSEN, C.R. Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*. **Chemosphere**, v.44, p.1669-1672, 2001.

MACCARI, A.P. et al. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v.16, 26 p. 2016.

MACIEL, T.M.S, ALVES, M.C, SILVA, F. C. Atributos químicos da solução e do solo após aplicação de resíduo da extração de celulose. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.19, n.1, p.84–90, 2015.

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, p.355-381, 2008.

MEDEIROS, C.J. et al. Calagem superficial com resíduo alcalino na indústria de papel e celulose em um solo altamente tamponado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.6, p. 1657-1665, 2009.

NIVA, C.C. et al. Enchytraeid abundance in araucaria mixed forest determined by cold and hot wet extraction. **Brazilian Journal Of Biology**, v.75, p.169–175, 2015.

NURMESNIEMI, H. et al. The use of a sequential leaching procedure for heavy metal fractionation in green liquor dregs from a causticizing process at a pulp mill. **Chemosphere**, n.61, p.1475-1484, 2005.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 207: Earthworm Acute Toxicity Test**. Paris, 9 p, 1984.

OWOJORI, O.J. et al., Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (*Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*). **Pedobiologia**, v.52, p.351—360. 2009.

PEIJNENBURG, W. et al. Evaluation of exposure metrics for effect assessment of soil invertebrates. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Boca Raton, v. 42, p. 1862-1893, 2012.

PÉRTILE, P. **Resíduo alcalino da indústria de celulose em solos ácidos e área degradada**. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo). Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages, SC, 2011.

RÖMBKE, J. Estimates of the Enchytraeidae (Oligochaeta, Annelida) contribution to energy flow in the soil system of an acid beech wood forest, **Biology and Fertility of Soils**, v.11, p. 255-260. 1991.

RÖMBKE, J. The role of Gilberto Righi in the development of tropical microdrile taxonomy, **Pedobiologia**, v.47, p.405-412, 2003.

SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology**. Tokyo, v.33, n.3, p.339-347,1998.

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.

SEGAT, J.C. et al. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.122, p.91-97, 2015.

SILVA, F. R. Cinza de biomassa florestal: alterações nos atributos de solos ácidos do planalto catarinense em plantas de eucalipto. **Scientia Agraria**, v.10, n.6, p.475-482, 2009.

SOHI, S. et al. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.1121-1128, 2001.

STATSOFT, I. Estatística 6.0 - Data Analysis Software System. 2004.

TRIGUEIRO, R.M. **Efeito de “dregs e grits” nos atributos de um neossolo Quartzarenico e na produção volumétrica de eucalipto**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, Botucatu, SP, 2006.

5 CAPITULO III - EFEITO DA APLICAÇÃO DE DREGS SOBRE A LETALIDADE E REPRODUÇÃO DE *FOLSOMIA CANDIDA* EM SOLOS DE SANTA CATARINA

RESUMO

Nos últimos anos a produção das indústrias de papel e celulose vêm aumentando drasticamente, e conseqüentemente aumentou também a quantidade de resíduos produzidos (*dregs*) por elas. Entretanto, o *dregs* pode ser uma fonte de contaminação aos solos, devido a presença de elementos traços na sua constituição. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de concentrações crescentes de *dregs* sobre a letalidade e reprodução de *Folsomia candida*, através de ensaios de toxicidade padronizados (ISO) em dois solos do estado de Santa Catarina. Foram estudados um Cambissolo e um Neossolo. Para os ensaios de toxicidade aguda foram utilizadas as concentrações de 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100% para os dois solos, e nas concentrações de 0, 1, 2, 4, 8, 15 e 30% e de 0, 1, 2, 3, 5, 9 e 10% para o Cambissolo e o Neossolo, respectivamente nos ensaios de toxicidade crônica. Os dados foram analisados através de modelos estatísticos não lineares e comparados ao grupo controle, sem aplicação, utilizando-se teste de Dunnett ($p < 0,05$). Os resultados demonstram que concentrações de 20% para o Cambissolo e de 10% para o Neossolo, causam letalidade em 50% dos *F. candida*. A reprodução é afetada a partir da concentração de 2% para o Cambissolo e menor que 1% para o Neossolo. Essa diferença na toxicidade do *dregs* para a letalidade e reprodução dos *F. candida*, se deve, as características físicas e químicas distintas de cada solo.

Palavras-chave: *dregs*, ecotoxicologia, *F. candida*, solos naturais

5.1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos as indústrias de papel e celulose vêm aumentando sua produção, e com isso a quantidade de resíduos produzidos por elas. Estima-se que para a produção de 100 toneladas de celulose são geradas aproximadamente 50 toneladas de resíduos, entre casca de madeira, cinza de caldeira lodo de esgoto e lama de cal dividida em *grits* e *dregs* (BELLOTE et al., 1998).

Uns dos principais desafios das empresas atualmente é o destino adequado dos resíduos gerados, especialmente o *dregs*, que muitas vezes, são depositados em aterros sanitários e/ou no pátio da própria indústria, gerando elevados custos, além de riscos ambientais como a contaminação do solo e de lençóis freáticos. (MACIEL et al., 2015). Na busca por alternativas para a utilização do *dregs* e diminuição do risco ecológico, diversos estudos estão sendo realizados (MEDEIROS et al., 2009; RIBEIRO, 2010; ARRUDA, 2012; BRANCO et al., 2013; STEEN, 2016; TORRES, 2016).

Segundo Bellote (1998) o *dregs* possui características químicas similares às do calcário calcítico, podendo ser utilizado na agricultura, potencializado como condicionante químico, físico e biológico do solo (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007b). Porém sua aplicação pode ser limitada devido à sua elevada de carga salina, e concentrações de elementos traços na sua composição (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007a; SOUSA, 2016).

Uma forma de monitorar os efeitos causados pela adição de *dregs* no solo é por meio de organismos bioindicadores do solo, os quais, possibilitam a redução das incertezas dos riscos ecológicos causados pela adição deste material aos solos (ALVES et al., 2016). Dentre os organismos bioindicadores do solo, a ecotoxicologia destaca-se pelos ensaios laboratoriais padronizados, que objetivam identificar valores em que a contaminação é alta o suficiente a ponto de causar letalidade e efeitos adversos sobre o crescimento, desempenho reprodutivo e mudanças comportamentais de organismos edáficos (LIMA, 2009; MACCARI et al., 2016).

Colêmbolos da espécie *F. candida*, estão sendo utilizados mundialmente como bioindicadores do solo em ensaios de ecotoxicidade padronizados (ISO, 11267), e vem mostrando resultados muito promissores quanto a respostas a substâncias químicas nos solos (ALVES et al., 2016; SEGAT et al., 2015; MACCARI et al., 2016; ZORTÉA et al., 2017). Os colêmbolos, juntamente com os ácaros, correspondem à

maior população da mesofauna edáfica do solo, podendo atingir de dezenas às centenas de milhares por m². (STEFFEN et al., 2007). Estes organismos são transformadores das características físicas, químicas e biológicas, e apresentam influência significativa na ciclagem de nutrientes, na mineralização, nos processos de decomposição e na fertilidade do solo (RIEFF, 2010). Não obstante, possuem alta sensibilidade a alterações ambientais, o que justifica a sua utilização em ensaios de ecotoxicidade (RIEFF, 2010; ALVES et al., 2016; SLAWSKA, BRUCKNER, SLAWSKI, 2017; OLIVEIRA FILHO et al., 2017; ZORTÉA et al., 2017).

Diante do exposto acima, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos causados por concentrações crescentes de resíduo de celulose e papel (*dregs*) através de ensaios padronizados (ISO) sobre a toxicidade aguda e crônica em *F. candida* em dois solos do estado de Santa Catarina.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Origem e caracterização dos solos

Os dois solos utilizados para a realização dos ensaios de ecotoxicidade, foram coletados no estado de Santa Catarina, solos estes sem intervenções antrópicas e sem histórico de aplicação de *dregs*. O Cambissolo Háplico distrófico (Cambissolo) foi coletado em Lages, SC, e o Neossolo Quartzarênico Órtico típico (Neossolo), em Araranguá, SC (EMBRAPA, 2006). Outras informações podem ser obtidas no capítulo I, Item 3.2.1. As características físicas e químicas de cada solo estão dispostas no Apêndice A.

Para a validação dos ensaios de ecotoxicidade foi utilizado o SAT como solo padrão, o qual é uma adaptação de Garcia (2004) do solo artificial OCDE. Mais informações podem ser obtidas no Capítulo I, no Item 3.2.1.

5.2.2 O *dregs*

O *dregs* utilizado para a contaminação dos solos é proveniente do processo polpa Kraft das indústrias de papel e celulose. Mais informações no capítulo I, Item 3.2.2. As características químicas obtidas com o Analisador Elementar CHNS (SOHI et al., 2001) do material estão descritas no Apêndice B.

Os teores químicos totais do *dregs* utilizado foram determinados pelo método USEPA 3050B, da Agência de Proteção Ambiental dos EUA. Metodologia descrita

no capítulo I, Item 3.2.2. As características químicas estão apresentadas no Apêndice C.

5.2.3 Ensaios de ecotoxicidade

Para que os ensaios fossem considerados apropriados seguiram-se as diretrizes de acordo com a OCDE e ISO que determinam alguns índices de letalidade, reprodução e comportamento dos *F. candida* no solo padrão (SAT). Segundo OCDE (1984) e ISO (1998) nos ensaios de toxicidade aguda a taxa de letalidade total nos controles não pode exceder 10%. Esse mesmo critério de validação é usado na para os ensaios de toxicidade crônica, além disso, número de juvenis no controle deve ser maior que 30 e o coeficiente de variação (CV) deve ficar abaixo de 30%.

As culturas de *F. candida* foram mantidas em ambiente controlado com temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h, em recipientes circulares com capacidade de 1000 ml, com tampas furadas (facilitando as trocas gasosas), sobre uma camada de 1 cm de meio de cultura enrijecido, composto por gesso (1.100 g) e carvão ativado (100 g) misturados com 900 mL de água destilada. Os *F. candida* foram alimentados três vezes por semana com fermento biológico seco (*Saccharomyces cerevisiae*) e umedecidos com água destilada. Para estimular sua reprodução, os adultos foram trocados de meio após cinco a sete dias e os ovos depositados foram coletados e colocados em novo recipiente sobre pequenos pedaços de gesso. Após o início da eclosão esperou-se dois dias para a retirada dos ovos não eclodidos, de forma que o recipiente possuísse organismos com diferença de idade de dois dias.

5.2.3.1 Toxicidade aguda – Letalidade

Para ensaios de toxicidade aguda seguiram-se as recomendações do protocolo ISO 11267 (1999). Para tanto, foram adicionados 30 g de cada solo natural contaminado com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%) em recipientes plásticos com capacidade para 120 mL. A umidade foi corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água (CRA) para cada solo (Neossolo e Cambissolo). Cada unidade experimental recebeu 10 organismos com idade entre 10 e 12 dias e alimentados com 2 mg de fermento biológico seco (*Saccharomyces cerevisiae*). Realizaram-se seis repetições, sendo cinco contendo os organismos e

uma sem, para verificação da umidade, pH e condutividade elétrica ao final dos ensaios. Os ensaios foram mantidos em ambiente controlado com temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo 12 h e a umidade corrigida semanalmente por diferença de peso. Após 14 dias foi realizada a avaliação da toxicidade aguda dos organismos. Para tanto, em cada réplica foi adicionado água e tinta esferográfica preta de forma que os organismos sobreviventes flutuassem e o contraste de cor com a tinta permitisse a contagem destes organismos.

5.2.3.2 Toxicidade crônica – Reprodução

Os ensaios de toxicidade crônica também seguiram os métodos descritos na norma ISO: 11267 (1999). Foram utilizados recipientes plásticos com capacidade para 120 mL, preenchidos com 30 g dos solos tratados com *dregs* nas concentrações de 0, 1, 2, 4, 8, 15, 30% para o Cambissolo e de 0, 1, 2, 3, 5, 9, 10% para o Neossolo, com a umidade a 60% da CRA de cada solo. Foram adicionados em cada unidade experimental dez organismos com idades entre 10 - 12 dias (provenientes de culturas sincronizadas) e os recipientes foram fechados hermeticamente. Utilizaram-se seis réplicas por tratamento, sendo uma sem organismos para a verificação da umidade, pH e condutividade elétrica ao final do ensaio. No início e após 14 dias, foi fornecido fermento biológico (2 mg por réplica) como alimento. Semanalmente, os recipientes foram abertos para permitir trocas gasosas e a umidade corrigida por diferença de peso. Após 28 dias, foram adicionadas água e tinta esferográfica preta ao solo de cada réplica para forçar a flutuação e aumentar o contraste dos organismos, e assim facilitar a contagem dos juvenis. As réplicas foram fotografadas, e o número de *F. candida* juvenis gerados foi contabilizado nas imagens digitais, por meio do software computacional Image J para Windows (ABRÓMOFF et al., 2005).

5.2.3.3 Análise estatística

Para os dados de toxicidade aguda estabeleceram-se os valores de CL_{20} e CL_{50} (concentração letal que causa 20% e 50% de morte) utilizando o software PriProbit® 1.63 (SAKUMA, 1998). Após foram verificadas a normalidade e homogeneidade dos dados através dos ensaios de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, por meio do Software Statística 7.0 (STATSOFT, 2004). Posteriormente, os dados

foram submetidos à análise de variância (ANOVA One-way), seguida pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Para os ensaios de toxicidade crônica, realizou-se análise de regressão não linear, com o programa Software Statistica 7.0, usando o modelo que melhor se ajustou aos dados entre os modelos: Exponencial, Logístico, Gompertz ou Hormesis (ENVIROMENT CANADA, 2007) para determinar os valores de CE_{20} e CE_{50} (Concentração de efeito em 20% e 50% sobre a reprodução). As médias obtidas no ensaio de toxicidade crônica foram comparadas com a concentração controle ($0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$), pelo teste de Dunnett ($M < \text{controle}$, $p < 0,05$). Antes foi verificada a normalidade e homogeneidade dos dados através dos ensaios de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett.

5.3 RESULTADOS

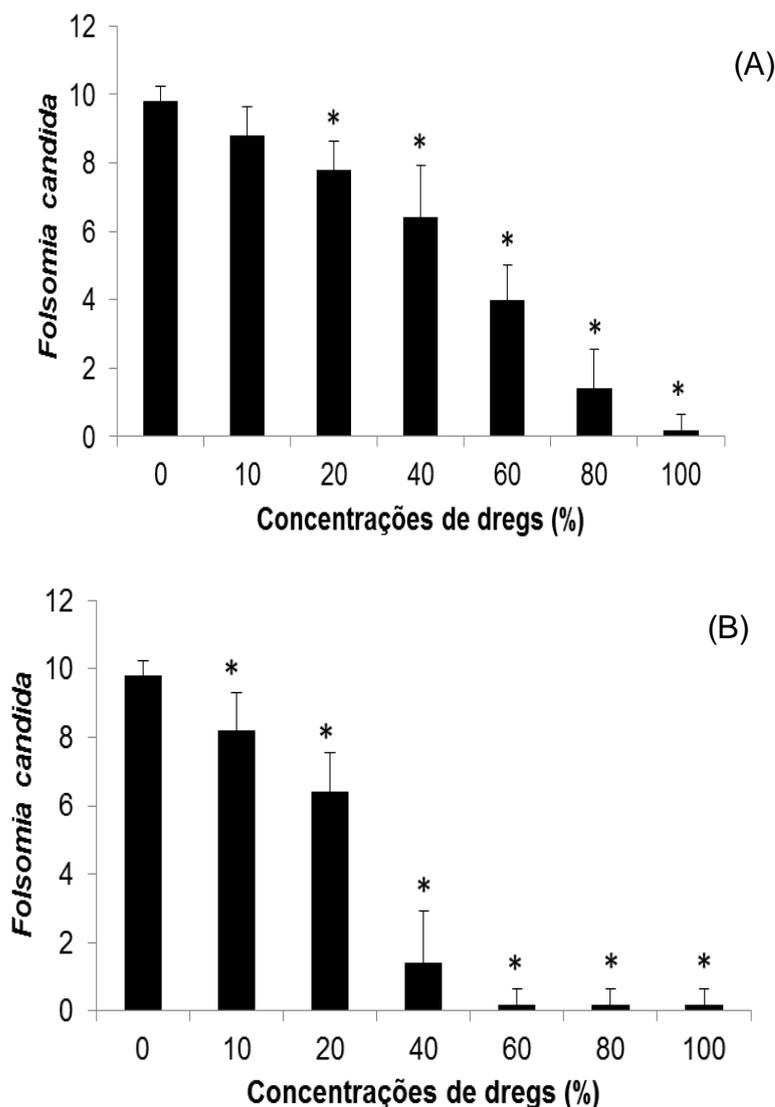
5.3.1 Ensaios de ecotoxicidade - validação

Os ensaios de toxicidade aguda e de toxicidade crônica cumpriram os critérios de validação de acordo com normas da ISO 11267 (ISO, 1999). No ensaio de toxicidade aguda e crônica a letalidade dos *F. candida* adultos não excederam a 20% do total de organismos nos tratamentos controles ($\pm 92\%$). E o número de juvenis nas amostras controle dos ensaios de toxicidade crônica foi superior a 100 organismos por recipientes (± 320) e o coeficiente de variação (CV) ficou $< 30\%$ (CV de 24%), validando assim os ensaios (ISO, 1999).

5.3.2 Toxicidade aguda- letalidade

A sobrevivência obtida no Cambissolo e no Neossolo foi de 98% para ambos os solos. Para o Cambissolo, foi observado um aumento na letalidade conforme houve o acréscimo de *dregs* no solo, tendo diferenciação significativa do controle a partir da concentração de 20%. Para o Neossolo a taxa de letalidade mostrou-se significativa a partir da primeira concentração (10%) causando a letalidade de 20% dos organismos e aumentou com a ampliação das concentrações, causando a letalidade de 98% dos organismos a partir da concentração de 60% (Figura 5.1).

Figura. 5.1 *F. candida* vivos após 14 dias em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100%). Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão.



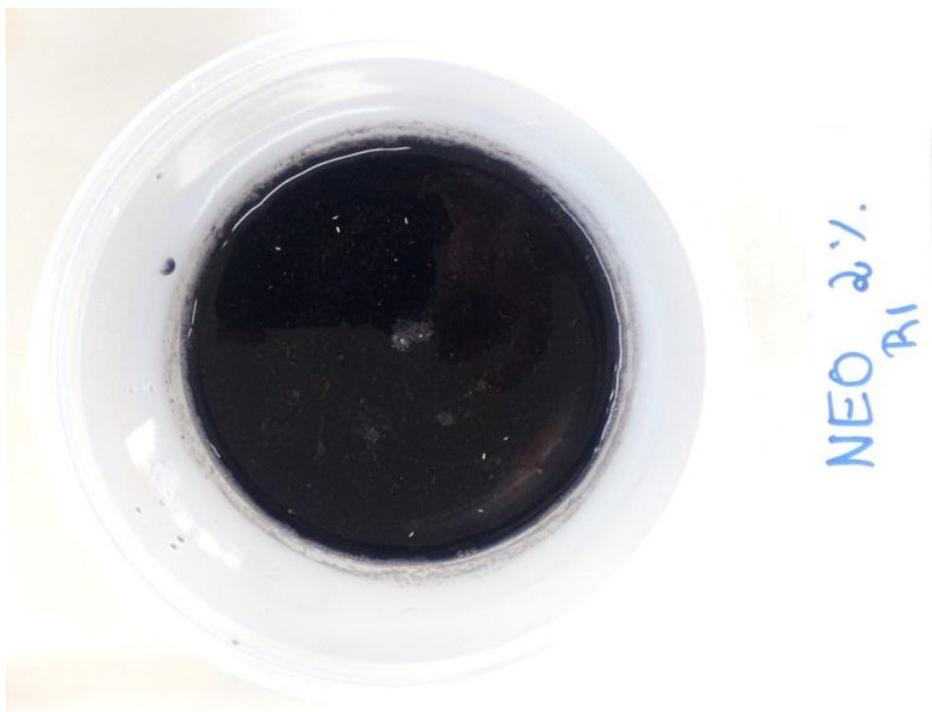
Fonte: Próprio autor (2017)

A partir dos dados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda para o Cambissolo e Neossolo estimou-se a concentração letal (CL) para 20% e 50% dos organismos, e seus respectivos intervalos de confiança. No Cambissolo, o valor de CL_{20} ficou em 36,4% (27,1-56,1) e o CL_{50} encontrado foi de 38,25%, já para o Neossolo, as concentrações letais foram menores, ficando com CL_{20} de 24,4% (19,7-46,8) e o CL_{50} com 20,9% (14,1-28,2).

5.3.3 Toxicidade crônica – Reprodução

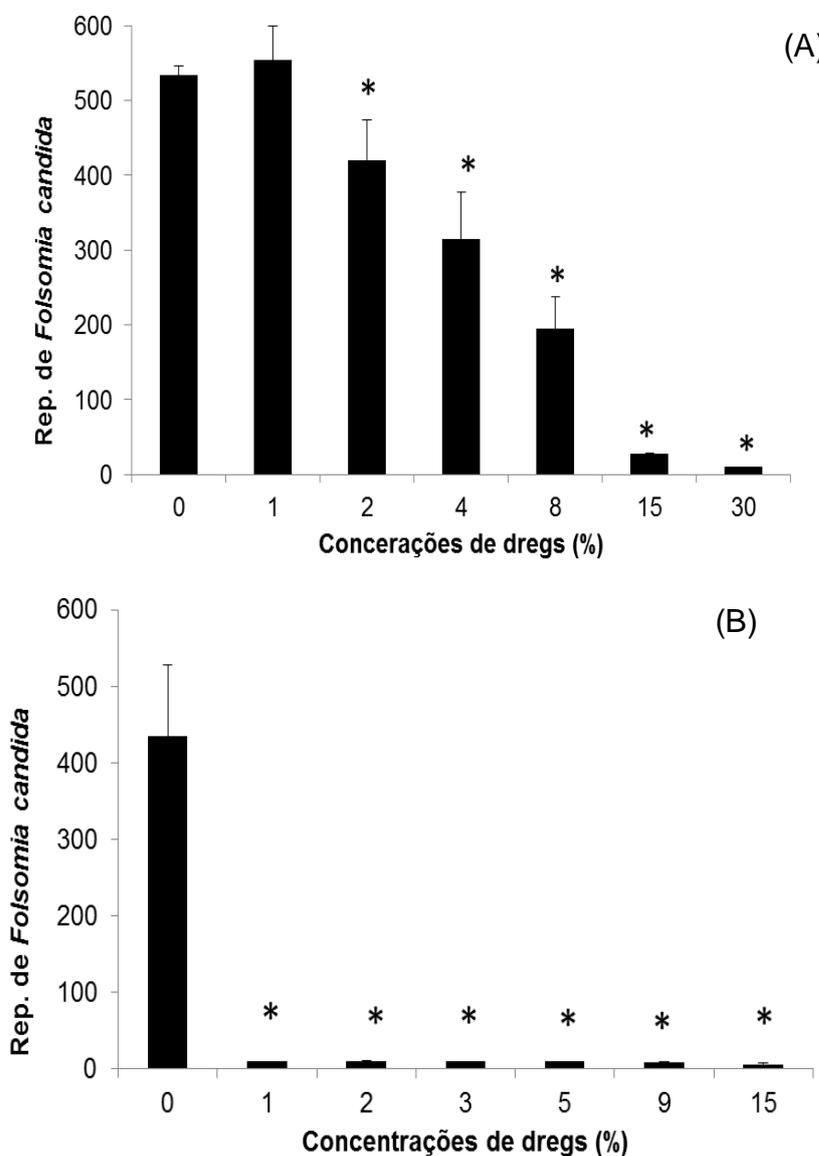
Os resultados obtidos nos ensaios de toxicidade crônica para o Cambissolo mostraram uma redução dos organismos gerados a partir da concentração de 2% (± 420), quando comparado ao tratamento sem adição do resíduo (± 540), tendo um decréscimo significativo com o aumento das concentrações. Os resultados obtidos para o Neossolo mostraram que a reprodução dos organismos foi afetada ($p < 0,05$) pela aplicação de *dregs* já na primeira concentração (1%) (Figura 5.3). Na Figura 5.2 percebe-se apenas a existência de adultos na concentração de 2% no Neossolo.

Figura 5.2 Vista do interior do recipiente na concentração de 2% aplicada no Neossolo.



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura. 5.3 Reprodução (rep) de *F. candida* após 28 dias em Cambissolo (A), com as concentrações de 0, 1, 2, 4, 8, 15 e 30% de *dregs* e em Neossolo (B), com as concentrações de 0, 1, 2, 2, 5, 9, e 15%. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett (\top) Desvio padrão.



Fonte: Próprio autor (2017)

A partir dos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade crônica para o Cambissolo e o Neossolo foi possível estimar a concentração efetiva para 20 e 50% (CE_{20} e CE_{50}) com seus intervalos de confiança. Para o Cambissolo o valor de CE_{20} é de 1,45% (1,16-1,75), enquanto o valor de CE_{50} ficou em 4,70% (4,02-5,38), calculados pelo Modelo Exponencial. Já para o Neossolo a os *F. candida* não foram capazes de se reproduzir nem na primeira concentração testada (1%), impossibilitando que o valor de CE_{20} e CE_{50} fosse estimado.

Houve um aumento no pH e na condutividade elétrica dos dois solos naturais testados com a adição do *dregs*, tanto para os ensaios de toxicidade aguda (Apêndices D e E) como para os ensaios de toxicidade crônica. Nos ensaios de toxicidade crônica o pH para o Cambissolo aumentou de 4,18 no controle para 7,28 na concentração de 30%, e o Neossolo de 6,19 para 7,91 do controle para a de 15%, respectivamente. A condutividade elétrica (C.E) também aumentou com o aumento das concentrações de *dregs* em ambos os solos, elevou de 0,05 para 3,26 dS m⁻¹ e de 0,06 para 1,12 dS m⁻¹ para o Cambissolo e o Neossolo, respectivamente (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 Valores de pH (KCl) e condutividade elétrica (C.E.) dos ensaios de toxicidade crônica com *F. candida* para o Cambissolo e para Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (28 dias após).

Concentração (%)	Início do ensaio		Final de 28 dias	
	pH	C.E.	pH	C.E.
Cambissolo				
0	4,19	0,04	4,18	0,05
1	4,97	0,16	5,10	0,24
2	5,66	0,13	5,83	0,16
4	6,12	0,39	6,41	0,49
8	6,48	0,94	6,73	1,02
15	6,71	1,33	7,28	1,57
30	7,02	2,75	7,28	3,26
Neossolo				
0	6,24	0,08	6,19	0,06
1	6,40	0,09	6,55	0,23
2	6,58	0,11	7,07	0,30
3	6,62	0,14	6,84	0,57
5	7,08	0,25	7,24	0,69
9	7,38	0,65	7,61	0,82
15	7,66	0,81	7,91	1,12

Fonte: Próprio autor (2017)

5.4 DISCUSSÃO

De acordo com Almeida et al. (2007b) o *dregs*, quando adicionado aos solos, reage rapidamente num período inferior a duas semanas, sendo que após a primeira semana mais de 90% da reação químicas já se completaram. Segundo os mesmos autores, isso ocorre devido ao pequeno diâmetro de suas partículas que reagem rapidamente com o solo, ocasionando a letalidade quase imediata dos *F. candida*

em concentrações altas (Figura 5.1), de forma que os ensaios de toxicidade aguda mostraram uma alta letalidade total do número de organismos adultos de *F. candida* na medida em que aumentou as concentrações de *dregs* nos solos.

Um fator importante, que pode ter levado a diferenças marcantes nos solos quanto à adição do *dregs*, diz respeito às características distintas de cada solo avaliado. Hernandez et al. (2003) afirmam que algumas propriedades do solo podem influenciar nos efeitos de contaminantes aos organismos, como o pH e os teores de argila. Também o alto teor de matéria orgânica desempenha um papel protetor na toxicidade de *F. candida*, pois diminui a disponibilidade de elementos traços aos organismos (BUR et al., 2012). A maior letalidade de *F. candida* no Neossolo pode ser associada ao menor teor de matéria orgânica neste solo (1,3%), quando comparado ao Cambissolo (3,05%). Natal-da-Luz et al. (2008) avaliando diferentes composições de argila e matéria orgânica em solo OCDE, encontraram resultados significativos de fuga de *F. candida* em solos com teores de matéria orgânica menor que 2%, assim como ocorre no Neossolo testado (Apêndice A).

A CTC (Capacidade de Troca Catiônica) dos solos também pode ser considerada uma variável determinante na toxicidade (LOCK; JANSSEN, 2001), pois esta é uma medida relativa dos sítios de ligação presentes em cada solo. No Neossolo (CTC de 4,9%) existe menor capacidade de adsorção dos contaminantes e, conseqüentemente, e conseqüentemente uma maior disponibilidade das substâncias tóxicas na solução em comparação com o Cambissolo (CTC de 20,9%). Além disso, o Neossolo tem menor teor de MO (1,3%) e argila (4%), que permite que a toxicidade das substâncias seja altamente evidenciada neste solo (CESAR et al., 2012; CESAR et al., 2015; ALVES et al., 2015) (Apêndice A).

Crouau et al. (2002) relataram dificuldades ao avaliar toxicidade de compostos, como resíduos industriais, uma vez que os ensaios com *F. candida* podem ter diferentes respostas, devido principalmente às variações químicas, como por exemplo, uma elevada presença de elementos traços disponíveis em alguns compostos, assim como foi percebido no presente estudo, não possibilitando separar uma causa exata das respostas dos *F. candida* a adição do *dregs*.

Natal-da-Luz et al. (2004) avaliando solos contaminados com concentrações de Zn, observaram toxicidade aguda de *F. candida* quando comparados com solo sem contaminação, apontando ao Zn a causa da letalidade. Scott-Fordsmand e Krogh (2004), avaliando contaminação de Cu, observaram resultados significativos

de letalidade de *F. fimetaria* com aumento deste gradiente. Bur et al. (2012) avaliando concentrações de Cd e Pb separados e em conjunto, sobre o comportamento de *F. candida*, constataram que a toxicidade diminuiu quando os contaminantes foram combinados. Resultados semelhantes foram observados por Van Gestel e Hensbergen (1997) na reprodução de *F. candida* para uma combinação de Cd e Zn. No entanto, segundo os autores, houve uma competição entre Cd e Zn para a adsorção em fase particulada nos solos, o que acarretou num aumento concentração de Cd na solução do solo quando a mistura foi considerada.

Embora muitos estudos tenham avaliado a interferência de elementos traços em *F. candida* (VAN GESTEL, HENSEBERGEN, 1997; CROUAU et al., 2002; HERBERT et al., 2004; BUR et al., 2010), poucos usaram uma combinação de compostos químicos (FOUNTAIN, HOPKIN, 2004). É, de fato, uma lacuna importante em condições de campo, onde os organismos estão sempre na influência de uma combinação de vários compostos tóxicos (BUR et al., 2012). E os resultados dependem dos efeitos da toxicidade das substâncias químicas que constituem os resíduos industriais, como no caso dos *dregs*.

Nos ensaios de toxicidade crônica houve diferença significativa na reprodução a partir da concentração de 2% para o Cambissolo, de forma que a concentração que causa efeito a 50% (CE₅₀) foi de 4,70% (4,02-5,38), já para o Neossolo os *F. candida* não foram capazes de se reproduzir nem na primeira concentração testada (1%), impossibilitando que o valor de CL₅₀ fosse estimado, confirmando o efeito negativo da adição de *dregs* para a reprodução desses organismos no solo. As características dos solos podem se associar aos dos resíduos e formarem um novo agente de toxicidade para os *F. candida*. Assim como outros estudos já relatam a influência do tipo de solo sobre a biodisponibilidade de tóxicos para diferentes organismos do solo (GREENSLADE, VAUGHAN, 2003; AMORIM et al., 2008; DOMENE et al., 2011).

Bur et al. (2012) observaram uma diminuição na taxa de reprodução em três solos naturais, na medida em que se aumentavam as concentrações de Pb, e quando comparou as respostas entre os solos os autores perceberam que em solo com menor quantidade de argila a diminuição no número de juvenis foi mais rápida e mais significativa do que os outros solos. Bem como foi constatado neste estudo, o Neossolo, com menor quantidade de argila (4%) não mostrou reprodução quanto à adição de *dregs*, quando comparado ao Cambissolo (22%). Confirmando essa

relação Filser et al. (2014) asseguraram que as características do solo não só influenciam a biodisponibilidade das substâncias, mas também o comportamento dos organismos-teste. Carniel (2015) também destaca que a textura interfere na capacidade dos solos de reter contaminantes e que solos argilosos (Cambissolo) possuem maior capacidade de retenção de poluentes, diminuindo a sua biodisponibilidade quando comparados a solos arenosos (Neossolo).

Owojori et al. (2009) estudando solos arenosos e salinos, encontraram redução significativa na reprodução de *F. candida* a partir do valor de $1,03 \text{ dS m}^{-1}$ de condutividade elétrica e uma inibição total da reprodução a partir de $1,62 \text{ dS m}^{-1}$. Já Bianchi (2013) avaliando lama vermelha em SAT, encontrou valores responsáveis pela restrição na reprodução de $1,60 \text{ dS m}^{-1}$ para o resíduo filtrado e de $1,01 \text{ dS m}^{-1}$ para o resíduo *in natura*. No presente trabalho, essa redução na reprodução no Cambissolo deu-se nos valores de $0,127 \text{ dS m}^{-1}$ e a inibição total em $2,745 \text{ dS m}^{-1}$, enquanto no Neossolo a inibição total deu-se em valores menores que $0,092 \text{ dS m}^{-1}$, valores estes inferiores aos encontrados em outros trabalhos, não sendo possível conferir a restrição na reprodução aos valores de condutividade e sim a outros fatores atribuídos ao conjunto de processos causados pela adição de resíduo celulósico aos solos.

Alguns autores afirmam que o pH influencia de forma negativa a reprodução de colêmbolos (VAN GESTEL; VAN DIEPEN, 1997; CROUAU, GISCLARD, PEROTTI, 2002; GREENSLADE, VAUGHAN, 2003) e demonstraram que a máxima reprodução se dá a um valor de pH próximo de 5,5 sendo reduzida com valores acima e abaixo deste. Colêmbolos da espécie *F. candida*, podem suportar a faixa de pH entre 3,2 e 7,6, mas preferem um pH de 6,0 (JÄNSCH, AMORIM, RÖMBKE, 2005). O presente estudo corrobora com isso, tanto para o Cambissolo como para o Neossolo, já que a reprodução teve feitos negativos em pHs superiores a 5,66 e 6,4, respectivamente (Figuras 5.2), o que confirma também a pesquisa de Greenslade e Vaughan (2003) que não encontraram juvenis de *F. candida* em pH próximo a 8,03.

Crouau et al. (2002) perceberam alta dificuldade de avaliar a toxicidade de resíduos em organismos do solo, uma vez que o pH do meio, os teores de matéria orgânica e o teor de argila podem afetar os organismos, assim como, a carga do poluente. Por outro lado, quando se trabalha com a adição de resíduos orgânico em solos, a quantidade de matéria orgânica do material pode favorecer a reprodução de *F. candida*, servindo como fonte de nutrientes para os organismos. Entretanto, a

carga de poluentes presentes no resíduo pode causar efeitos danosos aos organismos (ANDRÉ; DOMENES, 2005), não sendo possível diferenciar os efeitos favoráveis para os desfavoráveis que a adição de *dregs* pode causar aos *F. candida*.

5.5 CONCLUSÕES

Os ensaios mostraram efeitos deletérios quando da utilização de *dregs* sobre a toxicidade aguda e crônica de *F. candida*, tanto para o Cambissolo como para o Neossolo, sendo esses efeitos mais pronunciados dependendo do tipo do solo.

Concentrações de 20% para o Cambissolo e de 10% para o Neossolo respectivamente, causam toxicidade aguda significativa nos *F. candida*, enquanto que concentrações de 38,25 e 20,9% para os mesmos solos afetam a sobrevivência de 50% da população de *F. candida*. Ainda, percebe-se com os ensaios de toxicidade crônica que concentrações de 2% e menor que 1% para o Cambissolo e Neossolo respectivamente, tem efeitos agravantes na reprodução de *F. candida*.

Assim, a utilização de *dregs* como fonte alternativa de adubação e calagem deve ser feita com extremo cuidado, já que concentrações pequenas, como no caso do Neossolo (<1%) podem causar danos irreversíveis aos organismos do solo.

5.6 REFERÊNCIAS

ABRÁMOFF, M. D. et al. Image processing with **Biophotonics International-Imaging software**. 2004.

ALMEIDA, H.C et al. Composição química de um resíduo alcalino da indústria de papel e celulose (*dregs*). **Química Nova**, v.30, p.1669-1672, 2007a.

ALMEIDA, H.C. et al. Influência da adição de um resíduo industrial alcalino na velocidade de neutralização da acidez do solo, adsorção de sódio e disponibilidade de magnésio para o trigo. **Revista Ciências Agroveterinárias**, Lages, SC, n.2, v.6, p.104-113, 2007b.

ALVES, P.R.L. et al. Ecotoxicological impact of arsenic on earthworms and collembolans as affected by attributes of a highly weathered tropical soil. **Environmental Science pollutants**, 2016.

ALVES, P.R.L. et al. Ecotoxicological characterization of sugarcane vinasses when applied to tropical soils, **Science of the Total Environment**, v.526, p. 222-232, 2015.

AMORIM, M.J.B. et al. Effects of different soil types on the enchytraeids *Enchytraeus albidus* and *Enchytraeus luxuriosus* using the herbicide Phenmedipham. **Chemosphere**, v.61, p.1102-1114, 2005.

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

ARRUDA, O.G. **Uso do resíduo da extração de celulose e o impacto em solo de cerrado cultivado com eucalipto e espécie arbórea nativa**. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, Botucatu, SP, p. 101, 2006.

BELLOTE, A.F.J. et al. Resíduos da indústria de celulose em plantios florestais. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, Embrapa, v.37, p.99-106, 1998.

BIANCHI, M. de O. **Ensaio ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo**. Tese (Doutorado em Ciência do solo) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2013.

BRANCO, S.B. et al. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.1, n.49, p.543–550, 2013.

BUR T. et al. Toxicity of Pb and Pb/Cd combination on the springtail *Folsomia candida* in natural soils: Reproduction, growth and bioaccumulation as indicators. **Science of The Total Environment**, v.414, p.187-197, 2012.

BUR. T. et al. Determining cadmium critical concentrations in natural soils by assessing Collembola mortality, reproduction and growth. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.73, p.415–22, 2010.

CARNIEL, L.S.C. **Avaliação do risco ecotoxicológicos de mancozebe e clorpirifós para representantes da macro e mesofauna do solo e eficiência de leits biológicos de descarte**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 2015.

CÉSAR, R. et al. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation based on bioassays with springtails and enchytraeids. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, p.2916-2924, 2015.

CESAR, R.G. et al., H. Influence of the properties of tropical soils in the toxicity and bioavailability of heavy metals in sewage sludge-amended lands. **Environmental Earth Sciences**, v.66, p.2281-229, 2012.

CROUAU, Y. et al. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) in bioassays of waste. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.19, p.65-70, 2002.

DOMENE, X. et al. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. **Environmental Pollution**, Barking, v.155, p.227-236, 2008.

EMBRAPA, **Sistema brasileiro de classificação de solos** - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária-EMBRAPA Solo, 2.d, 286 p, 2006.

FILSER, J. et al. Collembola in ecotoxicology – any news or just boring routine **Applied Soil Ecology**, v.83, p.193-199, 2014.

FOUNTAIN, M. T. HOPKIN, S. P. Comparative study of the effects of metal contamination on Collembola in the field and in the laboratory. **Ecotoxicology**, v.13, n.6, p.573–87, 2004.

GARCIA, M.V.B. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Ph.D. Thesis - University of Bonn. Bonn: Germany, 283 p, 2004.

GREENSLADE, P.; VAUGHAN, G. T. A comparison of Collembola species for toxicity testing of Australian soils. **Pedobiologia**, v. 47, p. 171–179. 2003.

HERBERT, I. et al., Comparison of instantaneous rate of population increase and critical-effect estimates in *Folsomia candida* exposed to four toxicants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.57, p.183–93, 2004.

HERNANDEZ L, et al. Heavy metal distribution in some French forest soils: evidence for atmospheric contamination. **Science of The Total Environment**; v.312, p.195–219. 2003.

International Organization for Standardization. **ISO 11267**: Soil quality - Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. Geneva, 16 p, 1999.

JÄNSCH, S.; AMORIM, M.; RÖMBKE, J. Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. **Environmental Reviews**, v.13, p.51-83, 2005.

LIMA, C. A. **Avaliação de risco ambiental como ferramenta para o descomissionamento de uma indústria de metalurgia de zinco**. Tese (Doutorado em química)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 238 p, 2009.

LOCK, K.; JANSSEN, C.R. Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*. **Chemosphere**, v.44, p.1669-1672, 2001.

MACCARI, A.P. et al. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v.16, 26 p. 2016.

MACIEL, T.M.S, ALVES, M.C, SILVA, F. C. Atributos químicos da solução e do solo após aplicação de resíduo da extração de celulose. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.19, n.1, p.84–90, 2015.

MEDEIROS, C.J. et al. Calagem superficial com resíduo alcalino na indústria de papel e celulose em um solo altamente tamponado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.6, p. 1657-1665, 2009.

NATAL-DA-LUZ, T. et al. 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.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J.P. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tools for site-specific assessment of polluted soils. **Environmental Toxicology**, New York, v. 23, p. 2188–2193, 2004.

NURMESNIEMI, H. et al. The use of a sequential leaching procedure for heavy metal fractionation in green liquor *dregs* from a causticizing process at a pulp mill. **Chemosphere**, n.61, p.1475-1484, 2005.

OCDE (Organisation for Economic Co-operation and Development). **OECD Guideline for Testing of Chemicals**. Earthworm, Acute Toxicity Tests, 9 p, 1984.

OLIVEIRA FILHO, L.C.I.et al. Resíduo piritoso provoca toxicidade aguda e crônica em collembola e oligochaeta. **Scientia Agraria**, n.1, v.18, p.64-75, 2017.

OWOJORI, O.J. et al., Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (*Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*). **Pedobiologia**, v.52, p.351—360. 2009.

RIBEIRO, A. P. **Avaliação do uso de resíduos sólidos inorgânicos da produção de celulose em materiais cerâmicos**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil)-Escola Politécnica da Universidade de São Paulo- UNESP, SP, 2010.

RIEFF, G. G. **Monitoramento de ácaros e colêmbolos como potenciais indicadores biológicos de qualidade do solo**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 71 p, 2010.

SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology**. Tokyo, v.33, n.3, p.339-347,1998.

SCOTT-FORDSMAND, J. J.; KROGH P. H. The influence of application form on the toxicity of nonylphenol to *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 7, p. 1497–1505. 2011.

SEGAT, J.C. et al. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.122, p.91-97, 2015.

SLAWSKA, M, BRUCKNER, A, SLAWKI, M. Edaphic collembolan assemblages of Europe temperate primeval forests gradually change along a forest-type gradient. **European Journal of Soil Biology**, v.80, p.92-101, 2017.

SOHI, S.et al. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.1121-1128, 2001.

SOUSA, V. de. **Avaliação da contaminação do solo por metais tóxicos (Cádmio, Cromo, Chumbo e Alumínio) em estandes de tiro no estado do Paraná/Brasil.** Tese(Doutorado em Ambiente e Desenvolvimento) Lageado, PR, 2016.

STATSOFT, I. Estatística 6.0 - Data Analysis Software System. 2004.

STEEN, C. **Separation and utilization of solid residue streams from kraft pulp mills.** Tese (Doutorado em Chemical Engineering) Chalmers University Technology, Gothenburg, Sweden, 59 p, 2016.

STEFFEN, R.B. et al. Avaliação de substratos para reprodução de colêmbolos nativos em condições de laboratório. **Ciencia Florestal**, v.17, n.3, p.265–269. 2007.

TORRES, C.M.M.E. **Incorporação de *dregs* e grits de fábrica de polpa celulósica kraft ao clínquer para a produção de cimento Portland.** Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016.

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.

ZORTÉA, T. et al. Toxicity of four veterinary pharmaceuticals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* in tropical soils. **Chemosphere**, 26 p. 2017.

6 CAPITULO IV - EFEITO DA APLICAÇÃO DE *DREGS* SOBRE A GERMINAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES DE INTERESSE AGRÍCOLA (*BRASSICA RAPA* E *AVENA STRIGOSA*) EM SOLOS DE SANTA CATARINA

RESUMO

A produção de resíduos pelas indústrias brasileiras de papel e celulose (*dregs*) aumentou drasticamente nos últimos anos, e isso têm gerado preocupações quanto ao destino adequado desse material. Por se tratar de um resíduo de origem industrial, o *dregs* também pode ser uma fonte de contaminação por elementos traços aos solos e lençóis freáticos, e quando utilizado na agricultura pode causar desequilíbrios nutricionais as plantas. Desta forma, por meio de ensaios de ecotoxicidade de germinação, é possível diminuir as incertezas dos riscos ecológicos que a adição de *dregs* pode causar. Em vista disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de ensaios de ecotoxicidade o efeito da aplicação de *dregs* sobre a germinação de duas plantas de interesse agrícola (*Avena strigosa* e *Brassica rapa*) em dois solos naturais (Cambissolo e Neossolo) no estado de Santa Catarina. Foram testadas as concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 60, e 80% de *dregs* para ambos os solos. Para o Cambissolo a inibição da germinação foi de 100% para as duas espécies em concentrações superiores a 40%, já para o Neossolo a germinação mostrou-se significativa a partir da concentração de 20% para *B. rapa* e de 10% para *A. strigosa*. Os resultados mostraram que aplicação de *dregs* em concentrações elevadas inibem por completo a germinação de plantas em ambos os solos estudados. Assim, o *dregs* deve ser depositado com cuidado nos solos, uma vez que altas concentrações causam efeitos irreversíveis nas culturas agrícolas, inibindo a germinação de sementes tanto para mono (*A. strigosa*) como para dicotiledôneas (*B. rosa*), além de causar contaminações aos solos e as plantas.

Palavras-chave: *dregs*, solos naturais, germinação.

6.1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui atualmente cerca de 220 empresas de papel e celulose, distribuídas em 16 estados. Essas empresas produzem anualmente cerca de 13,3 milhões de toneladas de celulose e 9,4 milhões de toneladas de papel, o que responde a 4,1% do PIB (Produto Interno Bruto) do país (DEPEC, 2017). A crescente elevação da produção e a busca por produtos melhores acarretam em uma alta geração de resíduos por estas empresas (ANHAIA, BORSZOWSKI, 2012; GOLMAEI et al., 2017).

A destinação dos resíduos produzidos é um dos principais desafios enfrentado pelas indústrias, fazendo-se necessário encontrar alternativas de reaproveitamento, a fim de minimizar os riscos ecológicos causados por eles (MACIEL et al., 2015). Alguns estudos compararam a composição química do *dregs* com as do calcário calcítico, e encontraram similaridade entre ambos (NURMESNIEMI et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007).

Nesse sentido, o reaproveitamento do *dregs* no solo é uma alternativa, considerando a alta necessidade de calcário dos solos das regiões tropicais e subtropicais (ALMEIDA et al., 2007; LUNARDI NETO et al., 2008). Contudo, a aplicação de *dregs* no solo pode ser limitada devido à presença elevada de carga salina neste material (KRISTANTO, ASALOEI, 2017). Além de que, por ser tratar de um resíduo de origem industrial, pode ser também uma fonte de elementos traços, trazendo grandes preocupações quanto à sua utilização na adubação e calagem de plantas empregadas na alimentação humana (BJÖRKQVIST, 2015).

Desta forma, por meio de ensaios de ecotoxicidade é possível reduzir as incertezas dos riscos ecológicos causados pela adição de resíduos e substâncias químicas nos solos (HUND-RINKE, SIMON, 2004; BARBOSA et al., 2017). Estes ensaios trazem como principal característica metodológica a padronização de ensaios laboratoriais (FLYNN, PEREIRA, 2011) e são reconhecidos internacionalmente como uma ferramenta complementar à análise química dos solos (CROUAU, MOÏA, 2002).

Os ensaios de ecotoxicidade com vegetais sensíveis podem servir como indicadores para avaliar qualidade dos solos, visto que respondem rapidamente aos efeitos tóxicos de poluentes (GAVINA, 2011; ZORTÉA et al., 2016). Estas plantas

devem possuir características distintas, como ser facilmente disseminadas, possuir tamanho reduzido, ciclo de vida curto e de fácil cultivo em laboratório (BRITO et al., 2009). Várias plantas são usadas em ensaios de ecotoxicidade e, dentre elas, o nabo (*Brassica rapa* L.) e a aveia (*Avena strigosa*) (BRITO et al., 2009).

Tendo em vista o exposto acima, o presente trabalho teve como objetivo avaliar por meio de ensaios de ecotoxicidade o efeito da aplicação de concentrações crescentes de *dregs* sobre a germinação de duas espécies de plantas, uma monocotiledônea (*A. strigosa*) e outra dicotiledônea (*B. rapa*) em dois solos naturais de Santa Catarina.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Origem e caracterização dos solos

Os dois solos para a realização dos ensaios de ecotoxicidade foram coletados no Santa Catarina, solos estes sem intervenções antrópicas e sem histórico de aplicação de *dregs*. O Cambissolo Háplico distrófico (Cambissolo) foi coletado em Lages, SC e o Neossolo Quartzarênico Órtico típico (Neossolo), em Araranguá, SC (EMBRAPA, 2006). Outras informações podem ser obtidas no capítulo I, no item 3.2.1. As características físicas e químicas de cada solo estão dispostas no Apêndice A.

Como solo padrão para a validação dos ensaios de ecotoxicidade foi utilizado o SAT, o qual é uma adaptação de Garcia (2004) do solo artificial OCDE (OECD, 1984). Mais informações podem ser obtidas no capítulo I, no item 3.2.1.

6.2.2 O *dregs*

O *dregs* utilizado nas contaminações dos ensaios de ecotoxicidade é proveniente da retirada das impurezas do licor verde durante o processo polpa *kraft* das indústrias de papel e celulose. Mais informações no capítulo I, Item 3.2.2. As características químicas obtidas com o Analisador Elementar CHNS (SOHI et al., 2001) do material estão descritas no Apêndice B.

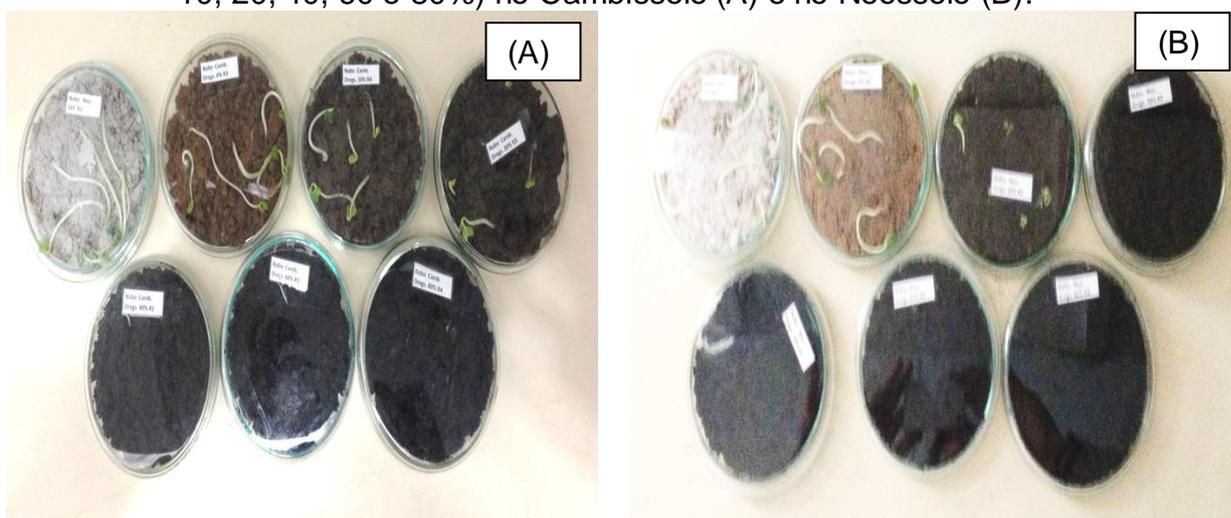
Os teores químicos totais do *dregs* utilizado foram determinados pelo método USEPA 3050B, da Agência de Proteção Ambiental dos EUA. Metodologia descrita no capítulo I, Item 3.2.2. As características químicas do *dregs* estão apresentadas no Apêndice C.

6.2.3 Ensaios de germinação

Para que os ensaios fossem considerados apropriados seguiu-se o protocolo OCDE 208 (2006) que determina a duração do ensaio de 10 dias a partir da germinação de 50% das sementes no solo controle, e também determina que o coeficiente de variação (CV) não deve exceder 50%.

O ensaio foi desenvolvido em ambiente controlado com temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h. Foi baseado no protocolo OCDE 208 (2006), tendo duração de 10 dias, a partir da germinação de 50% das sementes no tratamento controle, foram utilizadas concentrações crescentes de *dregs* (10, 20, 40, 60, 80 e 100%), tanto para *A. strigosa* como para *B. rapa*, representando uma planta monocotiledônea e outra dicotiledônea, respectivamente. Os ensaios foram feitos em placas de petri e com seis sementes por réplica, com quatro réplicas cada tratamento de forma casualizada. Ao final do período experimental foi verificado o número de plantas emergentes.

Figura.6.1. Vista do ensaio de germinação em sementes de *B. rapa* com concentrações crescentes de *dregs* da esquerda para direita (SAT, 0, 10, 20, 40, 60 e 80%) no Cambissolo (A) e no Neossolo (B).



Fonte: Próprio autor (2017)

6.2.3.1 Análise estatística

Para os dados de germinação foram estabelecidos os valores de CL_{20} e CL_{50} (concentração letal para 20 % e 50% das sementes) utilizando o software PriProbit® 1.63 (SAKUMA, 1998). Após foram verificadas a normalidade e homogeneidade dos

dados através dos ensaios de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, por meio do Software Statística 7.0 (STATSOFT, 2004). Quando as suposições não foram cumpridas os dados foram transformados. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA One-Way), seguida pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

6.3 RESULTADOS

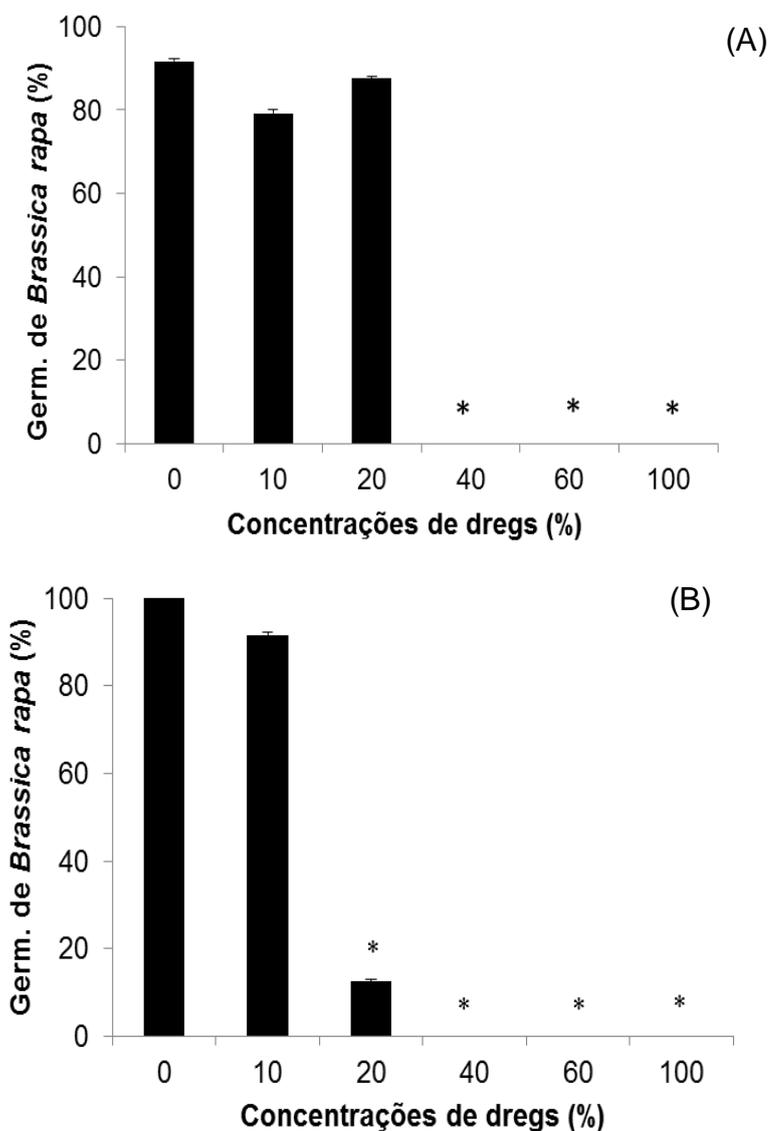
6.3.1 Ensaios de ecotoxicidade - validação

Os ensaios de germinação com *A. strigosa* e *B. rapa* cumpriram os critérios de validação segundo o protocolo OCDE 208 (2006). Para as sementes de *A. strigosa* ocorreu a germinação de 50% das sementes na amostra controle no 4º dia, seguindo o ensaio por mais 10 dias, totalizando 14 dias. Para as sementes de *B. rapa* ocorreu a germinação média de 50% na amostra controle no 7º dia, desta forma o ensaio durou 17 dias, confirmando assim a sua validade.

6.3.2 Ensaios de germinação

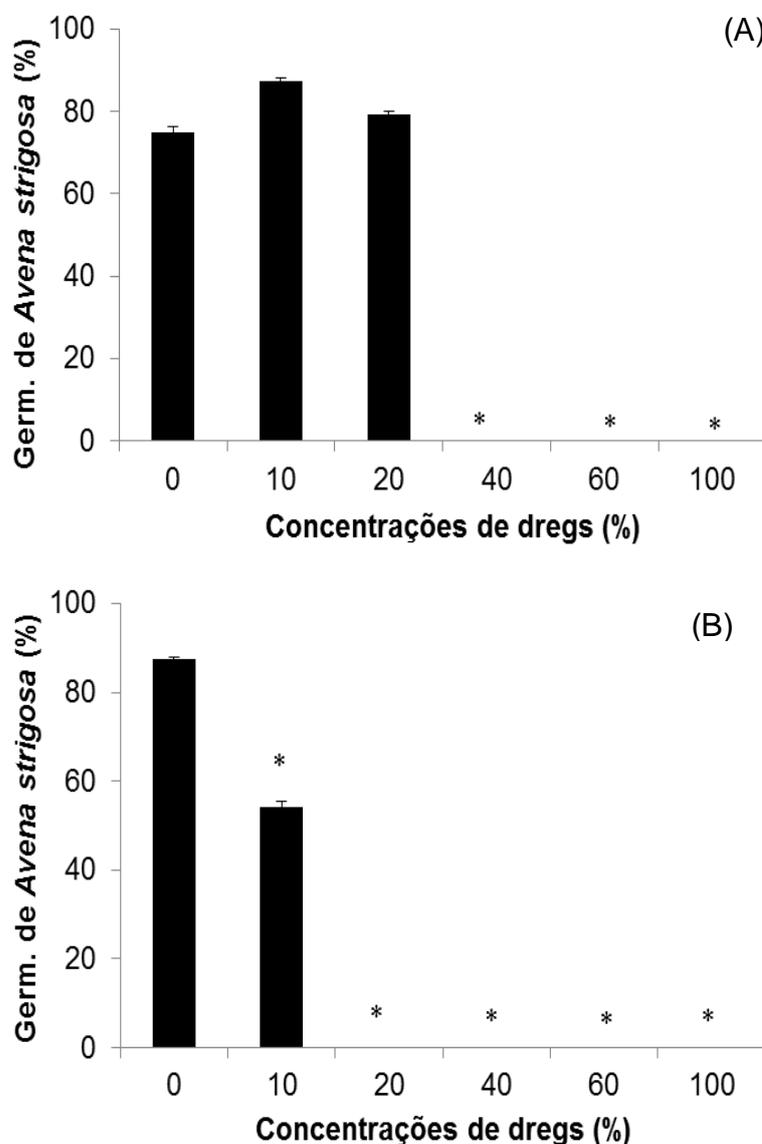
Nos ensaios com o *B. rapa*, o número de plântulas germinadas para os tratamentos sem contaminação foi de 92% para o Cambissolo e de 100% para o Neossolo (Figura 6.2). Já as contaminações de *dregs* no solo tiveram diferença significativa a partir da concentração de inicial de 20% para o Cambissolo e 10% para o Neossolo (Figura 6.2). Para *A. strigosa* foi observada diferença significativa para o Cambissolo a partir da concentração de 40% onde houve ausência de germinação nas concentrações superiores. Para o Neossolo foi observada diferença significativa a partir da concentração de 10% (Figura 6.3). Observou-se também que o tamanho das plântulas foi afetado negativamente pela adição de *dregs* nos dois solos, tendo relação direta com as concentrações testadas.

Figura.6.2 Germinação (germ.) de *B. rapa* em Cambissolo (A) e Neossolo (B), contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60 e 80%) 10 dias após a germinação de 50% das sementes das amostras controles. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão,



Fonte: Próprio autor (2017)

Figura.6.3 Germinação (germ.) de *A. strigosa* em Cambissolo (A) e Neossolo (B) contaminados com concentrações crescentes de *dregs* (0, 10, 20, 40, 60 e 80%) 10 dias após a germinação de 50% das sementes das amostras controles. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Dunnett. (⊥) Desvio padrão.



Fonte: Próprio autor (2017)

A partir dos dados obtidos, para as duas espécies ensaios, estimou-se a concentração letal CL_{20} e CL_{50} responsável pela não germinação de 20% e 50% das sementes e seus respectivos intervalos de confiança. Para as sementes de *B. rapa* a CL_{20} para o Cambissolo foi de 18,4%, e para o Neossolo de 31,9% , enquanto a CL_{50} foi de e 20,9% e 14,6%, respectivamente. Já para as sementes de *A. strigosa* para o Cambissolo o valor de CL_{20} 10,1%foi de e CL_{50} de 21,4%, enquanto para o Neossolo os valores letais paras as sementes foram de CL_{20} : 10,6% e CL_{50} : 10,7%.

6.4 DISCUSSÃO

A partir dos ensaios de germinação com *A. strigosa* e *B. rapa* nos dois solos, percebeu-se uma redução na germinação com o aumento da concentração utilizada, tanto para monocotiledônea como para dicotiledônea. De forma que houve diferença significativa em relação à amostra controle (solo “in natura”) a partir da concentração de 20% para Cambissolo para as duas espécies. No Neossolo esse efeito foi mais pronunciado tendo diferença significativa a partir da concentração de 10% (Figuras 6.2 e 6.3).

As duas espécies testadas (monocotiledônea e dicotiledônea) se comportaram de forma parecida nos dois solos, ressaltando uma maior significância de germinação entre os solos e não entre as espécies. Esse resultado difere das pesquisas de Smolders et al. (2009), que constataram maior toxicidade à contaminação com Cd nas dicotiledôneas (alface, beterraba, feijão e cenoura) do que nas monocotiledôneas (milho, aveia-preta, arroz e trigo). Os mesmos autores relatam que as características genéticas de cada espécie influenciaram nos resultados, assim como os atributos do solo influenciam na disponibilidade de nutrientes e contaminantes às plantas (OLIVEIRA et al., 2013).

Segundo Gong et al. (2001) o nabo (*B. rapa*) e o agrião (*N. officinale*) são mais sensíveis às contaminações no solo do que o feijão (*P. vulgaris*) e a aveia (*A. sativa*). Lima et al. (2010) também observaram maior tolerância às concentrações elevadas de elementos traços no nabo (*B. rapa*) em relação a aveia (*A. strigosa*). Contudo, neste trabalho, não houve diferença de germinação entre as espécies testadas. No entanto, é necessário lembrar que os efeitos tóxicos causados pela inserção de resíduos industriais nos solos podem variar de planta para planta, em combinação com o tipo de solo e condições ambientais (ALVARENGA et al., 2014).

O *dregs* normalmente apresenta uma alta concentração de Ca e Mg o que causa efeitos favoráveis a solos ácidos, como a elevação do pH, devido a neutralização dos cátions ácidos e adição de cátions básicos (ALMEIDA et al., 2007). Porém, altas concentrações podem acarretar em um desbalanço de nutrientes, que induz a falta de Mg e K as plantas, dependendo da magnitude e do teor de Mg natural do solo, causando deficiência destes elementos às plantas (OLIVEIRA, PARRA, 2003). Isto advém da competição entre Ca e Mg pelos sítios de

absorção presentes nas membranas plasmáticas das raízes das plantas. Vale lembrar que o alto teor de Ca no *dregs* é devido a adição deste elemento na forma de óxido de cálcio (CaO) durante a caustificação, enquanto o Mg é adicionado no final do processo e em baixa quantidade (BJÖRKQVIST, 2015).

Os valores de condutividade elétrica observados nos ensaios mostram que a germinação de sementes foi claramente afetada pela adição do *dregs* (Apêndice E). Corroboram com os resultados do presente estudo os valores encontrados por Ayers e Westcot (1999). Sendo que condutividade elétrica de $1,9 \text{ dS m}^{-1}$ para o Cambissolo (concentração de 20%) e de $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ para o Neossolo (concentração de 10%) inibiram quase que 100% a germinação de *B. rapa* e *A. strigosa*. Entretanto a inibição na germinação pela condutividade pode ser diferente para cada cultura (BRANCO et al., 2013).

Bianchi (2013) trabalhando com resíduo de mineração, percebeu que concentrações de 10% do resíduo causam inibição completa do desenvolvimento das sementes, e atribuiu esses resultados aos elevados valores de condutividade elétrica presentes no resíduo. Ayers e Westcot (1999) relatam que o milho (*Zea mays* L.), é uma monocotiledônea sensível à condutividade elétrica dos solos, podendo apresentar resultados significativos a partir do valor de $1,1 \text{ dS m}^{-1}$ e inibição total da germinação acima de $1,7 \text{ dS m}^{-1}$, valores estes próximos dos encontrados quando ocorreu a inibição total da germinação para as duas espécies no Cambissolo ($1,9 \text{ dS m}^{-1}$) e no Neossolo ($1,5 \text{ dS m}^{-1}$).

Um efeito prejudicial à germinação de sementes também pode estar associado ao excesso de Na (sódio) no solo, causado por concentrações elevadas de *dregs* (MEDEIROS et al., 2008). Domene et al. (2008) destacam que o Na, quando em grande quantidade inibe a germinação e crescimento da planta por dois fatores, primeiro, reduzindo a absorção osmótica em consequência do desequilíbrio osmótico e outra pelos íons presentes em solução que alteram o fluxo de transpiração, reduzindo o crescimento e afetando negativamente a absorção de nutrientes essenciais as plantas. Além de inibir a atividade fotossintética, dificultando os processos bioquímicos e fotoquímicos o excesso de Na causa também um retardamento do crescimento vegetal (DOMENE et al., 2008).

Os elementos traços no solo são importantes para a vida saudável das plantas, mas o excesso destes, muitas vezes causado pela adição *dregs* nos solos, têm efeitos profundos no crescimento e morfologia das plantas (LANEIRO, 2012).

Concentrações excessivas de alguns elementos traços produzem sintomas tóxicos (ALVARENGA et al., 2014) como por exemplo, o Zn (zinco), que em altas quantidades induz a letalidade das células embrionárias, impossibilitando a germinação das sementes (BRITO et al., 2009). Já o Cu (cobre), quando em quantidades maiores que as requeridas pelas plantas, não interfere na germinação das sementes, mas afeta o desenvolvimento das mudas, cessando o crescimento das raízes por interferência nas divisões mitóticas (ZORTÉA et al., 2016). Esse mesmo comportamento foi encontrado por Zortéa et al. (2016) quando testaram concentrações crescentes de Cu em sementes de *A. sativa* e *V. villosa* em dois solos naturais.

Gong et al. (2001) observaram que o nabo (*Brassica rapa*) e o agrião (*Lepidium sativum*) mostraram-se mais sensíveis a ensaios de germinação quando comparados à aveia (*A. sativa*) e ao feijão (*P. vulgaris*) em solos contaminados com Cd (cádmio). Segundo os autores, isso ocorre porque o Cd causa alterações na permeabilidade das membranas, alterando a composição química das reservas das plantas, retardando conseqüentemente a emergência das plântulas. Gallo et al. (2015) também observaram redução da germinação e porcentagem de emergência de feijão cultivados com diferentes concentrações de Cd (ALVARENGA, et al., 2014).

De certa forma os ensaios de ecotoxicidade de germinação são dados como de baixa sensibilidade, quando comparados outros resultados com organismos edáficos. Diversos autores já reportaram a contaminação de solos com elementos traços (SANTOS, 2003), levando em conta que a cobertura das sementes confere proteção inicial ao embrião, que depende da espécie e também da quantidade de elementos traços disponíveis nos solos (ALVARENGA et al., 2014). Muitas pesquisas ressaltam que os atributos dos solos, como pH natural, CTC, argila e matéria orgânica possivelmente adsorvem grande parte dos contaminantes e, conseqüentemente, os tornam menos disponíveis às plantas (ZORTÉA et al., 2016). Este fato pode esclarecer a maior toxicidade no Neossolo causada pelo *dregs*, principalmente pela menor quantidade de sítios de adsorção deste solo quando comparado ao Cambissolo.

Kapustka e Reporter (1993) alertam que os ensaios de germinação, por representarem uma fase muito crítica e sensível do ciclo de vida das plantas, muitas vezes são superestimados e podem ser insensíveis a muitos contaminantes, devido

ao fato dos compostos químicos não chegarem a serem absorvidos pelas sementes, já que a planta embrionária supre as necessidades nutricionais internamente, com o material de reserva, não provocando o contato com o ambiente em que se encontra (LANEIRO, 2012). Neste trabalho não foram avaliados efeitos posteriores no desenvolvimento vegetal, além da germinação. No entanto, a avaliação de outros parâmetros, como crescimento e produção de massa seca poderá ser mais sensível ao impacto de tóxicos causados pela adição de *dregs* nos solos (GAVINA, 2011).

6.5 CONCLUSÕES

Os ensaios de ecotoxicidade mostraram efeitos nocivos de concentrações crescentes de *dregs* sobre a germinação de sementes de *A. strigosa* e *B. rapa* para os dois solos testados (Cambissolo e Neossolo), sendo este efeito mais pronunciado quanto maior as concentrações de *dregs*.

Para o Cambissolo, concentrações acima de 20% de *dregs* inibem a germinação de sementes, tanto de dicotiledôneas (*B. rapa*) como de monocotiledôneas (*A. strigosa*). Já para o Neossolo a toxicidade é maior, inibindo a germinação na concentração de 10% para as sementes de *A. strigosa* e na concentração de 20% para *B. rapa*. Para *B. rapa* estimou-se que a concentração letal para a germinação de 50% das sementes ficou em 20,9% para o Cambissolo e de 14,6% para o Neossolo, enquanto para *A. strigosa* foi de 21,4 e 10,7%, respectivamente. Assim, deve-se tomar cuidado com a cultura utilizada e a quantidade de *dregs* depositada nos solos, principalmente em solos arenosos.

A utilização do *dregs* como alternativa de adubação e calagem deve ser feita com extremo cuidado, pois concentrações acima de 10% podem prejudicar a germinação das sementes de *A. strigosa* e *B. rapa*.

6.6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, H.C et al. Composição química de um resíduo alcalino da indústria de papel e celulose (*dregs*). **Química Nova**, v.30, p.1669-1672, 2007.

ALVARENGA, I.F.S. **Fisiologia e ecotoxicologia de espécies vegetais para a feterminação do valor de prevenção de cádmio em solos**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.

ANHAIA, S.A. F.; BORSZOWSKI, P.R. Reaproveitamento de resíduos gerados na fabricação de celulose e papel como substrato na hidroponia para cultura de alface

(*Lactuca sativa*). **Revista Technoeng**, Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais –CESCAGE. Ponta Grossa, PR, n.5, 2012.

AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. Campina Grande, UFPB, 1999.

BARBOSA, L.R. et al. Indicadores microbiológicos e químicos de qualidade de um Latossolo Amarelo sob manejo convencional em diferentes idades. **Bioscience Journal**, v.33, n.3, p.601-609, 2017.

BIANCHI, M. de O. **Ensaio ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo**. Tese (Doutorado em Ciência do solo) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2013.

BJÖRKQVIST, S. Towards a circular economy in the pulp and paper industry: Possible reuse of solid residues from kraft pulp mills as fertilizer to the forest. **Chalmers University of technology**, Gothenburg, Sweden, 40 p, 2015.

BRANCO, S.B. et al. Atributos químicos do solo e lixiviação de compostos fenólicos após adição de resíduo sólido alcalino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.1, n.49, p.543–550, 2013.

BRITO, D. *Arabidopsis thaliana*: planta ensaio em estudos multidisciplinares. **Ciência e Ambiente para Todos-CAPTAR**, v.1, n.1, p.205-216, 2009.

CROUAU, Y. et al. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) in bioassays of waste. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.19, p.65-70, 2002.

DEPEC - Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos, **Papel e celulose**, BRADESCO. 2007.

DOMENE, X. et al. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. **Environmental Pollution**, Barking, v.155, p.227-236, 2008.

EMBRAPA, **Sistema brasileiro de classificação de solos** - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária-EMBRAPA Solo, 2.d, 286 p, 2006.

FLYNN, M.N.; PEREIRA, W.R.L. Abordagem populacional na ecotoxicologia. **RevInter**, n.4, v.3, p.79–91, 2011.

GALLO, A. de S. Efeitos de diferentes espécies de plantas de cobertura sobre a fauna invertebrada epigéia. **Agroecol.** 12 p. 2015.

GARCIA, M.V.B. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Ph.D. Thesis - University of Bonn. Bonn: Germany, 283 p, 2004.

GAVINA, A. C. S. **Ensaio com Plantas na avaliação de risco da mina de Ervedosa**. Dissertação (Mestrado em Biologia) Universidade de Aveiro, Portugal. 2011.

GOLMAEI, M, et al. Study on the filtration characteristics of green liquor *dregs*. **Chemical Engineering Journal**, 32 p, 2017.

GONG, P. et al. Evaluation and refinement of a continuous seed germination and early seedling growth test for the use in the ecotoxicological assessment of soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 44, p. 491-500, 2001.

HUND-RINKE, K., SIMON, M. Terrestrial Ecotoxicity of Eight Chemicals in a Systematic Approach. **Journal of Soils and Sediments**. N. 5, v.1, p.59–65. 2004.

KAPUSTKA, L. A.; REPORTER, M. Terrestrial primary producers. In: Handbook of Ecotoxicology. **Blackwell Scientific Publishers**, Oxford. P.278-298. 1993.

KRISTANTO, G.A.; ASALOEI, H. Assessment of anaerobic biodegradability of live different solid organic wastes. **American Institute of Physics**. v.1826, n.020029, 2017.

LANEIRO, C.F.M. **Avaliação da biodisponibilidade de metais em solos contaminados por atividades minerais: métodos químicos, bioquímicos e ecotoxicológicos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) Instituto Politécnico de Beja, Beja, 2012.

LIMA, C.V.S. et al. Potencial de fitoextração do nabo forrageiro e da aveia preta em argissolo contaminado por cádmio. **Revista de Estudos Ambientais**, Blumenau, v.12, n. 1, p. 39-49, 2010.

LUNARDI NETO, A. et al. Atributos físicos do solo em área de mineração de carvão influenciados pela correção da acidez, adubação orgânica e revegetação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 32, v. 4, p.1379–1388. 2008.

MACIEL, T.M.S, ALVES, M.C, SILVA, F. C. Atributos químicos da solução e do solo após aplicação de resíduo da extração de celulose. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.19, n.1, p.84–90, 2015.

MEDEIROS, C.J. et al. Calagem superficial com resíduo alcalino na indústria de papel e celulose em um solo altamente tamponado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, n.6, p. 1657-1665, 2009.

NURMESNIEMI, H. et al. The use of a sequential leaching procedure for heavy metal fractionation in green liquor *dregs* from a causticizing process at a pulp mill. **Chemosphere**, n.61, p.1475-1484, 2005.

OCDE (Organisation for Economic Co-operation and Development). **OECD Guideline for Testing of Chemicals**. Earthworm, Acute Toxicity Tests, 9 p, 1984.

OLIVEIRA, E.L.; PARRA, M.S. Resposta do feijoeiro a relações variáveis entre cálcio e magnésio na capacidade de troca de cátions de Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.859-866, 2003.

OLIVEIRA, V. H. de. **Concentração de base de risco ecotoxicológico de cádmio em solos**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) Instituto Agronômico, Campinas, SP, 2013.

Organization For Economic Co-Operation And Development. **OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 208**: Terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test. Paris, 21 p, 2006.

SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology**. Tokyo, v.33, n.3, p.339-347,1998.

SANTOS, R. **Reabilitação de ecossistemas degradados pela mineração de carvão a céu aberto em Santa Catarina, Brasil**. Tese (Doutorado em Engenharia)-Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SMOLDERS, E. et al. Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.28, n.8, p.1633–1642, 2009.

SOHI, S.et al. A procedure for isolating soil organic matter fractions suitable for modeling. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.1121-1128, 2001.

STATSOFT, I. Estatística 6.0 - Data Analysis Software System. 2004.

ZORTÉA, T. et al. Toxicidade do cobre em função da correção do pH em dois solos naturais – uma abordagem com plantas e organismos edáficos. **Scientia Agraria**, v.17, n.1, p.1-9, 2016.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos durante as quatro etapas de desenvolvimento da dissertação evidenciamos que a utilização de *dregs* nos solos podem afetar negativamente os organismos edáficos e a germinação de sementes, os quais, possuem papel fundamental na manutenção da qualidade dos solos. A magnitude dessa toxicidade foi maior para os colêmbolos (*F. candida*), seguido pelas minhocas (*E. andrei*), enquitreídeos (*E. crypticus*), germinação de aveia (*A. strigosa*) e nabo (*B. rapa*), respectivamente.

Para o Cambissolo concentrações de 18,9, 38,25 e 41,7% de *dregs* causaram letalidade em 50% de *E. andrei*, *F. cândida* e *E. crypticus*, respectivamente, enquanto que para o Neossolo as concentrações de 8,5, 20,9 e 25,1% causaram tal efeitos nos respectivos organismos.

Nos ensaios de toxicidade crônica os organismos mostraram-se mais sensíveis, sendo que concentrações de 4,70% para *F. candida*, 13,70% para *E. andrei* e de 19,52% para *E. crypticus* são suficientes para causar danos irreversíveis aos organismos edáficos, como a diminuição de 50% na reprodução destes organismos no Cambissolo. Já concentrações menores que 1, de 6,52 e de 6,67% causam os mesmos efeitos no Neossolo.

Para os ensaios de germinação, no Cambissolo concentrações de 20,95% e 21,4% causam letalidade de 50% das sementes de *A. strigosa* e *B. rapa*, e as concentrações de 14,6 e 10,7% para o Neossolo causam, respectivamente, os mesmos efeitos nestas plantas.

Percebeu-se uma diferença na toxicidade do *dregs* dependendo do tipo de solo, onde o solo mais arenoso (Neossolo) apresentou níveis de toxicidade maiores em comparação ao solo mais argiloso (Cambissolo). Desta forma, cada solo reage de maneira distinta a adição de *dregs*, o que compromete a determinação de concentrações específicas para a aplicação deste material. É importante destacar também que o uso de misturas como resíduos industriais nos solos deve ser feito com cautela, uma vez que misturas químicas como no caso do *dregs*, podem potencializar os efeitos nocivos aos organismos do solo, sendo difícil determinar quais foram os principais fatores que interferiram nos resultados.

No presente estudo, foi considerado o uso de bioindicadores do solo para caracterizar o risco ecológico terrestre que a deposição de *dregs* causa no solo.

Para a fauna edáfica é recomendável a realização de ensaios de nível de semi-campo ou campo, para verificação da interação entre as espécies e para microrganismos, o que pode ajudar a revelar o prejuízo da aplicação de *dregs* sobre os serviços do ecossistema prestado pela biota do solo.

E, finalmente, sugere-se que mais estudos ecotoxicológicos sejam desenvolvidos com outros organismos, como por exemplo ácaros e isótopos, para possibilitar a determinação de concentrações que possam ser utilizadas em solos sem que causem letalidade e efeitos negativos e reprodução dos organismos. Assim como a avaliação ecotoxicológica do crescimento e de matéria seca de diferentes plantas em concentração abaixo das que interferem na sua germinação.

APÊNDICES

Apêndice A Parâmetros químicos e físicos do Cambissolo Háplico distrófico* e Neossolo Quartzarênico Órtico típico* avaliados na profundidade de 0-0,20 m.

Análise	Cambissolo	Neossolo
M.O (%) ¹	3,05	1,30
CTC ²	20,94	4,90
pH (H ₂ O)	5,1	6,4
Índice SMP	5,0	6,9
H+Al (cmol _c /dm ³)	13,75	1,55
Ca (cmol _c /dm ³)	5,01	2,9
Mg (cmol _c /dm ³)	2,08	0,3
Al (cmol _c /dm ³)	0,22	0,0
Areia (%)	44	37
Silte (%)	23	59
Argila (%)	33	4
Classe textural ³	Franco argiloso	Franco arenoso

³ Segundo o Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (Embrapa, 2006)

¹MO- Matéria Orgânica

²CTA- Capacidade de Troca Catiônica em pH 7,0

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice C Parâmetros químicos do lote de *dregs* utilizado (CHNS)

pH (H ₂ O)	C.E. (H ₂ O)	N Total (%)	C Total (%)	Relação C/N Total	S total (%)	H total (%)
9,48	5,71	0,063	18,44	305,32	2,91	0,43

*C.E.=Condutividade Elétrica; C= Carbono; N= Nitrogênio; H=Hidrogênio; S=Enxofre (Analisados pelo Analisador Elementar CHNS)

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice B Parâmetros químicos do lote de *dregs* utilizado

Elementos	Média com DP g kg ⁻¹	LDE* mg kg ⁻¹
Al	10,00±0,08	1,09
Ca	7,48±0,46	3,48
Fe	1,92±0,03	0,63
K	2,99±0,02	2,84
Mg	7,42±0,19	0,39
Mn	20,15±0,07	0,19
Na	12,46±0,01	3,71
	mg kg ⁻¹	
Ag	4,16±0,03	0,01
Ba	524,46±1,62	0,19
Co	27,2±0,25	0,01
Cr	776,98±14,63	0,08
Cu	278,98±2,69	0,12
Ni	30,23±2,46	0,06
Pb	60,51±0,5	0,11
Si	305,49±26,34	1,66
Sr	2484,09±4,52	0,01
Zn	503,6±0,21	0,21

*DP: Desvio Padrão

*LDE = (SM - Mbr)/m, onde LDE é o limite de detecção do equipamento, Mbr = média das provas em branco, m = inclinação da curva de calibração e SM = sinal analítico mínimo distinguível.

Apêndice D Valores de pH (KCl) obtidos no início e no final dos ensaios de toxicidade aguda com *E. andrei*, *F. candida*, *E. crypticus* e de germinação com *B. rapa* e *A. strigosa* para o Cambissolo e para o Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (14 dias após).

Concentração (%)	Início do ensaio		Final de 14 dias	
	Cambissolo	Neossolo	Cambissolo	Neossolo
0	4,4	5,9	4,5	6,1
10	7,8	8,1	7,6	8,3
20	8,0	8,4	7,9	8,4
40	8,4	9,0	8,2	8,8
60	8,7	9,2	8,5	9,0
80	9,2	9,2	9,0	9,2
100	9,3	9,4	9,2	9,2

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice E Condutividade elétrica (H₂O) em dS m⁻¹, obtidos no início e no final dos ensaios de toxicidade aguda com *E. andrei*, *F. candida*, *E. crypticus* e de germinação com *B. rapa* e *A. strigosa* para o Cambissolo e para o Neossolo no início do ensaio (dia zero) e final do ensaio (14 dias após).

Concentração (%)	Início do ensaio		Final de 14 dias	
	Cambissolo	Neossolo	Cambissolo	Neossolo
0	0,007	0,016	0,049	0,062
10	0,844	0,987	1,012	1,082
20	1,970	1,800	1,770	1,712
40	3,450	3,830	3,260	3,692
60	4,010	4,177	3,922	4,103
80	5,067	5,233	5,982	5,073
100	5,710	5,710	5,710	5,710

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice F Concentração de *dregs* (%) utilizadas nos ensaios toxicidade aguda e crônica, com *E. andrei*, *F. candida*, *E. crypticus* e germinação de como *B. rapa* e *A. strigosa* para o Cambissolo e para o Neossolo.

Organismo	Cambissolo	Neossolo	Cambissolo	Neossolo
	T. aguda e Germinação		T. crônica	
<i>E. andrei</i>			1, 2, 3, 5, 9, 15	1, 1.5, 2.5, 4, 6.5, 10
<i>E. crypticus</i>	0, 10, 20, 40, 60, 80, 100		1, 2, 4, 10, 20, 40	1, 2, 4, 6, 10, 20
<i>F. candida</i>			1, 2, 4, 8, 15, 30	1, 2, 3, 5, 9, 15
Plantas				

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice G Estimativa de Concentração Letal (CL) para 50% e 20% dos organismos e seus intervalos de confiança *E. andrei*, *F. candida*, *E. crypticus* e germinação com *B. rapa* e *A. strigosa* em o Cambissolo e Neossolo.

Organismo	CL ₅₀		CL ₂₀	
	Cambissolo	Neossolo	Cambissolo	Neossolo
<i>E. andrei</i>	18,9(14,2-25,2)	8,5	24,4 (19,7-46,8)	9,6
<i>E. crypticus</i>	41,7	25,1	55,6	31
<i>F. candida</i>	38,25	20,94(14,1-28,2)	36,4(27,1-56,1)	24,4(19,7-46,8)
<i>B.rapa</i>	20,9	14,6	31,9	18,4
<i>A. strigosa</i>	21,4	10,1	30,7	10,6

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice H Estimativa de Concentração Efetiva (CE) para 50% e 20% dos organismos e seus intervalos de confiança para *E. andrei*, *F. candida*, *E. crypticus* e germinação com *B. rapa* e *A. strigosa* em Cambissolo e Neossolo

Organismo	CE ₅₀		CE ₂₀	
	Cambissolo	Neossolo	Cambissolo	Neossolo
<i>E. andrei</i>	13,70(10,93-16,47)	6,52(4,64-8,39)	7,53(4,30-10,76)	1,22(0,1-9,53)
<i>E. crypticus</i>	19,52(14,52-24,52)	6,67(6,18- 7,17)	15,55(12,43-18,67)	4,34(3,97-4,71)
<i>F. candida</i>	4,70(4,02-5,38)		1,45(1,16-1,75)	

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice I Parâmetros químicos encontrados para as concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda para *E. andrei*, *F. candida*, e *E. crypticus* em um Cambissolo.

Elementos	0	10	20	40	60	80
	mg kg ⁻¹					
Ba	100,4	179,4	232,9	344,5	444,5	482,2
Co	27,5	24,0	33,6	21,9	12,6	15,3
Cu	117,2	153,1	172,2	215,1	254,1	265,4
Si	660,5	474,4	453,4	497,4	347,1	323,7
Sr	16,5	116,8	264,8	428,8	535,3	720,8
Zn	31,9	118,7	180,1	305,7	418,9	459,1
g kg ⁻¹						
Al	42,7	34,6	40,5	29,0	15,2	12,7
Ca	1,2	15,4	34,9	55,7	70,1	94,4
Cr	0,0	0,2	0,5	0,8	1,0	1,4
Fe	43,3	32,7	36,0	23,0	12,1	10,3
K	0,3	0,7	1,1	1,9	2,6	2,8
Mg	0,8	2,6	5,4	8,5	10,7	14,3
Mn	0,7	1,7	3,5	5,3	6,5	8,8
Na	0,3	1,9	6,4	9,3	13,5	17,6

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice J Parâmetros químicos encontrados para as concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda para *E. andrei*, *F. candida*, e *E. crypticus* em um Neossolo.

Elementos	0	10	20	40	60	80
	mg kg ⁻¹					
Ba	16,6	262,2	338,3	519,0	521,0	536,6
Co	0,0	7,6	5,8	8,7	30,5	23,5
Cu	25,9	135,5	171,7	274,1	274,4	278,3
Si	400,7	313,8	237,8	255,7	273,1	313,8
Sr	5,0	420,0	577,5	938,8	1070,9	1009,4
Zn	16,9	229,1	306,5	494,0	497,5	504,6
g kg ⁻¹						
Al	4,5	7,1	6,7	8,2	10,2	7,6
Ca	0,8	55,6	75,2	118,1	166,9	159,1
Cr	0,0	0,8	1,1	1,9	2,4	2,1
Fe	2,6	5,0	5,3	7,8	13,0	11,5
K	0,3	1,3	1,7	2,7	2,7	2,8
Mg	0,3	8,1	11,2	20,4	24,6	24,7
Mn	0,1	4,8	6,7	12,5	16,7	14,9
Na	2,5	3,8	7,8	25,0	35,9	88,4

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice K Parâmetros químicos encontrados para as concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica para *E. andrei*, *F.candida*, e *E. crypticus* em um Cambissolo.

Elementos	1	2	4	5	8	9	10	15	20	30	40
	mg kg ⁻¹										
Ag	0,4	0,4	0,4	0,6	0,4	0,7	0,8	0,8	1,5	1,7	2,0
Ba	72,5	75,3	80,4	85,9	80,4	88,6	100,1	98,6	131,6	146,2	190,5
Co	34,1	39,8	41,8	43,6	43,6	49,1	44,5	54,3	49,1	54,3	54,3
Cr	41,8	58,6	67,1	101,3	72,7	117,9	133,8	150,7	277,3	312,9	388,4
Cu	89,4	93,9	98,1	98,1	98,1	100,3	101,9	107,7	119,0	123,3	125,2
Ni	24,4	24,5	25,2	25,2	25,2	27,3	26,9	29,4	33,1	35,0	36,4
Pb	16,3	19,0	25,5	29,2	26,4	33,4	26,4	35,8	26,9	35,8	35,8
Sr	10,6	16,3	30,2	51,6	30,2	57,3	67,4	77,6	164,8	199,6	263,6
Zn	25,2	29,5	31,0	38,4	33,8	39,5	45,4	49,0	80,1	84,4	99,3
g kg ⁻¹											
Al	42,6	42,9	43,3	45,6	44,8	47,1	44,8	50,3	45,6	50,3	46,8
Ca	1,4	2,1	4,1	7,2	4,1	8,0	9,4	10,7	22,8	27,3	36,1
Fe	26,2	29,4	31,0	32,7	32,7	33,6	32,7	33,8	33,6	33,8	33,8
K	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,7	0,7	0,9
Mg	0,7	0,9	1,0	1,4	1,0	1,6	1,7	2,0	3,4	3,8	4,7
Mn	0,8	0,9	0,9	1,0	0,9	1,2	1,3	1,4	2,2	2,5	2,9
Na	0,5	0,6	0,8	1,5	0,9	1,5	1,9	2,3	6,4	6,7	9,3

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice L Parâmetros químicos encontrados para as concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica para *E. andrei*, *F. candida*, e *E. crypticus* em um Neossolo.

Elementos	1	1,5	2	2,5	3	4	5	6	6,5	9	10	15	20	
	mg kg ⁻¹													
Ag	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5	1,2	0,8	1,4	1,5	
Ba	0,0	0,0	5,2	7,2	5,2	7,2	9,8	27,7	24,2	75,6	54,8	102,2	132,4	
Co	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,2	0,9	2,5	1,7	2,7	3,5	
Cr	12,1	21,0	41,0	42,9	41,0	42,9	65,4	102,6	97,9	228,2	173,3	267,8	320,2	
Cu	13,4	14,2	13,8	15,5	14,4	17,7	17,7	21,4	21,4	40,0	31,5	45,2	53,3	
Ni	3,6	4,5	5,5	5,4	5,6	5,6	5,9	6,7	8,0	14,3	11,5	16,7	19,5	
Pb	4,1	5,8	7,1	6,1	5,3	7,7	7,7	8,4	7,7	8,7	8,7	12,3	9,0	
Sr	6,9	11,6	26,2	29,7	29,7	29,7	36,4	67,1	62,6	183,0	120,7	217,0	221,4	
Zn	8,0	8,0	10,0	10,0	11,4	14,2	14,2	25,6	19,8	52,1	40,1	64,0	79,2	
g kg ⁻¹														
Al	3,8	3,9	4,1	4,1	3,8	4,1	4,1	4,3	4,9	5,1	5,0	5,2	6,6	
Ca	1,1	1,7	3,9	4,2	4,3	4,2	4,9	9,3	8,5	25,8	17,6	29,7	31,1	
Fe	2,1	2,1	2,2	2,4	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,5	2,6	2,6	3,4	
K	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,6	0,5	0,7	0,8	
Mg	0,3	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	1,2	1,1	2,9	2,1	3,2	3,8	
Mn	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,7	0,6	1,5	1,1	1,8	2,1	
Na	3,8	3,8	3,8	3,8	8,6	7,8	8,9	8,8	8,8	9,0	8,8	11,8	8,9	

Fonte: Próprio autor (2017)

Apêndice M Concentrações de *dregs* (t ha⁻¹) utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica e com *E. andrei*, *F. candida*, e *E. crypticus* em um Cambissolo e um Neossolo.

Cambissolo		Neossolo	
Concentração (%)	t de <i>dregs</i> ha ⁻¹	Concentração (%)	t de <i>dregs</i> ha ⁻¹
1	2	1	2
2	4	1,5	3
3	6	2	4
4	8	2,5	5
5	10	3	6
8	16	4,0	8
9	18	5	10
10	20	6	12
15	30	6,5	13
20	40	9	18
30	60	10	20
40	80	15	30
		20	40

Fonte: Próprio autor (2017)