JULIA CORÁ SEGAT

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA APLICAÇÃO DE DEJETO LÍQUIDO DE SUÍNOS EM SOLOS SUBTROPICAIS

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutora no Curso de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC.

Orientador: Dr. Osmar Klauberg Filho

Lages, SC
2016

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

Corá Segat, Julia
AVALIAÇÃO ECOTOXICOLOGICA DA APLICAÇÃO DE DEJETO LIQUIDO DE SUÍNOS EM SOLOS SUBTROPICAIS / Julia Corá Segat. Lages - 2016.
304 p.

Orientador: Osmar Klauberg Filho
Co-orientador: Dilmar Baretta
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2016.

1. Biodiversidade edáfica. 2. dejeto líquido de suínos. 3. ecotoxicologia terrestre. I. Klauberg Filho, Osmar . II. Baretta, Dilmar. , .III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. IV. Título.

JULIA CORÁ SEGAT

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA APLICAÇÃO DE DEJETO LÍQUIDO DE SUÍNOS EM SOLOS SUBTROPICAIS

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC como requisito parcial para obtenção do título de Doutora.

Aprovada:___/__/____ Homologada:___/___/____

Banca examinadora:

Orientador: _____
Osmar Klauberg Filho

Coorientador: _____
Dilmar Baretta

Membro: _____
Álvaro Luiz Mafra

Membro-externo: _____
José Paulo Sousa

Membro-externo: _____
Júlia Carina Niemeyer

Lages, 16 de julho de 2016

Aos meus “véinhos” Osni e Maristela verdadeiramente meus maiores mestres. Aqueles que já torciam por mim antes mesmo de eu nascer.

Ao meu irmãozinho Eduardo à quem sempre quero ser o melhor exemplo e quem me motiva a ser cada dia melhor.

A minha Chica simplesmente por existir.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus por alimentar minhas crenças.

Aos meus pais e ao mano por acreditar em mim, me aguardar chegar em casa, pelo carinho de sempre e por me ensinarem amar e ser amada.

Ao meu orientador Osmar Klauberg Filho, meu co-orientador Dilmar Baretta e a UDESC pela oportunidade.

Ao pesquisador da Embrapa Suínos e Aves Juliano Corulli Correa pela ajuda primordial na realização do estudo e por todo conhecimento já gerado para a sociedade.

A Embrapa Suínos e Aves, Concórdia – SC, por disponibilizar as áreas e auxiliar na execução do trabalho.

A Universidade de Coimbra e ao Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia de Solos do Departamento de Ciências da Vida por me receberem durante o doutorado sanduíche.

As minhas colegas e companheiras nessa jornada Ana Maccari e Talyta Zortéa por entenderem, ajudarem, partilharem de todas as etapas do desenvolvimento e execução desse projeto.

Ao meu colega Luis Carlos Iuñes de Oliveira Filho por sempre ajudar com as mais cabeludas dúvidas na execução da pesquisa.

Ao Carlos Eduardo Oltramari pela compreensão, horas de conversas e pelo apoio.

Aos colegas de laboratório da UDESC/CEO pela ajuda sempre disponível Marcio, Laura, Vanessa, Manuela, Kaine, Daniel, Suélen, Junior, Tamires, Patrik, Francisca. Em especialao Edpool,Alex e Lucas que não pouparam esforços.

Aos meus colegas de laboratório da UDESC/CAV por partilharem das mesmas experiências e pela ajuda, Gilvani, Priscila, Letícia, Janaína, Gessiane, Rafela, Douglas, Gionvanna, Mariana, Julia Machado, Ana Lovatel, Josiane, Josieli, Pamela, Amanda, Luiz Cipriani.

Aos colegas de laboratório da Universidade de Coimbra por me receberem maravilhosamente bem Sónia, Tiago, Eduardo, Érika, Gabriel, Filipa, Filipe, Sara, Moira, Carla, Dalila, Joana, Antônio e em especial ao professor Dr. José Paulo Sousa por me orientar e ser fundamental na finalização do trabalho.

Aos meus familiares em especial Márcia Corá, Suzana Corá e Angelita Segat que acreditaram no meu trabalho e me incentivaram.

Aos órgãos de apoio à pesquisa, CAPESpelas bolsas de doutorado do país e doutorado sanduíche em Portugal (Projeto BEX 6714/15-3) e aoCNPq (projeto CNPq 444903/2014-3 e projeto Ciência Sem Fronteiras 079/2012) pelo apoio financeiro do projeto, tornando possível a execução desse trabalho.

A todos digo que foi um prazer dividir essaetapa com vocês.

Obrigada!

RESUMO

Resíduos da produção suinicola são utilizados como fertilizantes ou condicionantes agrícolas e essa tem sido uma alternativa econômica para seu descarte, mas sua aplicação inadequada pode oferecer riscos ambientais aos corpos receptores, portanto tais resíduos têm recebido cada vez mais atenção em relação aos efeitos de sua utilização.Este estudo objetivou avaliar:I) o efeito de doses de dejeto líquido de suínos (DLS) na reprodução de organismos edáficos através de testes ecotoxicológicos em anelídeos; II) o efeito de doses de DLS na reprodução de organismos edáficos através de testes ecotoxicológicos em microartrópodes; (III) efeito da aplicação de DLS em comunidades nativas de nematoides; IV) o efeito da adição de água via DLS sobre a fauna edáfica; V) o efeito da continuidade do uso do DLS sobre a diversidade estrutural das comunidades da fauna do solo e; (VI) verificar o efeito da exposição histórica ao DLSna resistência destas comunidades edáficas. Para tanto utilizou-se dejeto oriundo da criação de suínos da fase de terminação. O desenvolvimento do projeto deu-se em seis etapas: I) Estudo do efeito de doses de DLS na reprodução de *Eisenia andrei* e*Enchytraeus crypticus*; II) Estudo do efeito de doses de DLS na reprodução de *Folsomia candida* e *Hypoapsis aculeifer*. As duas primeiras etapas objetivaram determinar a concentração efetiva que causa redução de 50 % na taxa reprodutiva (CE_{50}), diferentes doses foram testadas em Cambissolo Háplico eutrófico (CHe),Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd)e um Solo Artificial Tropical (SAT) foi usado como referência.A avaliação estatística consistiu em ANOVA*One-way* com comparação de médias pelo teste de Dunnett (P<0,05) e análises de regressão não linear para estabelecer os valores de

CE_{50}. III)Avaliar o efeito do DLS sobre a estrutura das famílias e grupos tróficos de comunidades nativas de nematoides, para tanto, diferentes doses de DLS foram aplicadas em CHe e emNVd, um solo de Portugal (SR) foi usado como referência.Avaliou-se alterações na abundância de famílias e grupos tróficos de nematoides através de ANOVA *One-way* e comparação de médias pelo teste de Dunnett e, ANOSIM e SIMPER foram utilizadas para identificar quais famílias ou grupos foram responsáveis pelas diferenças entre as doses avaliadas.IV)Estudo em *Terrestrial Models Ecosystems* (TMEs) para determinar o efeito do aporte momentâneo de água no sistema solo via DLS utilizando as doses de 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1} de dejeto e água, com base nas diferentes CE_{50} obtidas na Etapa I, sobre a estrutura da comunidade edáfica nativade um Cambissolo Húmico alumínico (CHa)e um NVd.Os resultados foram submetidos a análises de GLMM, PCoA, PERMANOVA e SIMPER; V) Estudo em *Terrestrial Models Ecosystems* (TMEs) para determinar o efeitoda continuidade do uso de DLS, testando as doses de 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1} de dejeto que foram repetidas três vezes espaçadas temporalmente em 25 dias e os resultadosdesta etapaforam avaliados através de ANOVA com comparação por Dunnett, PCoA, PERMANOVA e SIMPER;VI)Avaliação do uso histórico de DLScomo fertilizante agrícola, para tanto TMEs de duas áreasde Integração Lavoura-Pecuáriasobre um NVd foram coletados, uma das áreas sem histórico de uso de DLS e outra com uso de DLS ao longo de 20 anos.As três doses CE_{50} foram aplicadas aos TMEs apenas uma vez e avaliou-se alterações causadas na estrutura das comunidades edáficas. Os dados foram estatisticamente avaliados por análises de PERMANOVA, SIMPER, PCoA, ANOVA com comparações por Dunnett e teste *t* de acordo com o tipo de dados obtido.

Com base nos ensaios ecotoxicológicos padronizados verificou-se toxicidade do DLSna reprodução *E. andrei*, *E. crypticus*, *F. candida* e *H. aculeifer* para CHe e NVd. Alterações na abundância, estrutura de famílias e grupos tróficos de nematoides também foram encontradas para o uso de DLS nos dois solos usados para os testes. O aporte de grande volume de água via DLS não é suficiente para causar efeitos na estrutura da comunidade edáfica dos solos avaliados. Os resultados da continuidade de aplicação de dejeto mostram que para o CHa ocorreram alterações com as repetidas aplicações de DLS, enquanto para o NVd essas alterações não responderam da mesma maneira mostrando maior influência do uso do DLS do que da reaplicação desse resíduo. O uso histórico de DLS promove a presença de grupos de organismos mais adaptados a fertilização com esse resíduo, uma vez que a aplicação de DLS provocou alterações na composição dos grupos da comunidade edáfica apenas na área sem histórico de uso de DLS.

Palavras chave: dejeto líquido de suínos, ecotoxicologia, *terrestrial model ecosystems.*

ABSTRACT

Waste of pig production is used as fertilizer or agricultural conditions and this has been an economical alternative to its disposal, but their improper application can provide environmental risks to receiving bodies, so such waste have received more and more attention to the effects of its use. This study aimed to evaluate: I) the effect of pig slurry (PS) dosesreproduction of soil organisms through ecotoxicological tests in annelids; II) the effect of PS doses reproduction of soil organisms through ecotoxicological tests microarthropod; (III) applying PS effect on native nematode communities; IV) the effect of adding water as PS on the soil fauna; V) the effect of continued use of the PS on the structural diversity of soil fauna communities and; (VI) to verify the effect of historical exposure to PS resistance of these soil communities. For this purpose we used slurry coming from the creation of the termination layer animals. The development of the project took place in six stages: I) Study of PSdose effects on reproduction of *Eisenia andrei*, *Enchytraeus crypticus*; II) Study of PSdose effects on reproduction of *Folsomia candida* and *Hypoapsis aculeifer*. The first two steps out to determine the effective concentration that causes 50% reduction in reproductive rate (EC_{50}), different doses were tested in Entisol (CHe) and Nitosol (NVd) and a tropical artificial soil (TAS) was used as reference. Statistical analysis consisted of ANOVA One-way with mean comparison by Dunnett test ($P<0.05$)and non-linear regression analysis to establish the EC_{50} values. III) PS effect on the structure of families and trophic groups of nematodes native communities, different doses of PS were applied to CHe

and NVd, a soil Portugal (SR) was used as reference. We evaluated changes in the abundance of families and trophic groups of nematodes by ANOVA One-way and comparison of means by Dunnett test and ANOSIM and SIMPER were used to identify which families or groups were responsible for the differences between the doses. IV) Study Terrestrial Models Ecosystems (TMEs) to determine the effect of momentary water supply in the ground system via the PS using doses of 20, 50 and 150 m^3 h^{-1}slurry and water, based on the different EC_{50} obtained in Step I, on the structure of the native community edaphic a Entisol Humic (Cha).The results were submitted to analysis of GLMM, PCoA, PERMANOVA and SIMPER; V) Study Models Terrestrial Ecosystems (TMEs) to determine the effect of continued use of PS testing doses of 20, 50 and 150 m^3 h^{-1}slurry were repeated three times temporally spaced by 25 days.The results of this stage were evaluated by ANOVA with comparison by Dunnett, PCoA, PERMANOVA and SIMPER; VI) Evaluation of the historical use of PS as agricultural fertilizer, for both TMES two areas of Crop-Livestock Integration on a NVdwere collected, one of the areas without PS usage history and another with the use of PS over 20 years.Three EC_{50}doses were applied to TMEs only once and evaluated changes caused in the structure of the soil communities. Data were statistically evaluated by analyzes of PERMANOVA, SIMPER, PCoA, ANOVA with Dunnett's comparisons and by t-test in accordance with the type of data obtained. Based on standardized ecotoxicological tests verified toxicity PS playback *E. andrei, E. crypticus, F. candida* and *H. aculeifer*inCHe and NVd. Changes in abundance, family structure and trophic groups of nematodes were also found for the use of PS in both soil used for the tests. The injection of large volumes of water via PS is not enough to cause effects on

the structure of soil community of evaluated soil. The results of slurry application continuity show that for Entisol changes withrepeated applications of PS, while for the NVd these changes did not respond in the same way showing greater influence of the use of PS than the reapplication of this waste. The historical use of PS promotes the presence of more adapted organisms groups fertilization with this waste, since the application of PS caused changes in the soil community composition of groupsonly in the area without PS usage history.

Keywords: pig slurry, ecotoxicology, terrestrial ecosystems model.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Modelo conceitual da análise de risco retrospectiva do uso de dejeto líquido de suínos. Compartimentos ambientais: Elipses; Compartimento ambiental estudado: Elipse rachurada; Receptores ecológicos: Retângulos; Vias de transporte entre compartimentos: Flechas espessas; Vias de exposição aos receptores ecológicos: Flechas finas; Receptores ecológic os avaliados no presente projeto: Retângulos cinzas. Fonte: produção do próprio autor, 2016. 56

Figura 2.1 – Número médio de de juvenis de *Eisenia andrei* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa (p<0,05) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão (n = 5). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 92

Figura 2.2 – Número médio de juvenis de *Enchytraeus crypticus* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa

(p<0,05) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão (n = 5). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 97

Figura 3.1 – Número médio de juvenis de *Folsomia candida* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa (p<0,05) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão (n = 5). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 122

Figura 3.2 – Número médio de juvenis de *Hypoaspis aculeifer* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa (p<0,05) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão (n = 5). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 123

Figura 4.1 – Extração de nematoides de comunidades nativas. Extratores (A); Detalhes do solo envolto por papel toalha sobre tela (B). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 147

Figura 5.1– Esquema de coleta de TMEs. Amostrador (A); Introdução do amostrador no solo (B); Amostrador + tubo de PVC no solo (C); remoção do amostrador do solo (D); Retirada do tubo de PVC com amostra de dentro do amostrador (E);

Tubo de PVC com amostra de solo com estrutura preservada (F). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 187

Figura 5.2 – Acondicionamento dos TMEs. TMEs dentro do *cart* (A); Detalhe do espaço destinado a cada um dos TMEs (B); *carts* mantidos em sala com temperatura e fotoperíodo controlados (C). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 190

Figura 5.3– Início da montagem do experimento. Detalhe da semeadura de aveia (flechas vermelhas) e colocação do *Litter bag* (A); Amostra com 50 m^3 ha^{-1} de água (B); Amostra com 150 m^3 ha^{-1} de dejeto líquido de suínos (C). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 191

Figura 5.4– Desmontagem de TMEs por tempo. Extração da amostra de solo do tubo de PVC (A); Amostra com estrutura preservada retirada do tubo de PVC (B); Amostra de solo separa em três camadas 0-10; 10-20; 20-40 cm (C); Camada superficial 0-10 cm separada em três porções. Fonte: produção do próprio autor, 2016. 196

Figura 5.5 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência

de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Cambissolo Húmico alumínico. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo). Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e 150 m^3 ha^{-1} de água (A150). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 202

Figura 5.6– Análise GLMM do efeito das doses de DLS em compração com o Controle no Cambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150).(┬) Desvio padrão. *Variáveis significativas (P<0,05). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 204

Figura 5.7 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférrico. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Chilopoda (Chi), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Hymenoptera (Hym), Larvae (Lar), Lepidoptera (Lepd) e Oligochaeta (Olig). Controle (CTRL), 20

m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e 150 m^3 ha^{-1} de água (A150). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 206

Figura 5.8– Análise GLMM (P<0,05) na comparação do efeito do DLS no Nitossolo Vermelho distroférrico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Variáveis significativas (*). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 208

Figura 5.9 – Análise GLMM (P<0,05) na comparação DLS no Cambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e 150 m^3 ha^{-1} de água (A150). Variáveis significativas (*). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 210

Figura 5.10– Análise GLMM (P<0,05) na comparação DLS no Nitossolo Vermelho distroférrico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e

150 m^3 ha^{-1} de água (A150). Variáveis significativas (*). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 214

Figura 6.1- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Cambissolo Húmico alumínico no primeiro tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enquitreídeo (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 246

Figura 6.2 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Cambissolo Húmico alumínico no segundo tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 248

Figura 6.3 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento

para Cambissolo Húmico alumínico no segundo tempo de avaliação. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Di ` Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Isopoda (Iso), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 250

Figura 6.4– Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Cambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Tempo 1 (■), Tempo 2 (■) e Tempo 3 (■). (┬) Desvio padrão. Variáveis significativas (*). Fonte: produção do próprio autor, 2016... 251

Figura 6.5 – Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Cambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Tempo 1 (■), Tempo 2 (■) e Tempo 3 (■). (┬) Desvio padrão. Variáveis significativas (*). Fonte: produção do próprio autor, 2016... 253

Figura 6.6 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférrico no primeiro tempo de

avaliação. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Hymenoptera (Hym), Larvae (Lar), Lepidoptera (Lepd) e Oligochaeta (Oligo). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 254

Figura 6.7 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférricono segundo tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Isopoda (Iso), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 256

Figura 6.8 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférrico no terceiro tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Isoptera (Isopt), Isopoda (Iso),

Larvae (Lar), Morfotipo edáfico (M1 e M8), Morfotipo semi-edáfico (M41) e Oligochaeta (Oligo). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 258

Figura 6.9 – Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Nitossolo Vermelho distrófico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Tempo 1 (■), Tempo 2 (■) e Tempo 3 (■). (┬) Desvio padrão. Variáveis significativas (*). Fonte: produção do próprio autor, 2016... 260

Figura 7.1 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento da área com histórico de uso de dejeto líquido de suínos. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 290

Figura 7.2 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento da área sem histórico de uso de dejeto líquido de suínos.

Acarina (Aca), Araneae (Ara), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Hymenoptera (Hym), Isopoda (Iso), Larvae (Lar), Morfotipo semi-edáfico (M41 e M58), Oligochaeta (Oligo) e Orthoptera (Orth). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 292

Figura 7.3 – Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Nitossolo Vermelho distrófico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Com histórico (■). Sem histórico (■). (┬) Desvio padrão (n= 5). Variáveis significativas (*). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 294

Figura 7.4 – Variáveis significativas (*) de acordo com teste *t student* (P<0,05) para Nitossolo Vermelho distrófico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Com histórico (■). Sem histórico (■). (┬) Desvio padrão (n= 5). Fonte: produção do próprio autor, 2016. 296

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Parâmetros físico-químicos do dejeto de suíno da fase de terminação com umidade natural. 83

Tabela 2.2 – Parâmetros físico-químicos dos solos utilizados. Cambissolo Háplico eutroférrico (CHe), Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd) e Solo Artificial Tropical (SAT). 85

Tabela 4.1 – Composição e abundância relativa da comunidade inicial de nematoides oriundas de solo de Coimbra, Portugal. Médias ± desvio padrão..... 151

Tabela 4.2 – Número de famílias, abundância total (Abund.) e abundância dos grupos tróficos bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG). Média ± desvio padrão..... 152

Tabela 4.3 – Número de famílias, abundância total (Abund.) e abundância dos grupos tróficos bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG), entre os solos avaliados e o solo de referência. Média ± desvio padrão. 153

Tabela 4.4 – Abundância total e número de famílias, para o Cambissolo Háplico eutroférrico (CHe) e Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd). Média ± desvio padrão. 155

Tabela 4.5 – Abundância de nematoides por grupos tróficos: bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG), em Cambissolo Haplico eutroférrico (CHe) e Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd). Média ± desvio padrão. 157

Tabela 4.6 – Composição das famílias de nematoides expressa pela abundância (número total de organismos por família) em doses crescentes de dejeto líquido suíno por tratamento do adicionadas a Cambissolo Háplico eutroférrico. 162

Tabela 4.7 – Composição das famílias de nematoides expressa pela abundância total de organismos por família por tratamento do Nitossolo Vermelho distroférrico 163

Tabela 4.8 – Abundância relativa dos grupos tróficos bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG) e valores de contribuição para diferença entre tratamentos para o Cambissolo Háplico eutroférrico. Média ± desvio padrão.....165

Tabela 5.1 – Atributos físico-químicos dos solos 185

Tabela 5.2 – Classificação de colêmbolos por tipos eco-morfológicos..... 241

Tabela 5.3 – Classificação dos tipos eco-morfológicos 242

Tabela 6.1 – Representação da obtenção combinações a partir das diferenças entre o controle e os resultados dos tratamentos com 20m^3 ha^{-1} de dejeto para Umidade no Nitossolo Vermelho distroférrico. 243

Tabela 6.2 – Diferenças obtidas a partir da subtração dos valores de leitura dos Controle da repetição 1 da dose 20 m^3 ha^{-1} de DLS. 244

LISTA DE QUADROS

Quadro 6.1 – Distribuição das repetições por tratamento e por tempo de aplicação 231

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 47
INTRODUÇÃO 47
1.1 Suinocultura no Brasil 47
1.2 Avaliações ecotoxicológicas 50
1.3 Risco ecológico 53
1.4 Fauna edáfica e serviços ecossistêmicos 57
1.5 Formulação do problema e objetivos 62
1.6 Estrutura da tese 64
1.6.1 Capítulo 2 – Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos para oligochaetas terrestres 64
1.6.2 Capítulo 3 - Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos com microartrópodes terrestres 65
1.6.3 Capítulo 4 - Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos na estrutura da comunidade de nematoides 66
1.6.4 Capítulo 5 – Efeito de doses de dejeto líquido suíno e da água presente no dejeto sobre a fauna edáfica de solos subtropicais em condições de semi-campo 68
1.6.5 Capítulo 6 – O efeito da adição continuada do dejeto líquido de suínos na fauna de solos subtropicais 69
1.6.6 Capítulo 7 - Avaliação do efeito da aplicação de dejeto líquido de suínos na fauna edáfica em solos com e sem histórico de uso de dejeto líquido de suínos 70
Referências 72
SECÇÃO 1. FASE DE ENSAIOS ECOTOXICOLOGICOS PADRONIZADOS 77

CAPÍTULO 2 77
Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos para oligochaetas terrestres.....77
Resumo 77
Abstract.....79
2.1 INTRODUÇÃO.....80
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....82
2.2.1 Amostragem do dejeto líquido de suínos.....82
2.2.2 Amostragem dos solos.....84
2.2.3 Testes de reprodução 86
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....90
2.4 CONCLUSÕES 101
Referências 103
CAPÍTULO 3 110
Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos com microartrópodes terrestres. 110
Resumo 110
Abstract.....112
3.1 INTRODUÇÃO.....113
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....115
3.2.1 Amostragem do dejeto líquido de suínos.....115
3.2.2 Amostragem dos solos.....116
3.2.3 Testes de reprodução 117
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....121
3.4 CONCLUSÕES 128
Referências 130

CAPÍTULO 4 135
Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos na estrutura da comunidade de nematoides 135
Resumo 135
Abstract 137
4.1 INTRODUÇÃO 139
4.2 MATERIAL E MÉTODOS 142
4.2.1 Amostragem do dejeto líquido de suínos 142
4.2.2 Amostragem dos solos 143
4.2.3 Incubação da microfauna 144
4.2.4 Teste com comunidade de nematoides 145
4.2.5 Extração de nematoides – comunidade nativa 147
4.2.6 Contagem e identificação 148
4.2.7 Análise estatística 149
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 150
4.4 CONCLUSÕES 166
Referências 168
SECÇÃO 2. FASE DE ENSAIOS EM CONDIÇÕES DE SEMI-CAMPO (em Terrestrial model ecosystems – TMES) 175
CAPÍTULO 5 175
Efeito de doses de dejeto líquido suíno e da água presente no dejeto sobre a fauna edáfica de solos subtropicais em condições de semi-campo 175
Resumo 175
Abstract 177

5.1 INTRODUÇÃO.....178
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....182
5.2.1 Dejeto líquido de suínos 182
5.2.2 Doses 183
5.2.3 Áreas de coleta de TMEs.....183
5.2.4 Metodologia de coleta.....185
5.2.5 Tratamentos e delineamento estatístico 186
5.2.6 Manutenção do experimento.....187
5.2.7 Desmontagem dos TMEs.....191
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....200
5.4 CONCLUSÕES 216
Referências 217
CAPÍTULO 6 222
O efeito da adição continuada do dejeto líquido de suínos na fauna de solos subtropicais.....222
Resumo 222
Abstract: 224
6.1 INTRODUÇÃO.....225
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....227
6.2.1 Dejeto líquido de suínos 227
6.2.2 Doses 228
6.2.3 Áreas de coleta de TMEs.....229
6.2.4 Metodologia de coleta.....230
6.2.5 Tratamentos e delineamento estatístico 230
6.2.6 Manutenção do experimento.....231
6.2.7 Avaliação dos TMEs.....233

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 245
6.4 CONCLUSÕES 264
Referências 265
CAPÍTULO 7 271
Avaliação do efeito da aplicação de dejeto líquido de suínos na fauna edáfica em solos com e sem histórico de uso de dejeto líquido de suínos 271
Resumo 271
Abstract 273
7.1 INTRODUÇÃO 274
7.2 MATERIAL E MÉTODOS 276
7.2.1 Dejeto líquido de suínos 276
7.2.2 Doses 277
7.2.3 Áreas de coleta de TMEs 278
7.2.4 Metodologia de coleta, tratamentos e delineamento estatístico 279
7.2.5 Manutenção do experimento 279
7.2.6 Avaliação dos TMEs 281
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 289
7.4 CONCLUSÕES 297
Referências 298
CONSIDERAÇÕES GERAIS 303

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 Suinocultura no Brasil

A atividade suinícola tem um importante papel econômico no Brasil e o amplo desenvolvimento deste setor é representado pelo quarto lugarocupado entre os maiores produtores mundiais de carne suína. No ano de 2014 o país chegou a produzir 3.471,7 mil t de carne suína (ABPA, 2015). Dentro do cenário nacional de produção o maior destaque é dado ao estado de Santa Catarina, o qual é responsável por 26,7 % da produção e por 37 % da exportação nacional (ABPA, 2015).

A expressiva representatividade da suinocultura no setor econômico do país ocorre como resposta da especialização do sistema produtivo com base em estratégias empresariais e os avanços tecnológicos e organizacionais incorporados ao longo das últimas décadas. Na produção primária vem ocorrendo mudanças estruturais com o aumento de escala, a especialização e a tecnificação, tendências

relacionadas à crescente integração com a estrutura industrial de abate e processamento, contribuindo assim, para o crescimento do rebanho e o aumento da produtividade (MIELE, 2007). Concomitante a essa expressividade econômica e especialização produtiva ocorre, também, aumento da concentração de animais em menores áreas territoriais, o que acarreta, portanto, em grande volume de dejeto animal produzido por unidade de área, gerando um dos grandes impasses da produção de suínos, uma vez que essa atividade está diretamente ligada a problemas ambientais, especialmente os relacionadosà qualidade da água e do solo.

É possível ter ideia da proporção de dejeto de suínos gerado considerando que cada litro de água ingerido por animal equivale a 0,6 litros de dejeto gerado (OLIVEIRA, 1993), e que as estimativas de consumo diário de água por um suíno adulto apontam volumes de até 20 L dia^{-1} (PALHARES, 2005). Em termos de número de matrizes alojadas no Brasil no ano de 2014 que foi 2.100.936 cabeças (ABPA, 2015) se multiplicarmos esse valor pela estimativa de produção de dejeto por dia temos valores que ultrapassam a casa de milhões de litros por ano.

Atualmente, a principal alternativa para a disposição deste resíduo é a aplicação em solos agrícolas, como

fertilizante orgânico, visto que essa prática aumenta a concentração de matéria orgânica do solo e serve como importante e pouco onerosa fonte de nutrientes para a produção vegetal. Deste modo, quando utilizado de maneira adequada, o dejeto de suínos pode melhorar as características químicas, físicas e biológicas dos solos (SCHERER et al. 2007). No entanto, o uso inadequado e sem critérios pode gerar poluição ambiental (GAYA, 2004).

A dificuldade de manejo do dejeto é um dos grandes problemas ambientais ocasionados pelo atual modelo de produção decorrente da concentração geográfica e da intensificação dos sistemas de confinamento (RACHED, 2009). Além disso, o atual modelo produtivo lança mão de alimentação altamente concentrada e com fornecimento de muitos aditivos, o que causa um desbalanço no aporte de nutrientes ao solo, podendo então, o uso prolongado ou em grandes volumes de dejeto de suínos, causar acúmulo de nutrientescomo P, K, Cu e Znno solo (SCHERER et al., 2010; MURCHIE et al., 2015).

Se, por um lado, já existem alertas sobre os riscos ambientais do uso excessivo e/ou continuado dos dejetos

animais como fertilizante do solo (SEGANFREDO, 2004) e, embora a literatura internacional seja relativamente ampla sobre a utilização de dejeto de suínos como fertilizante e seu possível impacto ambiental, o acervo brasileiro é ainda bastante limitado (SCHERER et al., 2010). Nesse contexto, aspectos como a capacidade de suporte dos dejetos pelo solo, bem como as alterações que estes provocam em suas características biológicas, principalmente, ainda precisam ser estudados para entender a magnitude dos efeitos com que o uso de dejetos suínos pode afetar, beneficamente ou não, o ambiente em que o material é utilizado.

1.2 Avaliações ecotoxicológicas

A ecotoxicologia terrestre é uma ciência que permite avaliar a partir de ensaios ecotoxicológicos efeitos tóxicos de substâncias em seres vivos e em variáveis ambientais, apresentandoresposta mais precisa ou complementar a análise química dos compostos.

Essa ciência consiste em um conjunto de ensaios que são realizados em condições laboratoriais controladas, que visam avaliar os efeitos de contaminantes em organismos bioindicadores não-alvos e as interações destes no ambiente, com base nas formas de degradação e vias de exposição dos

compostos. Tais testes podem ser utilizados como indicadores da qualidade dos solos e apresentam-se como alternativas de fácil aplicação com resposta rápida. O objetivo final destas técnicas é obter resultados de baixa complexidade e baixos custos e extrapolá-los para sistemas mais complexos como é o caso de ecossistemas terrestres.

Os dados obtidos nos testes de toxicidade são analisados estatisticamente e os resultados expressos por parâmetros tais como, CL_{20} e CL_{50} (concentração da substância que causa letalidade em 20 e 50 % dos indivíduos respectivamente, durante o período do teste), CE_{20} e CE_{50} (concentração efetiva que causa efeito em 20 e 50 % dos indivíduos, respectivamente), CENO (maior concentração sem efeito observável), CEO (menor concentração de efeito observado) (VAN GESTEL, 2012), e por curvas que demonstram a relação dose-resposta (HACON, 2003).

A ecotoxicologia terrestre em sua “versão clássica” de avaliações laboratoriais, com contaminação *in vitro*, testando uma ou mais espécies simultaneamente é importantíssima para avaliar uma ampla variedade de alterações e respostas nos parâmetros estruturais e funcionais da comunidade edáfica nos

mais diferentes sistemas ecológicos e com uma ampla gama de estressores ambientais.

Recentemente, novas metodologias de avaliação, com maiores níveis de complexidade têm sido utilizadas, com o objetivo de obter respostas mais realistas e melhorar a extrapolação dos dados para condições reais. Dentre tais metodologias podemos destacar os ensaios de semi-campo com TMEs (*Terrestrial Model Ecosystems*)(VAN GESTEL, 2012). Os TMEs podem ser definidos como sistemas controlados e reprodutíveis que buscam simular processos e interações dos componentes podendo fornecer informações mais completas e realísticas, pois utilizam amostras de um ecossistema natural, permitindo, portanto, que os serviços prestados por diferentes níveis da cadeia trófica sejam considerados durante a avaliação experimental (KNACKER et al. (2004; ANDRÉA, 2010). Esses ensaios têm como objetivo avaliar não apenas os efeitos, mas também a recuperação do ecossistema, o que é essencial para a manutenção dos processos biológicos no solo e o provisionamento dos serviços ecossistêmicos associados, visando o uso sustentável dos recursos naturais e tem sido cada vez mais utilizado como ferramenta de avaliação de risco ecológico.

1.3 Risco ecológico

Análise de risco ecológico (ARE) é um processo de coleta, organização e análise de dados ambientais para estimar efeitos adversos sobre receptores ecológicos (espécies, populações, comunidades) ou sobre ecossistemas devido a uma contaminação. A inserção da ARE como suporte para o processo de tomada de decisão é recente, porém tem crescido o número de países que realizam essa avaliação e ainda desenvolvem estudos para gerar dados e informações referentes à dinâmica e estrutura do ecossistema em foco. Nesse contexto, a ecotoxicologia constitui-se uma importante ferramenta para geração de conhecimentos essenciais que permitem subsidiar a formulação segura de dispositivos legais, normas, programas e diretrizes gerenciais para enfrentar questões de risco ecológico, potencial ou real, determinado pelo uso e pelo lançamento de agentes químicos ou outros compostos no ambiente (FERNICOLA et al., 2003). A ARE pode ter duas diferentes abordagens, análises prospectivas e análises retrospectivas.

A abordagem retrospectiva compreende a avaliação do risco ecológico em ambientes já contaminados, nesse caso tem-se um estudo de caráter retrospectivo. Esta abordagem permite

estabelecer prioridades para a remediação e/ou redução dos riscos, além de fornecer subsídios para o gerenciamento desses locais contaminados (VAN GESTEL, 2012).

A segunda abordagem, análise prospectivavisa prever os impactos futuros do uso de substâncias ou resíduos a fim de controlar o seu uso ou estabelecer valores seguros para essas substâncias ou compostos (ex. utilização de resíduos animais como fertilizante agrícola). Nessa abordagem, assume-se que, o risco de uma substância para os ecossistemas pode ser estimado a partir da avaliação dos efeitos tóxicos observados em um número de espécies indicadoras, expostas a diversas concentrações da substância teste (VAN GESTEL, 2012). Os efeitos adversos dos poluentes sobre os organismos vivos são quantificados por uma variedade de parâmetros, tais como, taxa de sobrevivência, crescimento, reprodução, densidade e diversidade de espécies de uma determinada comunidade biológica, taxa de evolução de CO_2, atividade enzimática entre outros (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Análises de risco prospectivas objetivam regulamentar e definir níveis seguros de introdução do contaminante no meio. Esse tipo de análise utiliza, portanto, substâncias testes e ensaios laboratoriais ou de semi-campo que devem levar em consideração os receptores ecológicos e a dinâmica do

contaminante no meio, para a obtenção de respostas mais realistas.

A elaboração de uma análise de risco ecológico prospectiva é embasada na "formulação do problema" que tenta ver se o contamiante a ser analisado pode atingir os receptores ecológicos importantes no sistema em estudo. De forma a tentar representar quais os potenciais efeitos que podem ocorrer em campo derivados da aplicação de DLS. Apresenta-se na Figura 1.1 um diagrama cenceitual incluindo quais os potenciais receptores ecológicos e a respectivas vias de exposição ao DSL. Este tipo de diagramaé mais utilizadoem uma análise de risco retrospectiva, mas, neste caso, pode ajudar a entender de maneira holística os potenciais impactos da aplicação deste tipo de dejeto. O diagrama serve também para assinalar quais os principais aspectos que foram abordados no desenvolvimento do presente estudo.

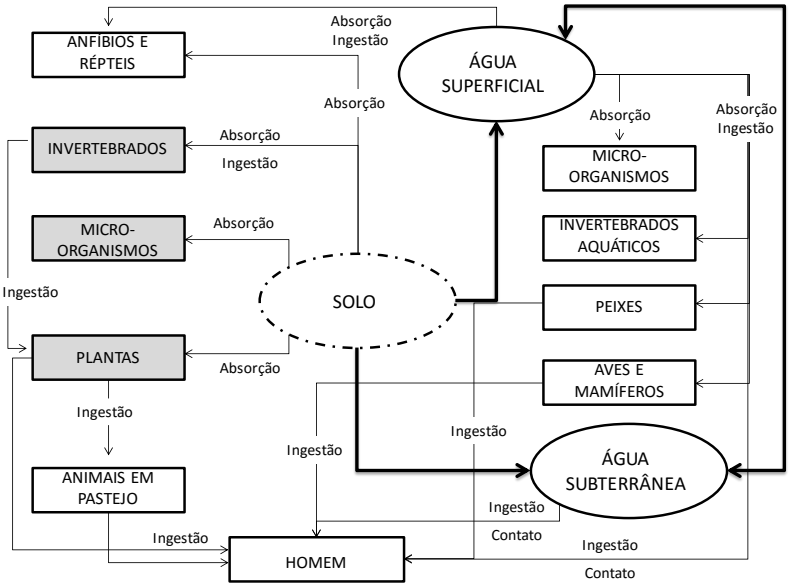

Figura 1.1– Modelo conceitual da análise de risco retrospectiva do uso de dejeto líquido de suínos. Compartimentos ambientais: Elipses; Compartimento ambiental estudado: Elipse rachurada; Receptores ecológicos: Retângulos; Vias de transporte entre compartimentos: Flechas espessas; Vias de exposição aos receptores ecológicos: Flechas finas; Receptores ecológicos avaliados no presente projeto: Retângulos cinzas.Fonte: produção do próprio autor, 2016.

O modelo conceitual apresentado na Figura 1.1 tem como base o sistema solo, no qual o dejeto líquido de suínos é aplicado, em função disso estabeleceu-se as principais vias de transporte desse material no ambiente para um sistema hipotético. As vias de transporte entre os compartimentos estão representadas pelas flechas mais espessas e são basicamente a

perda por lixiviação e escorrimento superficial do solo para corpos d'água e percolação no perfil do solo para águas subterrâneas; ainda há outra via de transporte representada no esquema que é por translocação entre água de superfície e subterrânea.

A escolha dos receptores ecológicos avaliados (retângulos cinzas) foi feita com base no objetivo de avaliar a possível perda da função de habitat e função de retenção do solo de uma área que recebe aplicação de dejeto líquido de suíno, avaliando os efeitos adversos da contaminação sobre organismos do solo.

1.4 Fauna edáfica e serviços ecossistêmicos

Os conceitos de parâmetros estruturais ou funcionais na ecologia já são bastante consolidados, no entanto é recente a inclusão destes termos em análises de risco ecológico. Uma ampla variedade de estudos tem apresentado alterações e respostas nos parâmetros estruturais da comunidade edáfica, por meio da densidade, riqueza, distribuição de organismos nos mais diferentes sistemas ecológicos e estressores ambientais. Porém a introdução do conceito de qualidade funcional nos

ambientes é mais recente (PEY et al., 2014). E esse conceito surgiu da seguinte questão, qual a importância de ter muitos organismos e diferentes espécies ou grupos em um determinado local? E a resposta para isso é relacionada a função de cada indivíduo no ecossistema.

Sabe-se que fauna do solo que tem papel chave na decomposição de material orgânico, na ciclagem de nutrientes, na manutenção da estruturação física, regulação de populações entre outros (BARETTA et al., 2011). O desenvolvimento de seu papel pode ser avaliado indiretamente pela presença de minhocas, coleópteros, isópodes entre outros ou no caso da microbiota pode ser avaliada pela atividade enzimática, respiração basal do solo e quando em conjunto com a macro e mesofauna a funcionalidade delas pode ser avaliada por taxa de decomposição por exemplo. Porém, mesmo que os conceitos de parâmetros estruturais e funcionais pareçam simples, muito ainda deve ser elucidado a respeito da função que cada indivíduo tem dentro do ecossistema, para então poderem avançar ainda mais os trabalhos envolvendo a prestação de serviços ecossistêmicos.

Frequentemente a fauna do solo tem sido dividida em diferentes grupos funcionais e esse entendimento tem ocorrido uma vez que os serviços ecossistêmicos são promovidos pelas

funções do ecossistema, que por sua vez, estãodiretamente relacionadas às funções exercidas pela fauna do solo (BRUSSAARD, 2012).

Com base nessa abordagem da funcionalidade da fauna passou-se a entender que a restauração ou a proteção de um ambiente está pautada nos serviços que esse ecossistema fornece. De acordo com a definição de *Millennium Ecosystem Assessment* (2005) serviços ecossistêmicos “são os benefícios que as pessoas obtêm dos ecossistemas”, mas de acordo com Parron; Garcia (2015) ainda não há um consenso entre pesquisadores e ambientalistas sobre a definição desse conceito, mas de uma maneira generalista os conceitos concentram-se em unir os benefícios diretos ou indiretos envolvidos no fornecimento de alimento, saúde e segurança, que os humanos podem obter dos ecossistemas naturais ou agropecuários.

Informações detalhadas sobre serviços ecossistêmicospodem ser obtidas em diversos materiais sobre definição, conceitos e descrição (LAVELLE et al., 2006; PARRON; GARCIA, 2015), importância da biodiversidade (LUCK et al., 2003; VAN DER PUTTEN et al., 2004;

PULLEMAN et al., 2012), metas de proteção, estratégias de recuperaçãoe estudos desenvolvidos com base em serviços ecossistêmicos (LANDSBERG, 2013; MITCHELL et al., 2014; SANABRIA et al., 2014; SYSWERDA; ROBERTSON, 2014).

Os serviços ecossistêmicos são categorizados em quatro distintos grupos: serviços culturais, serviços de regulação, serviços de provisionamente e serviços de suporte. Nos serviços culturais são incluídas contribuições não materiais dos ecossistemas nos quais podemos citar o lazer, recreação e as chamadas “beleza naturais” (PLEASANT et al ., 2014); já nos serviços de regulação estão elencados serviços como o controle de doenças e pragas, regulação do clima e da erosão do solo; os serviços de provisionamento de ecossistema são aqueles que podem ser diretamente consumidos pelos humanos, como comida, água, produção de madeira;e os serviços de suporte, por sua vez, são aqueles necessários para a produção de todos os outros serviços como é o caso da ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, sequestro de carbono, fotossíntese, ciclo da água entre outros (LANDSBERG, 2013).

Dentro dessa categorização a fauna do solo tem importante participação nos serviços de regulação do carbono, matéria orgânica e fertilidade do solo, ciclo da água, controle

de populações, descontaminação, biorremediação e saúde humana; e ainda os benefícios da biota estão direta e indiretamente ligados aos serviços de suporte (VAN DER PUTTEN; RITZ, 2012).

Devido a ampla função da fauna edáfica nos serviços ecossistêmicos, cada vez mais as preocupações em relação aos locais contaminados, ao uso de substâncias e práticas de manejo tem sido voltadas para a proteção da biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos. Por exemplo, a "*EU Soil Thematic Strategy*" (EC, 2006) definiu como meta proteger a produção de alimento e biomassa; capacidade de estocar, filtrar e transformar nutrientes; proteger a biodiversidade; fonte de matéria-prima.

Com base nos aspectos apresentados anteriormente, aliar uso de ferramentas das bases ecotoxicológicas com a avaliação das funções e serviços dos ecossistemas, em especial os relacionados a fauna edáfica, possibilitam uma abordagem mais segura de quais os efeitos que podem ser aceitos em condições de despejo de materiais ao solo e ao meio ambiente em geral.

1.5 Formulação do problema e objetivos

Historicamente o dejeto líquido de suínos tem sido utilizado como fertilizante orgânico de áreas agrícolas, devido principalmente a ser caracterizado como uma fonte barata de nutrientes para as plantas. Ao longo das últimas décadas tem sido crescente a preocupação com a preservação dos recursos naturais que podem ser afetados por essa prática como é o caso de solo e recursos hídricos.

Mesmo que já sejam encontrados resultados que apontam para a perda de qualidade e eutrofização de águas, para o acúmulo de nutrientes, metais e compostos químicos nos solos e ainda para a perda da diversidade biológica nas áreas fertilizadas com dejeto líquido de suínos, muitas respostas e muito conhecimento ainda precisa ser elucidado acerca da utilização desse resíduo, especialmente ao que se concerne a alterações na biologia dos solos (SEGAT, 2012).

Entender e avaliar como o dejeto líquido de suínos afeta a fauna edáfica ainda é uma grande lacuna nos trabalhos. Sabe-se que a biota do solo pode ser afetada por altas concentrações de metais pesados ou pelo resíduo de medicamentos veterinário, mas é necessário conhecer mais sobre os efeitos negativos do uso do dejeto líquido de suínos (MACCARI, 2014); se é uma resposta da composição química dos sólidos

ou uma resposta ao aporte momentâneo de muita água no sistema soloou ainda entender como o uso desse resíduo afeta a estrutura das comunidades edáficas ao longo deaplicações continuadas em uma escala temporal.

Dentro dessa perspectiva de uso de dejeto líquido de suínos o**objetivo geral** da presente tese foi avaliar os riscos ambientais da aplicação de dejeto líquido de suínos com base em testes ecotoxicológicos padronizados; avaliar em ensaios com mesocosmos os efeitos do dejeto líquido de suínos e da água adicionada ao sistema, determinando os efeitos na fauna do solo; propor uma metodologia que permita avaliar o efeito da continuidade de aplicação dos dejetos; e avaliar a resposta da fauna edáfica em áreas com e sem histórico de uso desse resíduo como fertilizante agrícola; também contribuir para o estabelecimento da capacidade de suporte e normatização de aplicação destes dejetos.

O desenvolvimento deste trabalho propôs uma inovação na abordagem experimental adotada, realizando experimentos de semi-campo em unidades denominadas Modelos de Ecossistemas Terrestres (*Terrestrial Model Ecosystems* – TMEs) permitindo uma visão mais holística dos efeitos do uso

do dejeto líquido de suínos na biota do solo; o conhecimento gerado sobre a biodiversidade e o uso de DLS no solo poderá fundamentar o adequado manejo dos recursos naturais em sistemas terrestres de modo a preservar a biodiversidade nos ecossistemas e também servirá de suporte no estabelecimento de políticas da adubação orgânica levando em conta a biodiversidade do solo. E ainda, proporcionar benefícios e novos conhecimentos para a comunidade científica e para melhoria ao meio ambiente.

1.6 Estrutura da tese

Esta tese foi dividida em sete capítulos, incluindo esta introdução geral, os demais estão apresentados a seguir:

1.6.1 Capítulo 2–Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos para oligochaetas terrestres

Hipótese

O uso de altas doses de dejeto líquido de suínos influencia negativamente a fauna edáfica.

Objetivo

(I) Avaliar a ecotoxicidade intrínseca do dejeto líquido de suínos, em Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo

Vermelho distroférrico, na reprodução de organismos do solo utilizados como indicadores de toxicidade: minhocas da espécie *Eisenia andrei* e enquitreídeos da espécie *Enchytraeus crypticus*.

Desenvolvimento

No Capítulo 2 estão apresentados os resultados obtidos em ensaios laboratoriais avaliando a reprodução de minhocas e enquitreídeos apresentado valores de CE_{50} para um Cambissolo Háplico eutroférrico e um Nitossolo Vermelho distroférrico. Os valores obtidos nesses ensaios foram utilizados para a condução dos experimentos descritos nos Capítulos 5, 6 e 7.

1.6.2 Capítulo 3 - Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos com microartrópodes terrestres

Hipótese

O uso de dejeto líquido de suínos influencia negativamente a fauna edáfica.

Objetivo

(I) Avaliar a ecotoxicidade intrínseca do dejeto líquido de suínos, em Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo

Vermelho distroférrico, na reprodução de organismos utilizados como indicadores de toxicidade: colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e ácaros da espécie *Hypoaspis aculeifer*.

Desenvolvimento

No Capítulo 3 estão apresentados os resultados obtidos em ensaios laboratoriais avaliando a reprodução de minhocas, colêmbolos, enquitreídeos e ácaros apresentado valores de CE_{50} para um Cambissolo Háplico eutroférrico e um Nitossolo Vermelho distroférrico. Os valores obtidos nesses ensaios foram utilizados para a condução dos experimentos descritos nos Capítulos 5, 6 e 7.

1.6.3 Capítulo 4 - Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos na estrutura da comunidade de nematoides

Hipótese

Altas doses de dejeto líquido de suínos alteram a estrutura trófica de nematoides.

Objetivo

(I) Avaliar a ecotoxicidade intrínseca do dejeto líquido de suínos, em Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo

Vermelho distroférrico, na estrutura dos grupos tróficos de comunidades nativas de nematoides.

(II) Avaliar a ecotoxicidade intrínseca do dejeto líquido de suínos, em Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico, na estrutura das famílias de comunidades nativas de nematoides.

Desenvolvimento

Esse Capítulo foi desenvolvido durante o Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE) na Universidade de Coimbra (UC), em uma parceria entre a UC e a Universidade de Estado de Santa Catarina. A utilização de comunidades nativas de nematoides é uma abordagem mais recente e complexa quando comparada com ensaios ecotoxicológicos padronizados e visa integrar não só os efeitos em uma determinada espécie, mas correlacionar os resultados com os efeitos na funcionalidade do sistema solo.

1.6.4Capítulo 5–Efeito de doses de dejeto líquido suíno e da água presente no dejeto sobre a fauna edáfica de solos subtropicais em condições de semi-campo

Hipótese

Os efeitos ecotoxicológicos da aplicação de dejeto de suínos são respostas à presença de contaminantes no dejeto ou à momentânea aplicação de elevada quantidade de água (dejeto líquido de suíno).

Objetivo

(I) Determinar o efeito da água presente no dejeto líquido de suínos na densidade e diversidade de organismos nativos da fauna do solo.

Desenvolvimento

Esse capítulo foi desenvolvido em condições laboratoriais utilizando estruturas de solo preservadas com a comunidade edáfica nativa (TMEs). Para a realização desse experimento utilizou-se um Cambissolo Húmico alumínico e um Nitossolo Vermelho distroférrico e aplicação de três doses de dejeto líquido de suínos (20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}) estabelecidas nos experimentos do capítulo 2. O volume de água acrescentado, correspondente as três doses de dejeto líquido de

suínos foram aplicadas para então avaliar o efeito da adição de água na comunidade edáfica das áreas.

1.6.5Capítulo 6–O efeito da adição continuada do dejeto líquido de suínos na fauna de solos subtropicais

Hipótese

Utilizar TMEs como ambiente para o desenvolvimento de testes ecotoxicológicos permite avaliar o efeito da continuidade de aplicação de dejeto líquido de suínos nos solos;

A aplicação continuada/repetida de dejetos líquido de suínos pode causar alteração na comunidade edáfica.

Objetivo

(I) Estudar o efeito da adição continuada de dejeto líquido de suínos na densidade e diversidade de organismos da fauna do solo em mesocosmos. Estudo em condições de semi-campo utilizando "*Terrestrial Model Ecosystems*" – TMEs.

Desenvolvimento

Para avaliar o efeito da reaplicação de DLS as doses CE_{50} obtidas nos capítulos 2e 3 tiveram sua aplicação repetidas três vezes em uma escala temporal de 25 dias. O experimento foi desenvolvido em condições laboratoriais utilizando estruturas de solo preservadas com a comunidade edáfica nativa (TMEs). Para a realização desse experimento utilizou-se um Cambissolo Húmico alumínico e um Nitossolo Vermelho distroférrico.

1.6.6Capítulo 7 - Avaliação do efeito da aplicação de dejeto líquido de suínos na fauna edáfica em solos com e sem histórico de uso de dejeto líquido de suínos

Hipótese

O histórico de uso de dejeto líquido de suínos pode causar uma diminuição da diversidade e densidade da fauna do solo com a presença de espécies que sejam resistentes à sua aplicação.

Objetivo

(I) Avaliar os efeitos da adição de dejeto líquido de suínos na densidade e diversidade de organismos edáficos oriundos de solos com e sem histórico de aplicação de dejeto líquido de suínos.

Desenvolvimento

Esse experimento foi desenvolvido em situação de semi-campo utilizando TMEs em condições laboratoriais. Foi realizada a comparação entre uma área sem uso de dejeto líquido de suínos e uma área com 20 anos de uso desse resíduo como fertilizante agrícola, as duas áreas estavam sobre Nitossolo Vermelho distroférricoe possuíam características similares no município de Concórdia, SC.

Referências

ANDRÉA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoologica Mexicana**, sl., n. 2, p. 95-107, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2015**.São Paulo: UBABEF, 2015. 248p.

BARETTA, D., SANTOS, J. C. P., SEGAT, J. C., GEREMIA, E. V., DE OLIVEIRA FILHO, L. C. I., ALVES, M. V. Fauna edáfica e qualidade do solo, in: KLAUBERG FILHO, O., MAFRA, A. L., GATIBONI, L. C. (Eds), **Tópicos especiais em ciência do solo**, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 2011, pp. 141-192.

BRUSSAARD, L. Ecosystem Service Provided by the Soil Biota. In: WALL, D. H. (Ed). **Soil Ecology and Ecosystem Services**. Oxford: Oxford University Press, 2012. 406p.

EC. **Directive 2004/35/EC:** Proposal for a directive of the European Parliament and of the council establishing a framework of the protection of soil and amending. European Commission, Belgium, 2006.

FERNICOLA, A. G. G; BOHRER-MOREL, M. B. C.; BAINY, A. C. D. Ecotoxicologia. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. (Eds.) **As bases toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: Rima. 340 p. 2003.

GAYA, J.P.**Indicadores biológicos no solo como uma alternativa para o usoracional de dejetos de suínos como adubo orgânico**. 2004. 140 f. DissertaçãoMestradoemagroecossistemas. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal deSanta Catarina, Florianópolis. 2004. 140 f.

HACON, S. S. Avaliação e gestão de risco ecotoxicológico a saúde humana. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: Rima. 340 p. 2003.

KNACKER, T. et al. Ringtesting and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) – An instrument for testing potentially harmful substances: conceptual approach and study design. **Ecotoxicology**, Paris, v. 13, p. 9-27, 2004.

LANDSBERG, F.; TREWEEK, J.; STICKLER, M. M.; HENNINGER, N.; VENN, O. **Weaving ecosystem service impact assessment**. Washington: World Resources Institute, 2013. 38p.

LAVELLE, P.; DECAËNS, T.; AUBERT, M.; BAROT, S.; BLOUIN, M.; BUREAUS, F.; MARGERIE, P.; MORA, P.; ROSSI, J. P. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**, Mountrouge, v. 42, p. S3-S15, 2006.

LUCK, G. W.; DAILY, G. C.; EHRLICH, P. R. Population diversity and ecosystem services. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 18, p. 331-336, 2003.

MIELE, M. **Cadeia produtiva da carne suína no Brasil**. Concórdia. EMBRAPA Suínos e Aves. 2007. p18.

MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. **Ecosystems and human well-being: a framework for assessment**. Washington, DC: Island Press, 2003. 245 p. Disponível em: <http://pdf.wri.org/ecosystems_human_wellbeing.pdf>. Acesso em: 9 out. 2015.

MITCHELL, M. G. E.; BENNETT, E. M.; GONZALEZ, A. Agricultural landscapes structure affects arthropod diversity

and arthropod-derived ecosystem services. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, sl, v. 192, p. 144-151, 2014.

MURCHIE, A. K.; BLACKSHAW, R. P.; GORDON, A. W.; CHRISTIE, P.Responses of earthworm species to long-term applications of slurry. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 96, p. 60-67, 2015.

OLIVEIRA, P. A. V. **Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos.** EMBRAPA-CNPSA, 1993. 188p.

PALHARES, J. C. **Estimando o consumo de água de suínos, aves e bovinos em uma propriedade**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2005. 4p.

PARRON, L. M.; GARCIA, J. R. Serviços ambientais: conceitos, classificação, indicadores e aspectos correlatos. In: PARRON, L. M.; GARCIA, J. R.; OLIVEIRA, E. B.; BROWN, G. G.; PRADO, R. B. (Eds). **Serviços ambientais em sistemas agrícolas e florestais do bioma mata atlântica**. Brasília: Embrapa, 2015. 370p.

PAY, P.; NAHMANI, J.; AUCLERC, A.; CAPOWIEZ, Y.; CLUZEAU, D.; CORTET, J.; DECAËNS, T.; DEHARVENG, L.; DUBS, F.; JOIMEL, S.; BRIARD, C.; GRUMIAUX, F.; LAPORTE, M. A.; PASQUET, A.; PELOSI, C.; PERNIN, C.; PONGE, J. P.; SALMON, S.; SANTORUFO, L.; HEDDE, M. Current use of and future needs for soil invertebrate functional traits in community ecology. **Basic and Applied Soil**, sl., v. 15, p. 194-206, 2014.

PLEASANT, M. M.; GRAY, S. A.; LEPCZYK, C.; FERNANDES, A.; HUNTER, N.; FORD, D. Managing cultural ecosystem services. **Ecosystem Services**, sl, v. 8, p. 141-147, 2014.

PULLEMAN, M.; CREAMER, R.; HAMER, U.; HELDER, J.; PELOSI, C.; PÉRÈS, G.; RUTGERS, M. Soil biodiversity,

biological indicators and soil ecosystem services: an overview of European approaches. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, sl, v. 4, p. 529-538, 2012.

RACHED, R. Z. **Caracterização de pequenas criações de suínos no estado de São Paulo**. 2009. 149p. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - Instituto Biológico, São Paulo, 2009.

SANABRIA, C.; LAVELLE, P.; FONTE, S. J. Ants as indicators of soil-based ecosystem services in agroecosystems of the Colombian Llanos. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 84, p. 24-30, 2014.

SCHERER, E. E.; BALDISSERA, I. T.; NESI, C. N. Propriedades químicas de um Latossolo Vermelho sob plantio direto e adubação com esterco de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 123-131, 2007.

SCHERER, E. E.; NESI, C. N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.1375-1383, 2010.

SEGANFREDO, M. A. **Dejetos Animais: A dupla face benefícios e prejuízos**. Disponível em: < http:/www.cnpsa.embrapa.br >. Acesso em: 10 out. 2015.

SEGAT, J. C. Avaliação Ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina. 2012. 130 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

SYSWERDA, S. P.; ROBERTSON, G. P. Ecosystem services along a management gradient in Michigan (USA) cropping systems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, sl, v. 189, p. 28-35, 2014.

VAN DER PUTTEN, W. H.; ANDERSON, J. M.; BARDGETT, R. D.; BEHAN-PELLETIER, V.; BIGNELL, D. E.; BROWN, G. G.; BROWN, V. K.; BRUSSAARD, L.; HUNT, W. H.; INESON, P.; JONES, T. H.; LAVELL, P.; PAUL, E. A.; JOHN, P. M. S.; WARDLE, D. A.; WOJTOWICZ, T.; WALL, D. H. The sustainable delivery of goods and services provided by soil biota. In: WALL, D. H. (Ed.). **Sustaining biodiversity and ecosystem services in soil and sediments.** Washington: Covelo, 2004. 275p.

VAN DER PUTTEN, W. H.; RITZ, K. From genes to Ecosystem Service. In: WALL, D. H. (Ed). **Soil Ecology and Ecosystem Services**. Oxford: Oxford University Press, 2012. 406p.

VAN GESTEL, C. A. M. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. **ZooKeys**, sl, v. 176, p. 275–296, 2012.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações**. São Carlos: Editora Rima, 2006. p.478.

SECÇÃO 1. FASE DE ENSAIOS ECOTOXICOLOGICOS PADRONIZADOS

CAPÍTULO 2

Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos para oligochaetas terrestres

Resumo

Devido ao potencial do dejeto líquido de suínos (DLS) como fonte de nutrientes, sua utilização como fertilizante tem sido a principal alternativa de descarte, mas sua aplicação inadequada pode causar a contaminação dos solos e efeitos na biota destes ambientes. Este estudo objetivou avaliar o efeito da aplicação do resíduo sobre dois diferentes organismos edáficos, minhocas (*Eisenia andrei*) e enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*) para determinar as concentrações efetivas (CE_{50}) que causam 50 % de redução na reprodução, através de testes ecotoxicológicos padronizados. Foram utilizadas amostras da camada superficial (0 – 0,20 m de profundidade) de dois solos representativos da região Oeste catarinense, classificados como Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico e o DLS foi coletado diretamente da unidade de produção de animais da fase de terminação. Os tratamentos consistiram em diferentes doses de dejeto combinadas com os dois diferentes solos.O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Os dados foram submetidos a ANOVA *One-way* com comparação de médias pelo teste de Dunnett. Análises de regressão não-linear foram

usadas para estabelecer os valores de CE_{50}. Os resultados mostraram toxicidade do resíduo causando redução no número de indivíduos jovens com o aumento da dose aplicada para ambos os solos. The Entisol showed the lowest values of EC50, 112 m^3 ha^{-1} for earthworms and 17.7 m^3 ha^{-1} for enchytraeids while in Nitosol distroferric the EC_{50} values were> 150 m^3 ha^{-1} for earthworms and 45 m^3 h^{-1}, showing that the soil characteristics have influence on toxicity of contaminants. Os valores de CE_{50} encontrados foram diferentes para cada organismo o que mostra a importância de utilizar diferentes espécies como indicadoras de toxicidade.

Palavras-chave: Ecotoxicologia terrestre; *Eisenia andrei;Enchytraeus crypticus*

Abstract

Because of the potential of liquid pig slurry (PS) as a source of nutrients, use as fertilizer has been the main alternative disposal, but its improper application can cause soil contamination and effects on biota of these environments. This study aimed to evaluate the residue of application of effect on two different soil organisms, earthworms (*Eisenia andrei*) and enchytraeids (*Enchytraeus crypticus*) to determine the effective concentrations (EC_{50}) that cause 50% reduction in reproduction through standardized ecotoxicological tests. samples of the surface layer were used (0 - 0.20 m depth) two representative soils of the Western Santa Catarina region, classified as Entisol and Nitosol and PS was collected directly from the animal production unit of the finishing phase. The treatments consisted of different doses of manure combined with two different soils. The experiment was conducted in a completely randomized design with five replications. Data were analyzed by ANOVA One-way with mean comparison by Dunnett test. Nonlinear regression analysis was used to establish the EC_{50} values. The results showed toxicity residue causing a reduction in the number of juveniles with increasing dose applied to both soils. The Entisol showed the lower EC_{50} values to the organisms showing that soil characteristics have a influence on the toxicity of contaminants. The EC_{50} values were different for each organism which shows the importance of using different species as indicators of toxicity.

Keywords: Terrestrial Ecotoxicology; *Eisenia andrei*; *Enchytraeus crypticus*.

2.1 INTRODUÇÃO

A ecotoxicologia terrestre é uma ciência que objetiva avaliar e quantificar através de ensaios ecotoxicológicos quais os efeitos que substâncias ou agentes estressores têm sobre a diversidade e funcionalidade de organismos e populações da fauna edáfica. Os ensaios ecotoxicológicos, por sua vez, fornecem subsídios para avaliar a qualidade de corpos receptores e proteger mais adequadamente a qualidade ambiental, por meio da associação das concentrações de contaminantes e seu risco ecotoxicológico (VAN GESTEL, 2012).

As metodologias existentes para o desenvolvimento de ensaios ecotoxicológicos estão baseadas na utilização de espécies de organismos edáficos sensíveis a uma ampla gama de estressores e realizados sob condições ambientais controladas. Os objetivos desta ferramenta são obter resultados de baixa complexidade e baixos custos passíveis de serem extrapolados para sistemas mais complexos como é o caso de ecossistemas terrestres.

A importância da realização dos estudos em organismos se dá pelo conhecimento da contribuição da fauna do solo para os serviços do ecossistema. Por exemplo, a importância das

populações de minhocas na decomposição da matéria orgânica do solo e formação de agregados e sua influência na disponibilidade de recursos para outras espécies, sendo considerados engenheiros do ecossistema (LAVELLE; SPAIN, 2001).

As minhocas da espécie *E. andrei* são consideradas bons indicadores de qualidade do ambiente. Essa espécie é comprovadamente sensível à presença de determinadas substâncias poluidoras do solo e utilizada como padrão em testes ecotoxicológicos para solos de regiões de clima temperado (OECD 207, 1984; ISO 17512, 2008) e clima tropical (ABNT/NBR 15537, 2007). Diversos trabalhos utilizando *E. andrei* foram desenvolvidos (VAN GESTEL et al. 2001; NATAL DA LUZ et al. 2011; ONUOHA; WORGU, 2011; DOMINGUEZ-CRESPO et al. 2012; CÉSAR et al. 2015), porém poucos deles (MURCHIE et al., 2015; SEGAT et al., 2015) estudaram o impacto de dejetos provenientes da suinocultura na comunidade de minhocas no solo.

Enquitreídeos foram propostos para ensaios ecotoxicológicos por terem uma ampla distribuição global e por estarem presentes em solos onde não são encontradas

significativas comunidades de minhocas (ISO 16387, 2004), mantendo assim um integrante do grupo dos anelídeos nas avaliações de toxicidade. Dentro desse grupo a espécie *E. crypticus*é usada como representante deste grupo por sua relevância ecológica e grande facilidade de manutenção em laboratório (NOVAIS et al., 2010; CASTRO-FERREIRA et al., 2012; CHELINHO et al., 2012; VAN GESTEL, 2012).

O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos do uso de dejeto líquido de suínos nas taxas de reprodução de *E. andrei eE. crypticus*em Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico, por meio de ensaios ecotoxicológicos padronizados.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Amostragem do dejeto líquido de suínos

O dejeto líquido de suínos (DLS) utilizado para a realização dos testes foi coletado diretamente da baia de uma unidade produtora de animais, na EMBRAPA Suínos e Aves, e passou por um processo de estabilização química por 120 dias como recomendado pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFRS/SC, 2004).

A fase de criação escolhida foi de terminação que se caracteriza pelo elevado volume de dejeto produzido. O material coletado foi armazenado em freezer a temperatura de -4 ^{o}C para que não sofresse alterações em suas características físico-químicas (Tabela 2.1).

Tabela 2.1– Parâmetros físico-químicos do dejeto de suíno da fase de terminação com umidade natural.

Determinações	**Valores**
Umidade (%)	82,04
Densidade (g cm^3)	1,08
pH ($CaCl_2$)	6,50
Carbono total (%)	7,81
Nitrogênio total (%)	6,79
Fósforo P_2O_5 (kg m^3)	0,46
Potássio K_2O (kg m^3)	9,24
Cálcio (kg m^3)	3,60
Magnésio (kg m^3)	2,73
Cobre (g m^3)	27,75
Zinco (g m^3)	227,90
Manganês (g m^3)	77,37
Ferro (g m^3)	309,20

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

A caracterização química do DLS foi feita segundo proposto por van Raij (2001). O percentual de carbono e

nitrogênio total foram analisados por combustão total da amostra em analisador elementar LECO-CN 2000.

2.2.2 Amostragem dos solos

Foram utilizados dois solos com características diferentes de retenção de água, e % de matéria orgânica do Cambissolo Háplico eutroférrico (CHe)e Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd), ambos provenientes de sistema de Integração-Lavoura-Pecuária e não utilizavam adubação com dejeto líquido de suínos nos últimos 12 anos. O CHe foi coletado no município de Chapecó - SC em uma propriedade de bovinos de leite localizada no bairro Lider (27.068702, -52.623913); o NVd foi coletado no município de Concórdia, SC na unidade da EMBRAPA Suínos e Aves (-27.311710, -51.990814). Os solos foram coletados na camada de 0 - 20 cm de profundidade, secos em estufa a 65 ^{o}C e tamisados em peneiras de 2 mm, para separação de resíduos vegetais e agregados de solo. Os parâmetros físico-químicos dos solos estão apresentados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2– Parâmetros físico-químicos dos solos utilizados. Cambissolo Háplico eutroférrico (CHe), Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd) e Solo Artificial Tropical (SAT).

Determinações	**CHe**	**NVd**	**SAT**
Argila (%)	31,0	33,0	20,0
Areia (%)	26,0	35,0	70,0
CTC[a]	11,5	19,1	77,0
SB[b]	24,9	387,5	65,0
pH(H_2O)	5,6	5,5	6,0
Matéria Orgânica (%)	1,3	4,7	10,0
Fósforo (mg dm^{-3})	1,2	6,8	28,0
Potássio (mg dm^{-3})	36,0	352,7	0,07
Cálcio (mmolc dm^{-3})	17,0	82,0	25,0
Magnésio (mmolc dm^{-3})	10,0	49,0	9,0
H+Al (mmolc dm^{-3})	87,0	50,0	12,0
Cobre (mg dm^{-3})	127	15,7	0,20
Zinco (mg dm^{-3})	78,5	20,0	6,0
Ferro (mg dm^{-3})	78,2	201,0	1,9

[a] Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0.
[b] Soma de Bases
[x] Valor não mensurado
Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Como referência, foi utilizada uma adaptação do solo artificial recomendado pela ISO 11268-2 (1998), o Solo Artificial Tropical (SAT). Este consiste em uma mistura de

70% de areia industrial (fina), 20% de argila caulinítica, e 10% de pó de casca de coco (seca e peneirada) (GARCIA, 2004).

2.2.3 Testes de reprodução

Inicialmente as doses de DLS foram estabelecidas com base na Instrução Normativa número 11 (FATMA, 2000) para uso de dejeto como fertilizante agrícola, que recomenda a aplicação máxima de 50 m^3 de dejeto de suíno ha^{-1} ano^{-1}. No entanto, para cada um dos organismos foram utilizadas diferentes doses, minhocas 0, 50, 100, 150, 200 e 250 m^3 ha^{-1} e enquitreídeos 0, 10, 15, 20, 35, 50 e 100 m^3 ha^{-1}, todos os ensaios foram conduzidos com cinco repetições.

Teste com *Eisenia andrei*

Os organismos utilizados nos testes foram obtidos da criação já estabelecida no Laboratório de Solos e Sustentabilidade UDESC-Oeste. A criação é mantida de acordo com diretrizes estabelecidas pela ISO 11268-2 (1998).

Os organismos são mantidos em caixas plásticas com volume de 9 L, nas quais adiciona-se uma mistura de duas partes de esterco seco (equino) peneirado (2 mm), uma parte de pó de fibra de coco (Amafibra® - Golden Mix, tipo 80) e, 10% do peso dos dois primeiros de areia fina (granulometria

90/100). Essa mistura tem, quando necessário, o pH corrigido para faixa entre 6 e 7 com adição de $CaCO^3$.

As minhocas usadas nos testes devem obedecer alguns critérios, como estarem adultas (cliteladas), estrutura similar a um anel de coloração mais clara a qual possibilita a geração de casulos, ter peso corporal entre 250 mg e 600 mg e idade entre dois meses e um ano de acordo com ISO 11268-2 (1998).

O ensaio de efeito na reprodução de *E. andrei* seguiu as recomendações da ISO 11268-2 (1998). Para tanto, em um recipiente plástico redondo, como volume de 1 L, foram acondicionados 500 g de solo (CHe e NVd) com umidade corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção (CRA) previamente misturado com respectivas doses de DLS, formando uma camada de 5 a 7 cm de solo no recipiente. Em cada uma das unidades experimentais inseriu-se 10 indivíduos clitelados, com peso corporal entre 250 e 600 mg.

Os organismos adultos permaneceram por 28 dias nos recipientes, quando então foram retirados. O solo foi novamente acondicionado nos recipientes plásticos permanecendo por mais 28 dias, ou seja, 56 dias após o início do teste.

Para manutenção do teste, foi fornecido semanalmente esterco equino (seco, peneirado e desfaunado) na quantidade de 5 g por recipiente e corrigida a umidade por diferença de peso dos recipientes entre as semanas. O ensaio foi conduzido em ambiente controlado com temperatura de 20 ^{o}C $\pm$ 2, assim como fotoperíodo de 12h (luz: escuro).

Após os 56 dias foram contabilizados osjuvenis nascidos em cada unidade experimental. Para a realização da contagem os recipientes foram colocados em banho-maria a uma temperatura de 60 ^{o}C $\pm$ 5 por uma hora. Com o calor os juvenis de *E. andrei* sobem a superfície do solo onde então eram capturados e contados.

Teste com *Enchytraeus crypticus*

Os organismos utilizados nos testes foram obtidos da criação já estabelecida no Laboratório de Solos e Sustentabilidade UDESC-Oeste, mantidos em recientes plásticos com volume de 200mL contento Solo Artificial Tropical. A criação é mantida de acordo com diretrizes estabelecidas pela ISO 11268-2 (1998). Os organismos utilizados estavas adultos, ou seja, com clitelo aparente.

O procedimento adotado em testes de reprodução com *E. crypticus* seguiu recomendações da ISO 16387 (2004),

adaptando o tempo de ensaio para 28 dias. Recipientes de plástico com capacidade de 10 mL receberam 30 g de solo com umidade corrigida para 60 % da CRA e misturados com as doses de DLS. Em cada unidade experimental foram colocados 10 indivíduos com clitelo aparente e alimentados com aveia fina no início dos ensaios e aos 14 dias.

O experimento foi mantido em sala com temperatura de 20 ºC ± 2 e fotoperíodo de 12 h (luz: escuro) por 28 dias. Semanalmente os recipientes tiveram a umidade corrigida por diferença de peso entre as semanas e foram abertos duas vezes por semana para aeração.

Para realizar a avaliação dos resultados foram adicionados 30 mL de álcool absoluto em cada recipiente para matar os enquitreídeos e em seguida adicionou-se cinco gotas de uma solução de Rosa de Bengala (1 % em etanol), para colorir os organismos e facilitar a contagem. Esta solução e o conteúdo dos recipientes foram agitados e homogeneizados. Após 48 h as réplicas foram peneiradas a 250 µm e realizada a contagem dos organismos com o auxílio de estereomicroscópio binocular (40 vezes).

Validação dos ensaios

Os ensaios de reprodução de *E. andrei* são considerados validos quando a taxa de letalidade das minhocas adultas não exceder 10% do total de indivíduos, o número de juvenis deve ser > 30 e o coeficiente de variação (CV) dos controles devem ser < 30%. A validação dos ensaios com *E. crypticus* se dá quando o número de juvenis por réplica do controle é maior que 25 e o CV é menor que 50 %.

Análise estatística

Os dados de reprodução foram submetidos à análise de variância (ANOVA*One-way*) e realizou-se o teste de Dunnet (P<0,05) para verificar as diferenças entre os tratamentos e o controle através do software SAS 9.2. A partir de análises de regressão não-linear desenvolvidas com o programa STATISTICA® 7.0 obteve-se os valores de CE_{50}para os testes de reprodução.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O experimento de reprodução apresentou validação nos solos naturais e no Solo Artificial Tropical para ambos os organimos avaliados.

A reprodução de *E. andrei* diminuiu com o aumento da dose de dejeto para os dois solos avaliados. Nos tratamentos com Cambisso (CHe)a redução no número médio de juvenis ocorreu a partir da dose de 100 m^3 ha^{-1}de dejeto suíno (Figura 2.1A). No Nitossolo (NVd) a redução no número de juvenis ocorreu somente apartir da dose de 200 m^3 ha^{-1}(Figura 2.1B).

Os valores de CE_{50}para *E. andrei*, calculados através de modelos de regressão não lineares, foram de 112,0 m^3 ha^{-1} (IC. 76,4 – 147,6) em CHe e emNVd não foi possível calcular o CE_{50} (devido à distribuição dos dados), podendo-se apenas afirmar que é a CE_{50} ocorre em doses superiores a 150 m^3 ha^{-1} de dejeto suíno

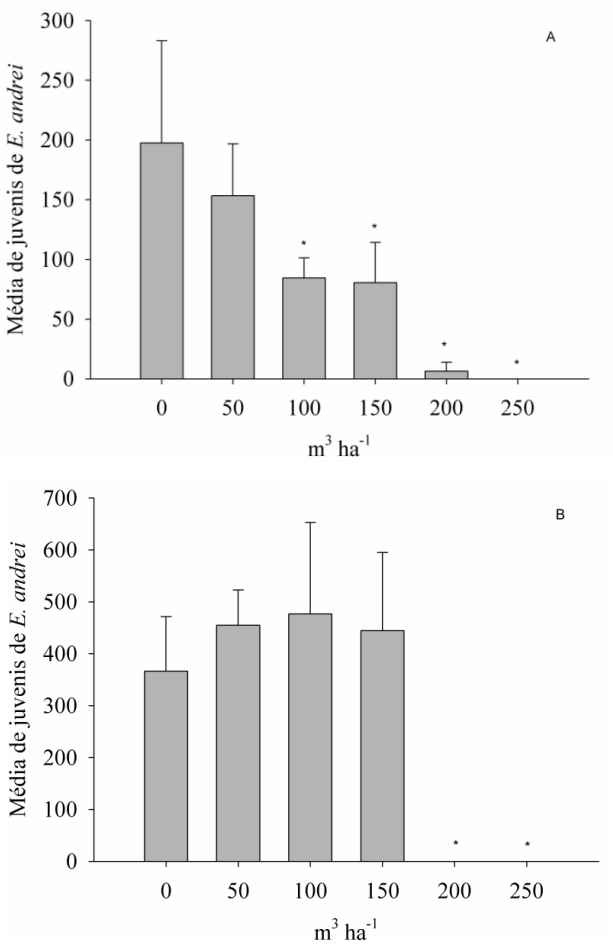

Figura 2.1– Número médio de de juvenis de *Eisenia andrei* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa ($p<0,05$) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão (n = 5).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Poucos estudos foram conduzidos para avaliar a utilização de dejeto líquido de suínos sobre organismos edáficos não-alvo e os resultados encontrados são variáveis. Segat et al. (2015) não encontraram efeitos na reprodução *E. andrei* em Latossolo e Argissolo recebendo até 100 m^3 ha^{-1} de DLS e atribuiu esse resultado as melhorias nas condições do ambiente de teste promovidas pelo aporte de matéria orgânica. Por outro lado, Maccari (2014)observou o efeito na reprodução de *E. andrei* de com doses crescentes de dejeto de suínosoriundos de quatro diferentes dietas e obteve valores de EC_{50} variando entre 22 e 25 m^3 ha^{-1} de DLS em um latossolo dependendo da dieta avaliada, valores bastante mais baixos aos encontrados para CHe no presente trabalho (112 m^3 ha^{-1}).

O efeito do dejeto de suínos também foi avaliado por Coulibaly; Bi (2010), avaliando o efeito de diferentes resíduos da atividade pecuária, entre eles dejeto de suínos, encontraram menor número de casulos produzidos por minhocas *Eudrilus eugeniae* quando expostas a dejeto de suínos, chegando esse número ser 40 % menor quando comparados com cama de aves. Gunadi et al. (2003) encontraram menor período reprodutivo, em semanas, e maior tempo para alcançar a

maturidade sexual de *E. fetida* com o uso de dejeto de suíno comparado com dejeto bovino.

As diferenças observadas entre os resultados podem ser devido ao dejeto que é utilizado, pois sua composição é variável de acordo com a alimentação dos animais, fase, sistema de criação dos animais e forma de tratamento do material (GONÇALVES JUNIOR et al., 2008).

Um dos fatores que pode estar associado a redução na reprodução das minhocas é a presença de metais nos dejetos. Dominguez-Crespo et al. (2012) demostraram que doses de 82 mg kg^{-1} de Zn e 323 mg kg^{-1} de Cu causaram redução de até quatro vezes no número de casúlos de *E. fetida*, assim como aumento no tempo para maturação sexual dos indivíduos. Pardo et al. (2014) também encontraram inibição na taxa de reprodução de *E. fetida* expostas a solos de mina contaminados com diferentes concentrações Zn, Cu e Mn. César et al. (2008), avaliando a transposição de metais (que indica efeitos subletais) de solos contaminados de área de mineração para *E. andrei* verificaram que o Zn seguido do Cu foram os metais com maior capacidade de transposição para os organismos. No presente trabalho a concentração estimada, na menor dose com efeito significativo, de Cu e Zn para NVd foi de 1,3 e 11,4 mg kg^{-1} de solo, respectivamente; já para CHe foi de 0,65 e 5,7 mg

kg^{-1} de Cu e Zn, respectivamente, valores significativamente menores que os relatados por Dominguez-Crespo et al. (2012), porém Onuoha; Worgu (2011) afirmam que a combinação de metais pode ter efeito aditivo na toxicidade quando comparado com os metais puros.

No caso de*Enchytraeus crypticus*a aplicação de dejetos de suínos também resultou em efeitos negativos sobre a reprodução nos dois solos testados. A Figura 2.2A mostra que a reprodução emCHe apresentou reduções no número médio de juvenis a partir da dose de de 10 m^3 ha^{-1}. No NVd (Figura 2.2B) os efeitos do dejeto sobre a reprodução foram observados somente a partir da dose de 35 m^3 ha^{-1}. Os valores de CE_{50} calculados foram 17,7 m^3 ha^{-1} (IC. 10,8 – 24,5) CHe e 45,0 m^3 ha^{-1}de dejeto (IC. 30,1 – 59,8) para NVd.

A dose com significativa toxicidade para enquitreídeos em CHe apresenta concentração estimada de 0,065 mg kg^{-1}de Cu e de 0,57 mg kg^{-1} de Zn. Em NVd a concentração foi de 0,24 mg kg^{-1} de Cu e de 1,99 mg kg^{-1} de Zn, menores que os valores de EC_{50} encontrados por Lock; Janssen (2002) ao avaliarem a reprodução de *E. albidus* expostos a contaminação de Cu e Zn. Estes autores encontraram valores de CE_{50} de 305

mg kg^{-1} de Cu e de 267 mg kg^{-1} de Zn. Posthuma et al. (1997), entretanto, observaramque a mistura de Zn e Cu pode apresentar efeito aditivo sobre a reprodução de *E. crypticus.*

A toxicidade encontrada para ambos os organismos pode ser resposta ao aporte de N no solo via DLS, pois o N é transformado em NH_4 que por sua vez é tóxico para organismos do solo. Kaplan et al. (1980) estudando o efeito de acetato de amônia em *E. fetida* encontrou mortalidade destes organismos. Por sua vez, Gudani et al. (2003) encontraram mortalidade de 20 a 100 % de *E. fetida*quando exposta a altas taxas de NH_4 provenientes do dejeto de suíno, bem como menor número de casulos produzidos por indivíduo.

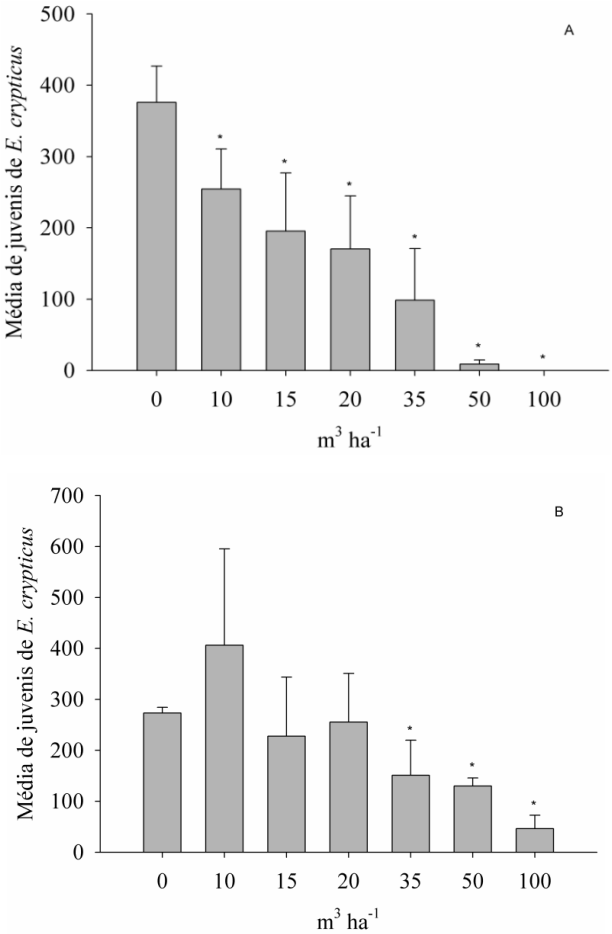

Figura 2.2– Número médio de juvenis de *Enchytraeus crypticus* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa ($p<0,05$) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão (n = 5).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Com base nos resultados apresentados também foi possível identificar diferentes efeitos para a aplicação de DLS entre os solos, onde os efeitos foram mais pronunciados no CHe que no NVd para ambos os organismos avaliados. Essas diferenças podem ser efeito da capacidade do organismo em se desenvolver sobre determinadas características do solo, como relatado por Amorim et al. (2005) que mostram que a exposição de compostos químicos em diferentes solos causa diferentes níveis de toxicidade em enquitreídeos.Esse efeito pode ser encontrado mesmo que *E. crypticus* seja capaz de se desenvolver em uma ampla diversidade de solos, que tenham argila variando entre 1 e 29 %, e conteúdo de matéria orgânica entre 1,2 e 42 % (KUPERMAN et a., 2006; VAN GESTEL et al., 2011). Lock; Janssen (2001), avaliando seis diferentes fontes de matéria orgânica e três diferentes tipos de argila para a composição de solo artificial OECD, encontraram valores de CL_{50} variando de 83 a 1140 mg kg^{-1} de Zn para *E. albidus.*

Existe uma relação direta entre os diferentes conteúdos de argila e a diferente capacidade de adsorção de determinados cátions metálicos pelos solos, tornando-os mais ou menos disponíveis, afetando, desta maneira, a reprodução de minhocas e enquitreídeos. Tais efeitos foramdemonstrados em diversos trabalhos, a exemplo de Spurgeon et al. (1994) e Maboeta et al.

(2008) com Cu; Reinecke et al. (2001) com Zn. Gräber et al. (2005) afirmam que a mobilidade e disponibilidade de Cu e Zn são influenciadas pelo teor de argila. Essa mesma conclusão foi apresentada por Scherer et al. (2010) no caso específico da adição de dejeto de suínos no solo. Van Gestel et al. (2011) em estudo com 10 diferentes solos mostraram que solos com menor teor de matéria orgânica e argila apresentaram maior toxicidade de molibdênio para *E. crypticus* e *E. andrei*.

Outra importante característica dos solos que tem influência sobre a disponibilidade dos metais é o conteúdo de matéria orgânica do solo (MOS); Mattias et al. (2010) avaliaram a disponibilidade e acúmulo de Cu, Zn e Mn em Latossolo, Luvissolo e Cambissolo de Santa Catarina com sucessivas aplicações de dejeto de suínos e encontraram maior risco de contaminação ambiental em um Cambissolo, e relacionaram ao seu menor conteúdo inicial de matéria orgânica. O mesmo fato pode ser constatado com os dados deste trabalho, onde o CHe que tem menor conteúdo de MOS (Tabela 2.2) mostrou efeito tóxicos com menores doses de DLS, quando comparado ao NVd.

Além do conteúdo de MOS e teor de argila nos solos a CTC tem grande importância em relação a disponibilidade de metais em solos (LANNO et al., 2004), podendo esse parâmetro ser melhor que MOS e argila, pois a CTC indica a quantidade de sítios disponíveis para adsorção dos metais e nesse parâmetro inclui-se a MOS, minerais de argila e óxido-hidróxidos dos solos (LOCK; JANSSEN, 2001). Em estudo sobre o efeito de DLS em *E. andrei* Segat et al. (2015) encontraram redução na reprodução com doses de 30 m^3 ha^{-1} em Neossolo Quartzarênico e associaram ao baixo teor de matéria orgânica e conteúdo de argila principalmente à baixa CTC deste solo.

Com os resultados obtidos é possível afirmar que uso de dejeto líquido de suínos causou redução na reprodução de *E. andrei* nas doses acima de 100 e 200 m^3 ha^{-1} para Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico, respectivamente. Já *E. crypticus* mostrou-se bastante mais sensível que as minhocas e sua taxa de reprodução foi significativamente reduzida com a aplicação de 10 e 35 m^3 ha^{-1} de dejeto líquido de suínos em Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico, respectivamente. É importante destacar também que solos de diferentes classes texturais apresentam diferentes níveis de

toxicidade para organismos do solo quando utilizado dejeto líquido de suínos.

2.4 CONCLUSÕES

O uso de dejeto líquido de suínos reduziua taxa de reprodução de *Eisena andrei* e *Enchytraeus crypticus*.

No Cambissolo Háplico eutroférrico os valores de CE_{50}(*Eisenia andrei* = 112,0 m^3 ha^{-1} e *Enchytraeus crypticus* = 17,7 m^3 ha^{-1})foram menores que os valores de CE_{50} (*Eisenia andrei*>150,0 m^3 ha^{-1} e *Enchytraeus crypticus* = 45,0 m^3 ha^{-1})para Nitossolo Vermelho distroférrico, mostrando que os efeitos da adição de dejetos na reproduçãodependem da textura e teor de matéria orgânica dos solos.

Os valores de CE_{50} obtidos para minhocas são maiores que o volume, de dejeto líquido de suínos, que é permitido aplicar anualmente, de acordo com a IN 11 da FATMA, porém os valores de CE_{50} para enquitreídeos são menores, ressaltando a importância de incluir as respostas biológicas na elaboração da legislação que regulamenta o uso deste res.

A riqueza de grupos edáficos diminuiu com as aplicações sucessivas de dejeto líquido de suínos para ambos os solos avaliados.

Os diferentes valores de CE_{50} obtidos para as diferentes espécies estudadas reforçam a importância de utilizar mais de uma espécie indicadora.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT/NBR 15537**. Ecotoxicologia terrestre - Ecotoxicidade aguda -Método de ensaio com minhocas, Brasil, 2007.

AMORIM, M. J. B.; RÖMBKE, J.; SOARES, A. M. V. M. Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: Effects of benomyl, carbendazim, phenmedipham and different soil types. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 59, p. 501–510, 2005.

CASTRO-FERREIRA, M. P.; ROELOFS, D.; VAN GESTEL, C. A. M.; VERWEIJ, R. A.; SOARES, A. M. V. M.; AMORIM, M. J. B. *Enchytraeus crypticus* as model species in soil ecotoxicology. **Chemosphere**, Oxford, v. 87, p. 1222-1227.

CÉSAR, R. G.; EGLER, S. G.; ALAMINO, R. C. J.; POLIVANOV, H.; SILVA, R. C.; CASTILHOS, Z. C.; ARAÚJO, P. P. Avaliação do potencial tóxico de Latossolos e Chernossolos acrescido de lodo de esgoto utilizando bioensaios com Oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. **Anuário do Instituto de Geociências**, Rio de Janeiro, v. 31, p. 53-60, 2008.

CÉSAR, R.; NATAL DA LUZ, T.; BIDONE, E.; CASTILHOS, Z.; POLIVANOV, H.; SOUSA, J. P. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation based on bioassays with springtails and enchytraeids. **Environmental Science and Pollution Research**, sl., v. 22, p. 2916-2924, 2015.

CHELINHO, S.; LOPES, I.; NATAL-DA-LUZ, T.; DOMENE, X.; NUNES, M. E. T. N.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J. P. Integrated ecological risk assessment of

pesticides in tropical ecosystems: a case study with carbofuran in Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, sl, v. 31, p. 437-445, 2012.

COULIBALY, S. S.; BI, I. A. Z. Influence of animal wastes on growth and reproduction of the African earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). **Eurpean Journal of Soil Biology**, sl., v. 46, p. 225-229, 2010.

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

DOMINGUEZ-CRESPO, M. A.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, E.; TORRES-HUERTA, A. M.; NEGRETE-RODRÍGUEZ, M. L. X.; CONDE-BARAJAS, E.; FLORES-VELA, ABELARDO. Effects of the Heavy Metals Cu, Ni, Cd and Zn on the growth and reprodution of epigeic earthworms (E. fetida) during the vermistabilization of municipal sewage sludge. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, n. 223, p. 915-931, 2012.

EDWARDS, C. A.; DOMINGUEZ, J.; NEUHAUSER, E. F. Growth and reproduction of *Perionyx excavates* (Perr.) (Megascolecidae) as factors in organic waste management. **Biology and fertility of soils**, Berlin, v. 27, p. 155-161, 1998.

FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE DE SANTA CATARINA. FATMA. **Instrução Normativa 11: Suinocultura**. FATMA. Disponível em: <http://www.fatma.sc.gov.br/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=32&Itemid=83>. Acesso em: 10 nov. 2015.

GARCIA, M. V. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical

regions. **Ecology and Development Series**, Germany: University of Bonn, 2004. 281p.

GONÇALVES JUNIOR, A. C.; LINDINO, C. A.; ROSA, M F.; BARICCATTI, R.; GOMES, G. D. Remoção de metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo em biofertilizante suíno utilizando macrófita aquática (*Eichornia crassipes*) como bioindicador. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 9-14, 2008.

GRÄBER, I.; HANSEN, J. F.; OLESEN, S. E.; PETERSEN, J.; OSTERGAARD, H. S.; KROGH, L. Accumulation of copper and zinc en Danish agricultural soils in intensive pig production areas. **Danish Journal of Geography**, Copenhagen, n. 105, p. 15-22, 2005.

GUDANI, B.; EDWARDS, C. A.; BLOUNT IV, C. The influence of different moisture levels on the growth fecundity and survival of *Eisenia fetida* (Savigny) in cattle and pig manure solids. **European Journal of Soil Biology**, sl, v. 39, p. 19-24, 2003.

ISO International Organization for Standardization. **ISO-11268-2**: Soil quality - Effects of pollutants on earth-worms (*Eisenia fetida*). pt 2: Method for the determination of effects on reproduction. Genève, Switzerland, 1998. 36p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO-16387**: effects of pullutants on enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.): determination of effects on reproduction and survival. Genève, Switzerland, 2004.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 17512-1**: soil quality: avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals

on behavior - Pt 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Genève, Switzerland, 2005.

KAPLAN, D. L.; HARTENSTEIN, R.; NEUHAUSER, E. F.; MALECKI, M. R. Physicochemical requirements in the environment of the earthworm *Eisenia foetida*, **Soil biology and biochemistry**, Elmsford, v. 12, p. 347–352, 1980.

KUPERMAN, R. G.; AMORIM, M. J. B.; RÖMBKE, J.; LANNO, R.; CHECKAI, R. T.; DODARD, S. G.; SUNAHARA, G. I.; SCHEFFCZYK, A. Adaptation of the enchytraeid toxicity test for use with natural soil types. **European Journal of Soil Biology**, sl., v. 42, p. S234–S243, 2006.

LANNO, R., WELLS, J., CONDER, J., BRADHAM, K., BASTA, N. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Paris, v. 57, p. 39-47, 2004.

LAVELLE, P.; SPAIN, A. **Soil ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 654p.

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

LOCK, K.; JANSSEN, C. R. Mixture toxicity of zinc, cadmium, copper, and lead to the potworm *Enchytraeus albidus.***Ecotoxicology and Environmental Safety**, Paris, v. 52, p. 1-7, 2002.

MABOETA, M. S.; RESENSBURG, L.; VAN RESENSBURG, J. Earthworm (*Eisenia fetida*) bioassay to assess the possible effects of platinum tailings disposal on the environmental on gagradient. **Applied Ecology and Environmental Research**, sl, v.6, p. 13–19, 2008.

MACCARI, A. P. **Avaliação ambiental do uso de dejetos de suínos por meio de ensaios ecotoxicológicos em solos do Estado de Santa Catarina**. 2014. 135 f. Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014.

MARTIN, V.; STANISLAV, M. Using an ecotoxicological soil test battery for testing anaerobically-digested sludge for application on agricultural land. In: **Marktredwitzer Bodenschutztage, Bodenschutz in Europa**. Ziele und Umsetzung, p.210–217, 2010.

MATTIAS, J.L.; CERETTA, C.A.; NESI, C.N.; GIROTTO, E.; TRENTIN, E.E.; LOURENZI, C.R.; VIEIRA, R.C. Copper, zinc and manganese in soil of two watersheds in Santa Catarina with intensive use of pig slurry. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Lavras, n. 54, p. 1445-1454, 2010.

MURCHIE, A. K.; BLACKSHAW, R. P.; GORDON, A. W.; CHRISTIE, P. Responses of earthworm species to long-term applications of slurry. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 96, p. 60-67, 2015.

NOVAIS, S. C.; SOARES, A.; AMORIM, M. J. B. Can avoidance in *Enchytraeus albidus* be used as a screening parameter for pesticides testing? **Chemosphere**, Amsterdam, v. 79, p. 233–237, 2010.

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

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.

PARDO, T.; CLEMENTE, R.; ALVRENGA, P.; BERNAL, M. P. Efficiency of soil organic and inorganic amendments on the remediation of a contaminated mine soil: II. Biological and ecotoxicological evaluation. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 107, p. 101-108, 2014.

POSTHUMA, L.; BAERSELMAN, R.; VAN VEEN, R. P. M.; DIRVEN-VAN BREEMEN, E. M. Single and joint toxic effects of copper and zinc on reproduction of *Enchytraeus crypticus* in relation to sorption of metals in soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 38, p. 108-121, 1997.

REINECKE, A. J.; REINECKE, S. A.; MABOETA, M. S. Cocoon production and viability as endpoints in toxicity testing of heavy metals with three earth worm species. **Pedobiologia**, Jena, v. 45, p. 61–68, 2001.

SCHERER, E.E.; NESI, C.N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.1375-1383, 2010.

SEGAT, J. C.; ALVES, P. R. L.; BARETTA, D.; CARDOSO, E, J. B. N. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Paris, v. 122, p. 91-97, 2015

SPURGEON, D. J.; HOPKIN, S. P.; JONES, D. T. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny): assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution**, Londres, v. 84, p. 123–130, 1994.

VAN GESTEL, C. A. M. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. **ZooKeys**, sl, v. 176, p. 275–296, 2012.

VAN GESTEL, C. A. M.; BORGMAN, E.; VERWEIJ, R. A. ORTIZ, M. D. The influence of soil properties on the toxicity of molybdenum to three species of soil invertebrates. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1-9, 2011.

VAN GESTEL, C. A. M.; VAN DER WAARDE, J. J.; DERKSEN, J. G. M.; VAN DER HOEK, E. E.; VEUL, M. F. X. W.; BOUWENS, S.; RUSCH, B.; KRONENBURG, R. The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil-polluted soils. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 20, n. 7, p. 1438–1449, 2001.

VAN RAIJ, B. VAN.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, Campinas: Instituto Agronômica, 2001. 400p.

CAPÍTULO 3

Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos com microartrópodes terrestres.

Resumo

A utilização de dejeto líquido de suínos (DLS) como fertilizante agrícola caracteriza-se por ser a prática mais realizada para o descarte deste material e desta forma acaba sendo uma economica fonte de nutrientes para o solo. No entanto, a aplicação em volumes muito elevados e com grande frequência, deste resíduo, pode causar a contaminação dos solos. Este estudo objetivou avaliar o efeito da aplicação do DLS sobre colêmbolos (*Folsomia candida*) e ácaros (*Hypoaspis aculeifer*) para determinar as concentrações efetivas (CE_{50}) que causam 50 % de redução na reprodução, através de testes ecotoxicológicos padronizados. Foram utilizadas amostras da camada superficial (0 – 0,20 m de profundidade) de dois solos representativos da região Oeste catarinense, classificados como Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico e o dejeto líquido de suínos foi coletado diretamente da unidade de produção de animais da fase de terminação. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, os tratamentos consistiam em diferentes doses de dejeto combinadas com os dois diferentes solos. Os dados foram submetidos a ANOVA *One-way* com comparação de médias pelo teste de Dunnett e análises de regressão não linear para estabelecer os valores de CE_{50}. Os resultados evidenciaram toxicidade do resíduo através da redução no número de indivíduos jovens com o uso de DLS para ambos os solos. Os valores de CE_{50} para colêmbolos foram 15,3 e 15,8 m^3 ha^{-1} para Cambissolo e Nitossolo, respectivamente e para

ácaros os valores calculados foram 92,5 e 82,6 m^3 ha^{-1}, para Cambissolo e Nitossolo, respectivamente, mostrando que as características do solo têm influência sobre a toxicidade dos contaminantes. Os valores de CE_{50} encontrados foram diferentes para cada organismo o que mostra a importância de utilizar diferentes espécies como indicadoras de toxicidade.

Palavras-chave: Ecotoxicologia terrestre; *Folsomia candida*; *Hypoaspis aculeifer*.

Abstract

The use of pig slurry (PS) as agricultural fertilizer characterized by being made more practical to dispose of this material and thereby ends up being an economic source of nutrients for the soil. However, application in high volume and with great frequency, this residue can cause contamination of the soil. This study aimed to evaluate the application of the DLS effect on springtails (*Folsomia candida*) and mites (*Hypoaspis aculeifer*) to determine the effective concentrations (EC_{50}) that cause 50% reduction in reproduction through standardized ecotoxicological tests. samples of the surface layer were used (0 - 0.20 m deep) two representative soils of the Western Santa Catarina region, classified as Entisol and Nitosol and liquid swine manure was collected directly from the animal production unit finishing phase. The experiment was conducted under completely randomized design with five replicates, the treatments consisted of different doses of manure combined with two different soils. Data were analyzed by ANOVA One-way with mean comparison by Dunnett test and non-linear regression analysis to establish the EC_{50} values. The results showed residual toxicity by reducing the number of juveniles with the use of PS for both soils. The EC_{50} values for springtails were 15.3 and 15.8 m^3 ha^{-1} for Cambisol and Nitosol respectively and the calculated values mites were 92.5 and 82.6 m^3 ha^{-1}, for Cambisol and Nitosol respectively showing that the soil characteristics have influence on toxicity of contaminants. The EC_{50} values were different for each organism which shows the importance of using different species as indicators of toxicity.

Keywords: Terrestrial ecotoxicology; *Folsomia candida*; *Hypoaspis aculeifer*.

3.1 INTRODUÇÃO

Ensaios ecotoxicológicos lançam mão da utilização de organismos edáficos sensíveis a uma ampla gama de estressores e são desenvolvidos sob condições ambientais controladas e com base em metodologias padronizadas em diversos países. Alguns dos organismos padronizados para os ensaios ecotoxicológico mais utilizados mundialmente são colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e ácaros da espécie *Hypoaspis aculeifer*.

O dejeto líquido de suínos é um dos resíduos da produção animal com maior potencial poluidor dos solos (GAYA, 2004) e esse é utilizado como fertilizantes na agricultura. Devido a estes fatores é necessário desenvolver estudos que mensurem o impacto que sua aplicação nos solos pode causar (SCHERER et al., 2010), em especial a fauna edáfica.

A ecotoxicologia terrestre, por meio de seus ensaios, tem sido amplamente utilizada para avaliar efeitos de contaminantes no solo, dentre tais as matrizes orgânicas como

os resíduos da produção animal (SEGAT et al., 2015; ZORTÉA et al., 2015; MACCARI et al., 2016).

Os colêmbolos da espécie *F. candida* são considerados bons indicadores de qualidade do solo por participarem de importantes papéis como a decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes (BARETTA et al., 2008). Essa espécie possui protocolos padronizados para realização dos bioensaios ISO 11267 (1999) e tais organismos têm sido usados em testes para avaliar efeito ecotoxicológicos de lodo da depuração da compostagem de resíduos agrícolas e dejeto de suínos (DOMENE., 2007; MACCARI et al., 2016)

Ácaros da espécie *H. aculeifer* são predadores de outros ácaros, colêmbolos e nematoides e possuem distribuição global (OECD 226, 2008). Sua utilização em ensaios avaliando a toxicidade de matrizes orgânicas tem sido relatada em alguns trabalhos (NATAL-DA-LUZ et al. 2008; CHELINHO et al. 2011; ALVES et al., 2015; CÉSAR et al., 2015). De acordo com Fountain; Hopkin (2005) os organismos padronizados apresentam importantes vantagens para serem usados em testes ecotoxicológicos, pois são sensíveis a presença de contaminantes, fáceis de manter em criações de laboratório e têm elevada taxa de reprodução, devido essas características

eles têm sido usados há mais de 40 anos como bioindicadores ecológicos.

O presente trabalho objetivou através de ensaios ecotoxicológicos desenvolvidos com colêmbolos e ácaros conhecer os efeitos que o uso de dejeto líquido de suínos tem sobre as taxas de reprodução destes organismos representantes da fauna edáfica em Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Amostragem do dejeto líquido de suínos

O dejeto líquido de suínos (DLS) foi coletado diretamente da baia de uma unidade produtora de animais, na EMBRAPA Suínos e Aves, e passou por um processo de estabilização química por 120 dias como recomendado pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFRS/SC, 2004). O DLS usado era da fase de terminação, que se caracteriza por produzir elevado volume de dejeto. O material foi caracterizado segundo a metodologia de van Raij (2001) e o percentual de carbono e nitrogênio total do solo foram

analisados pelo método de combustão total utilizando o analisador elementar LECO-CN 2000. Na Tabela 2.1 (capítulo 2) estão apresentadas as características físico-químicas do DLS.

3.2.2 Amostragem dos solos

Os testes foram realizados em Cambissolo Háplico eutroférrico (CHe)e Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd), ambos sob sistema de Integração-Lavoura-Pecuária. O CHe foi coletado no município de Chapecó, SC em uma propriedade de bovinos de leite localizada no bairro Lider (27.068702, -52.623913); o NVd foi coletado no município de Concórdia, SC na unidade da EMBRAPA Suínos e Aves (-27.311710, -51.990814). Os solos foram coletados na camada de 0 - 0,20 m de profundidade, secos em estufa a 65 ^{o}C e tamisados em peneiras de 2 mm, para separação de resíduos vegetais e agregados de solo.

Como referência, foi utilizadoSolo Artificial Tropical (SAT) que consiste emuma adaptação do solo artificial recomendado pela ISO 11268-2 (1998), composto pela mistura de 70% de areia industrial (fina), 20% de argila caulinítica, e 10% de pó de casca de coco (seca e peneirada) (GARCIA,

2004). Os atributos físico-químicos dos três solos estão apresentados na Tabela 2.2 (Capítulo anterior).

3.2.3 Testes de reprodução

Os testes de reprodução para colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e ácaros da espécie *Hypoaspis aculeifer* foram desenvolvidos segundorecomendações da ISO e OECD, que descreve particularidades de cada um dos organismos quanto ao tempo de exposição, volume de solo necessário, formas de avaliação, características da criação e manutenção destes organismos em laboratório.Os testes desenvolvidos ainda seguiram alguns critérios de validação de acordo com diretrizes.

As doses de dejeto de suínos foram baseadas na recomendação da Instrução Normativa número 11 (FATMA, 2000) para uso de dejeto como fertilizante agrícola, que recomenda a aplicação máxima de 50 m^3 de dejeto de suíno ha^{-1} ano^{-1}. As doses utilizadas foram 0, 10, 15, 20, 35, 50 e 100 m^3 ha^{-1} e todos os ensaios foram conduzidos com cinco repetições. Os dados de reprodução foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e realizou-se o teste de Dunnet (P<0,05),

para verificar as diferenças entre os tratamentos e o controle através do software SAS 9.2. A partir de análises de regressão não linear que foram desenvolvidas com o programa STATISTICA® 7.0 obteve-se valores de CE_{50} dos testes de reprodução.

Folsomia candida

Os exemplares de *F. candida* utilizados nos testes foram obtidos de criação já estabelecida no Laboratório de Solos e Sustentabilidade da UDESC-Oeste, sendo mantidos de acordo com diretrizes estabelecidas pela ISO 11268-2 (1998).

Para o teste de toxicidade crônica de *F. candida*, as recomendações seguidas foram de acordo com a ISO 11267 (1999). Em recipientes de vidro com altura de 11,5 cm e diâmetro de 3,5 cm foram adicionados 30 g de solo com umidade corrigida para 60% da capacidade máxima de retenção de água (CRA) de água e com as doses de DLS já adicionadas.

Cada unidade experimental recebeu 10 indivíduos com idade sincronizada entre 10 e 12 dias e mantidas em ambiente com temperatura de 20 ^{o}C $\pm$ 2 e fotoperíodo de 12:12 (luz: escuro). No início do teste e após 14 dias decorridos, os organismos foram alimentados com fermento biológico.

Semanalmente os recipientes foram abertos para promover a aeração e foi corrigida a umidade do solo por diferença de peso dos recipientes.

Após 28 dias do início do teste foi realizada a contagem do número de indivíduos jovens gerados. Para tanto adicionou-se água e tinta preta (para caneta esferográfica) aos recipientes. Por flutuação e com o contraste da tinta com os organismos foipossível fotografar as amostras e com auxílio do programa computacional ImageTool (University of Texas Health Science Center, 2002) realizou-se a contagem.

Hypoaspis aculeifer

Os organismos utilizados nos testes foram obtidos de criação já estabelecida no Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia de Solos do Departamento de Ciências da vida, sendo mantidos de acordo com diretrizes estabelecidas pela OECD 226 (2008).

A reprodução de ácaros foi avaliada com base nas referências da OECD 226 (2008), onde em recipientes de vidro com altura de 7 cm e diâmetro de 3,5 cm foram adicionadas 20 g de solo contaminado com DLS e com umidade corrigida para

60 % da CRA nos quais foram adicionadas 10 fêmeas de ácaros com idade entre 28 e 35 dias. Os organismos foram alimentados com ácaros "*cheese mites*" no início do teste e duas vezes por semana durante a condução do ensaio.Semanalmente os frascos foram abertos para aeração e tiveram a perda de água corrigida. O ensaio foi mantido em câmara de crescimento com temperatura de 20 ºC $\pm$ 2 e no escuro por 14 dias.

A desmontagem do ensaio foi realizada no 14 º dia após a montagem do teste.Para tanto as réplicas do experimento foram colocadas em um extrator MacFadyen usando um ciclo de temperaturas crescentes (12 h a 25 °C, 12 h a 35 °C e 24 h a 45 °C). Os organismos extraídos foram fixados em álcool 70 % e contados com auxílio de um microscópio estereoscópico.

Validação dos ensaios

Para o ensaio ser validado a taxa de letalidade para *F. candida* adultos não pode exceder 20% do total de indivíduos, o número de juvenis deve ser > 200 indivíduos, e o CV deve ser < 30%, para os controles, segundo instruções da ISO 11267 (1999). No caso de *H. aculeifer* a mortalidade não pode ultrapassar 80 %, o número de juvenis por réplica do controle deve ser $\geq$ 50 e o CV ser < 30 % (OECD 226, 2008).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes de reprodução para colêmbolos em CHe (Figura 3.1A) mostraram efeitos significativos a partir da dose 20 m^3 ha^{-1}e para NVd (Figura 3.1B) a partir da dose de 35 m^3 ha^{-1} mostrando que o uso de DLS causa efeitos negativos na taxa de reprodução dos organismos. Os valores de CE_{50} calculados para colêmbolos foram 15,3 m^3 ha^{-1} (IC. 14,3 – 16,4) para CHe e 15,8 m^3 ha^{-1} (IC. 12,7 – 18,9) para NVd.

Os resultados encontrados para ácaros mostram que também houve toxicidade do resíduo, resultando em redução na taxa reprodutiva em ambos os solos avaliados. Para CHe os efeitos de toxicidade foram observados a partir da dose de 20 m^3 ha^{-1}(Figura 3.2A), noentanto, o valor de CE_{50} calculado (92,5 m^3 ha^{-1}- IC = 73 - 112 m^3 ha^{-1}) apontou menor toxicidade quando comparado com os resultados encontrados para colêmbolos (15,3 m^3 ha^{-1} – IC = 14,3 – 16,4). No NVd foram observados efeitos a partir da dose de 35 m^3 ha^{-1} e o CE_{50} calculado foi de 82,6 m^3 ha^{-1} (IC = 65,3 – 99,9 m^3 ha^{-1}) (Figura 3.2B).

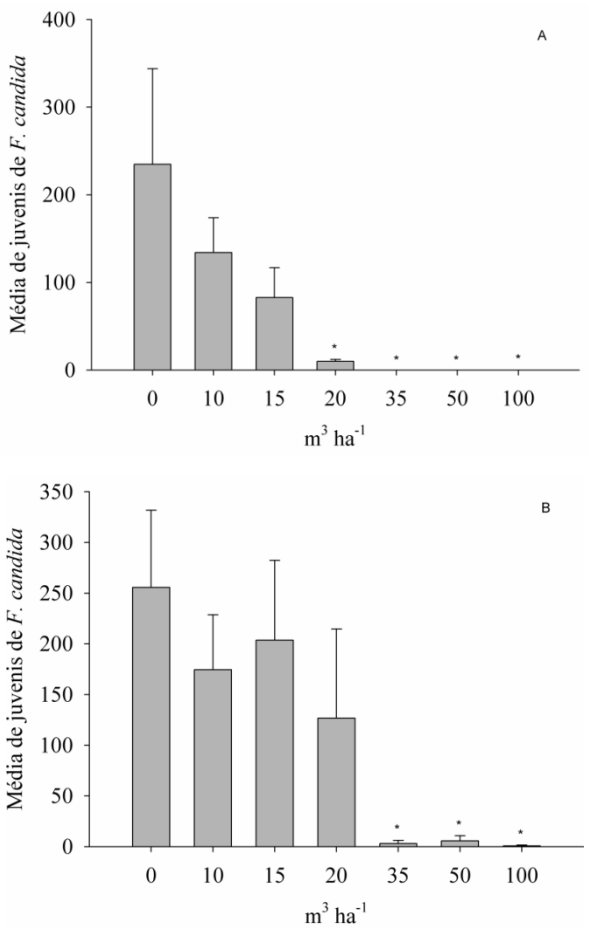

Figura 3.1– Número médio de juvenis de *Folsomia candida* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa ($p<0,05$) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão ($n = 5$).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

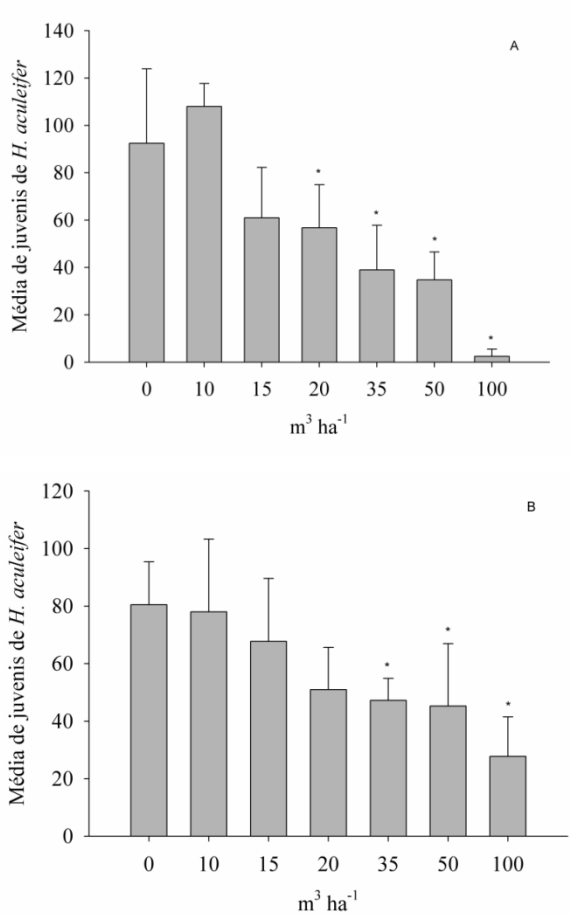

Figura 3.2– Número médio de juvenis de *Hypoaspis aculeifer* em Cambissolo Háplico eutroférrico (A) e Nitossolo Vermelho distroférrico (B) submetidos a doses crescentes de dejeto líquido de suínos. *Diferença estatística significativa ($p<0,05$) ANOVA seguida pelo teste de Dunnett. (┬) Desvio padrão ($n = 5$).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Avaliações do efeito de matrizes orgânicas sobre o desempenho reprodutivo de colêmbolos têm sido realizadas em outros trabalhos, porém poucas delas têm o objetivo de avaliar o efeito de DLS. Os trabalhos que apresentam avaliações do DLS apontam para efeitos negativos do uso desse resíduo para as populações de colêmbolos. Domene et al. (2007) avaliaram a toxicidade de sete diferentes resíduos orgânicos adicionados ao solo OECD, dentre estes o dejeto de suínos foi o que apresentou maior efeito negativo sobre a reprodução de *F. candida*. O valor de CE_{50}observado foi de 24 g de resíduo por kg de solo. No presente estudo os valores calculados de CE_{50}foram equivalentes a 8,4 e 8,7 g de resíduos por kg de solo para CHe e NVd, respectivamente. Martin; Stanislav (2010) também observaram reduções na taxa reprodutiva de colêmbolos após a aplicação de dejeto de suínos em solo artificial. Recentemente, Huguier et al. (2015) realizaram uma revisão bibliográfica sobre o uso de ácaros em ensaios ecotoxicológicos onde não foram encontrados estudos com uso de *H. aculeifer* e resíduos orgânicos.

Considerando que o DLS usado contém elevados teores de Zn e Cu, os resultados podem estar relacionadosà presença destes metais. Efeitos de metais pesados em colêmbolos foram relatados na literatura (CROMMENTUIJN et al., 1993;

SCOTT-FORDSMAND et al., 1997; FILSER; LANG, 2000). No entanto, os efeitos da toxicidade de metais em colêmbolos ainda são bastante discrepantes e dependentes da forma como os metais são aplicados ao solo. Fountain; Hopkins (2004) encontraram correlação negativa no número de juvenis de *F. candida* gerados apósquatro semanas de exposição a solo com a presença de Zn.A avaliação da toxicidade de um sal de Zn (Cl_2Zn) em *F. candida* feita por Smit; Van Gestel (1996) apontou valores de CE_{50} de 185 e 348 μg de Zn g^{-1} para dois diferentes solos artificiais. Já Van Gestel; Hensbergen (1997) encontraram valores de 626 μg de Zn g^{-1} de solo artificial. Vijver et al. (2001) testando o acúmulo de metais, dentre eles Zn, em *F. candida*, e observaram tendência de redução na reprodução destes organismos com 9,1 mmol de Zn g^{-1} de solo OECD, mas não encontraram efeitos da exposição dos organismos ao Cu, e afirmaram que o mecanismo de homeostase desses organismos, para Cu, tem elevada capacidade de manter as concentrações corporais em níveis que não causem efeitos significativos.

Estudos avaliando o desempenho de ácaros expostos a metais apontam que tais contaminantes também exercem

efeitos negativos sobre tais populações. Krogh; Axelsen (1998) encontraram efeitos em ácaros *H. aculeifer* em concentrações de $CuCl_2$ de 674 mg kg^{-1}. Na literatura são encontrados resultados do efeito do Cu em outras espécies de ácaros como para a espécie de *Platynothrus peltifer* o CE_{50} foi 112 mg kg^{-1} (VAN GESTEL; DOORNEKAMP, 1998); *Oppia nitens* em ensaios de reprodução o CE_{50} estimado foi de 3,59 mg kg^{-1} de $CuSO_4$ e 1,97 mg kg^{-1} de $ZnSO_4$ (OWOJORI et al., 2011). Porém, de acordo com Huguier et al. (2015) ácaros podem ser mais tolerantes a presença de metais no meio uma vez que esses podem ser depositados na cutícula e então eliminados quando ocorre a muda nas fases juvenis até que o organismo se torne adulto.

Reduções no desempenho reprodutivo de *F. candida* podem ser resposta as alterações na taxa de alimentação. Em trabalho avaliando a inibição no consumo de alimento pelos indivíduos, foram encontrados resultados que mostravam redução de 72 % no consumo de alimento com adição de 1 g de dejeto de suíno térmicamente tratado por kg de solo, e que essa inibição foi maior com aumento das doses de dejeto aplicada. Os autores correlacionaram a letalidade e perda de potencial reprodutivo à restrição na alimentação que o resíduo causou (DOMENE et al., 2007). De acordo com Domene et al. (2011),

populações microbianas são importantes para determinar o comportamento de colêmbolos, visto que esses organismos se alimentam de microrganismos. Aumento na população microbiana pode ter sido causado pela adição de DLS, no entanto esses parâmetros não foram avaliados nesse trabalho.

Considerando que o DLS é uma importante fonte de N e que oscompostos derivados de N são tóxicos à espécie *F. candida*, especialmente o NH_4^+, os efeitos negativos observados podem estar relacionados ao acúmulo desses compostos dentro dos recipientes utilizados no teste, mesmo que esses tenham sido abertos duas vezes por semana para permitir a troca de ar com o ambiente. Domene et al. (2011), avaliando 19 diferentes solos naturais, encontraram menores desempenhos reprodutivos nos solos associado à presença de maiores concentrações de N total. Esse mesmo efeito foi relatado por Maccari et al. (2016) onde os autores associaram a menor taxa reprodutiva de *F. candida* ao aumento de N total promovido pela aplicação de dejeto de suínos em um Neossolo.

Baseado na proximidade dos valores de CE_{50}, para ambos os solos, é possível perceber que a reprodução de colêmbolos e ácaros foi pouco influenciada pelas

características físicas do solo (teor de argila, MOS e CTC) o que está em conformidade com os dados apresentados por Domene et al. (2011) que afirmam que a espécie*F. candida*é pouco sensíveis as características do solo, assim como Huguier et al. (2015) que afirmam característica dos solos como textura e teor de MOS não tem grande influência sobre os efeitos na reprodução de ácaros *H. aculeifer*. Portanto, essas são boas espécies a serem utilizadas em ensaios com solo naturais.

3.4 CONCLUSÕES

O uso de dejeto líquido de suínos causou redução na reprodução de *Folsomia candida* e *Hypoaspis aculeifer* a partir das doses de 20 m^3 ha^{-1} no Cambissolo Háplico eutrófico e a partir da dose de 35 m^3 ha^{-1} para Nitossolo Vermelho distrófico.

Os valores de CE_{50} do Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrico para o mesmo organismo foram muito similares mostrando que as características físico-químicas dos solos não influenciamos resultados obtidos.

Os diferentes valores de CE_{50} obtidos para as diferentes espécies estudados reforçam a importância de utilizar mais de uma espécie indicadora.

Referências

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

CÉSAR, R.; NATAL-DA-LUZ, T.; BIDONE, E.; CASTILHOS, Z.; POLIVANOV, H.; SOUSA, J. P. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation based on bioassays with springtails and enchytraeids. **Environmental Science and Pollution Research**, sl., v. 22, p. 2916-2924, 2015.

CHAPMAN, P.M. Integrating toxicology and ecology: putting the “eco” into ecotoxicology. **Marine Pollution Bulletin**, Vancouver, BC, v. 44, p. 7–15, 2002.

CHELINHO, S.; DOMENE, X.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; SCHEFFCZYK, A.; RÖMBKE, J.; ANDRÉS, P.; SOUSA, J. P. Improving ecological risk assessment in the Mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaeta species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, sl, v. 30, p.1050-1058, 2011.

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

CROMMENTUIJN, T.; BRILS, J.; VAN STRAALEN, N. M., Influence of cadmium on life-history characteristics of *Folsomia candida* (Willem) in an artificial soil substrate. **Ecotoxicology and Environment Safety**, Paris, v. 26, p. 216–227, 1993.

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

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

FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE DE SANTA CATARINA. FATMA. **Instrução Normativa 11: Suinocultura**. FATMA. Disponível em: <http://www.fatma.sc.gov.br/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=32&Itemid=83>. Acesso em: 10 nov. 2015.

FILSER, J.; LANG, W. A. Response types in Collembola towards copper in the microenvironment. **Environmental Pollution**, Londres, v. 107, p. 71-78, 2000.

FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. A comparative study of the effects of metal contamination on Collembola in the field and in the laboratory. **Ecotoxicology**, sl, v. 13, p. 573-587, 2004.

FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. *Folsomia candida* (Collembola): A “Standard” Soil Arthropod. **Annual Review of Entomology**, United Kingdom, v.50, p.201–22, 2005.

GARCIA, M. V. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical

regions. **Ecology and Development Series**, Germany: University of Bonn, 2004. 281p.

GAYA, J.P. **Indicadores biológicos no solo como uma alternativa para o uso racional de dejetos de suínos como adubo orgânico**. 2004. 140 f. Dissertação Mestrado em agroecossistemas. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2004. 140 f.

HUGUIER, P.; MANIER, N.; OWOJORI, O. J.; BAUDA, P.; PANDARD, P.; RÖMBKE, J. The use of soil mites in ecotoxicology: a review. **Ecotoxicology**, sl., v.24, p. 1–18, 2015.

ISO International Organization for Standardization. **ISO-11267**: Soil Quality - Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. Genève, Switzerland, 1999. 20p.

ISO International Organization for Standardization. **ISO-11268-2**: Soil quality - Effects of pollutants on earth-worms (*Eisenia fetida*). pt 2: Method for the determination of effects on reproduction. Genève, Switzerland, 1998. 36p.

KROGH, P.H.; AXELSEN, J.A. Test on the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* preying on the collembolan *Folsomia fimetaria*. In: **Handbook of soil invertebrate toxicity tests**. Pp. 239-251. LOKKE, H.; VAN GESTEL, C. A. M. (Eds.), Chichester: J. Wiley and Sons Ltd, 1998.

MACCARI, A. P.; BARETTA, D.; PAIANO, D.; LESTON, S.; FREITAS, A.; RAMOS, F.; SOUSA, J. P.; KLAUBERG-FILHO, O. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, sl, v. 314, p. 113-120, 2016.

MARTIN, V.; STANISLAV, M. Using an ecotoxicological soil test battery for testing anaerobically-digested sludge for

application on agricultural land. In: **Marktredwitzer Bodenschutztage, Bodenschutz in Europa**. Ziele und Umsetzung, p.210–217, 2010.

NATAL-DA-LUZ, T.; AMORIM, M.J.B.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J.P. Avoidance tests with earthworms and springtails: Defining the minimum exposure time to observe a significant response. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, n. 71, p.545-551, 2008.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD No 226**. Guidelines for the testing of Chemicals No 226: Predatory mite (*Hypoaspis* (Geolaelaps) *aculeifer*) reproduction test in soil. Paris, 2008.

OWOJORI, O. J.; HEALEY, J.; PRINCZ, J.; SICILIANO, S. D. Can avoidance behavior of the mite *Oppia nitens* be used as a rapid toxicity test for soils contaminated with metals or organic chemicals? **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 30, p. 2594–2601, 2011.

SCHERER, E.E.; NESI, C.N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.1375-1383, 2010.

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

SEGAT, J. C.; ALVES, P. R. L.; BARETTA, D.; CARDOSO, E, J. B. N. Ecotoxicological evaluation of swine manure

disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Paris, v. 122, p. 91-97, 2015.

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

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

VAN GESTEL, C. A. M.; DOORNEKAMP, A. Tests on the oribatid mite Platynothrus peltifer. In: LØKKE, H.; VAN GESTEL, C. A. M (Eds.) **Handbook of soil invertebrate toxicity tests.** Chichester: Wiley, 1998. p 113–130.

VAN GESTEL, C. A. M.; HENSBERGEN, P. J. Interaction of Cd and Zn toxicity for *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae) in relation to bioavailability in soil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 16, p. 1177-1186, 1997.

VAN RAIJ, B. VAN.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, Campinas: Instituto Agronômica, 2001. 400p.

VIJVER, M.; JAGER, T.; POSTHUMA, L.; PEIJNENBURG, W. Impact of metal pools and soil properties on metal accumulation in *F. candida* (Collembola). **Environmental Toxicology and Chemistry**, sl, v. 20, p. 712-720, 2001.

ZORTÉA, T.; BARETTA, D.; MACCARI, A. P.; SEGAT, J. C.; BOIAGO, E. S.; SOUSA, J. P.; SILVA, A. S. Influence of cypermethrin on avoidance behavior, survival and reproduction of *Folsomia candida* in soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 122, p. 94-98, 2015.

CAPÍTULO 4

Avaliação ecotoxicológica do dejeto líquido de suínos na estrutura da comunidade de nematoides

Resumo

A utilização de comunidades nativas de nematoides em ensaios ecotoxicológicos é capaz de fornecer respostas importantes e mais realistas sobre o efeito da adição de dejetos líquidos de suínos (DLS) ao solo, uma vez que esses organismos desempenham papel chave em diferentes níveis tróficos e ainda são capazes de indicar alterações nas condições ambientais. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito do DLS na composição de famílias e grupos tróficos de nematoides. As doses 0, 50, 100, 150, 200 e 250 m^3 ha^{-1} de dejeto líquido de suínos da fase de terminação foram aplicadas em dois solos naturais Cambissolo Háplico eutroférrico e Nitossolo Vermelho distroférrio; um solo natural de Portugal foi utilizado como referência e para realizar a extração da comunidade de nematoides, o ensaio foi montado sobre delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Avaliou-se na composição de famílias e grupos tróficos de nematoides através de ANOVA One-way e comparação de médias pelo teste de Dunnett, análise de ANOSIM e SIMPER para identificar quais famílias e grupos foram mais responsáveis pelas diferenças entre as doses avaliadas. A aplicação de dejeto líquido de suínos alterou a abundância total de nematoides com redução deste no Cambissolo Háplico eutroférrico e aumento no Nitossolo Vermelho distroférrico; em ambos os solos

estudados a composição das famílias foi alterada com significativa redução na abundância dos bacteriófagos da famíliaRhabditidae e a representatividade dos grupos tróficos apenas foi afetada em Cambissolo Háplico eutroférrico no qual o grupo de bacteriófagos aumentou em todas as doses quando em comparação ao controle. A combinação das metodologias, classificação taxonômica e por grupo trófico, apresenta resultados mais realistas dos efeitos tóxicos e também que comunidades nativas de nematoides podem ser utilizadas com bioindicadoras de compostos tóxicos em solos naturais.

Palavras-chave: dejeto líquido de suínos, ecotoxicologia, famílias, grupos tróficos, nematoides.

Abstract

The use of native nematode communities ecotoxicological tests is capable of providing important and most realistic responses on the effect of addition of pig slurry (PS) to the ground, since these organisms play a key role in different trophic levels and are still can indicate changes in environmental conditions. This study aimed to evaluate the effect of PS in the composition of families and trophic groups of nematodes. Doses 0, 50, 100, 150, 200 and 250 m^3 ha^{-1} liquid manure termination phase pigs were applied in two natural soils Entisol and Nitosol; a natural soil of Portugal was used as a reference and to perform the extraction of nematodes community, the test was mounted on a completely randomized design with four replications. We evaluated the composition of families and trophic groups of nematodes by ANOVA One-way and comparison of means by Dunnett test, ANOSIM and SIMPER analysis to identify which families and groups were most responsible for the differences between the doses. The application of liquid swine manure changed the total abundance of nematodes with this reduction in Entisol and Nitosol; in both soils studied the household composition has changed with a significant reduction in the abundance of family bacteriophages Rhabditidae and representativeness of trophic groups was only affected in Entisol in which the bacteriophages group increased at all doses when compared to the control. The combination of methodologies, taxonomic classification and trophic groups, provides more realistic results of the toxic effects and also that native nematode communities can be used with bioindicator of toxic compounds in natural soil.

Keywords: pig slurry, ecotoxicology, families, trophic groups, nematodes.

4.1 INTRODUÇÃO

A ampla maioria dos ensaios de toxicidade padronizados com invertebrados do solo se concentram em avaliar os efeitos de produtos químicos ou resíduos em uma espécie por vez e em condições laboratoriais. Mesmo sendo a ecotoxicologia, importante para prever e mensurar os efeitos de contaminantes, ainda é preciso realizar avaliações em um ajuste mais realista, utilizando metodologias que permitam avaliar efeitos em comunidades edáficas e em ambientais mais próximos dos ecossistemas naturais. Associada à utilização de organismos padronizados tem crescido o número de trabalhos que avaliam alterações na comunidade nativa de grupos específicos da fauna edáfica como, minhocas (MURCHIE et al., 2015), formigas (CHEN et al., 2011; WIESCHER et al., 2012), colêmbolos (FRAMPTON et al., 2000; ÁLVAREZ et al., 2001; CHELINHO et al., 2014) e nematoides (CHELINHO et al., 2011). Essa abordagem visa encontrar respostas mais completas e realistas, aliando as vantagens de trabalhar com comunidades edáficas em condições laboratoriais.

Conhecer as alterações na estrutura das comunidades de nematoides torna-se uma eficiente ferramenta devido o importante papel chave em diferentes níveis tróficos ocupados por esse grupo de organismos, e ainda por serem capazes de indicar alterações nas condições ambientais (ZHAO et al., 2013). No solo, a utilização de nematoides, um grupo sensível as contaminações químicas, pode aumentar a precisão das previsões sobre as respostas da comunidade (SOCHOVÁ et al., 2006). Sua estrutura corporal formada por membranas e seus hábitos de vida na água intersticial do solo permitem que sejam avaliados os efeitos de contaminantes soluveis em água (SOCHOVÁ et al., 2006).

Muitos dos nematoides habitam a água intersticial do solo e tem sua função, principalmente, associada ao controle da população da microbiota e a mineralização de nutrientes (LAVELLE, 1997). Esse é o grupo de invertebrados mais abundantes no solo e em sua maioria são de vida livre e classificados como bacteriófagos, fungívoros ou predadores/omnívoros, mas também são encontradas espécies que são parasitas de plantas (fitoparasitas) e animais (KLEYNHANS, 1999).

A classificação dessas comunidades em duas distintas abordagens, grupo trófico e taxonômica, foi utilizada por

Chelinho et al. (2011) com objetivo tornar as respostas mais completas, aliando resultados de estrutura e funcionalidade da comunidade de nematoides.

A classificação com base nos hábitos alimentares dos nematoides, ou seja, em grupos tróficos, tem sido usada em alguns trabalhos (GILREATH et al., 2004; ZHAO et al., 2013; CHELINHO et al., 2011) e essa classificação é permitida por esse grupo possuir um sistema digestivo completo que consiste em estoma, esôfago, intestino, reto e ânus e pelas diferentes estruturas dos aparatos bucais diretamente relacionadas aos hábitos alimentares (COLEMAN; WALL, 2007). A classificação taxonômica clássica separa os organismos ao nível de famíliacom base nas características morfológicas dos organismos com foco em fitoparasitas de interesse agrícola, entretanto, a sua utilização para nematoides de vida-livre tem crescido cada vez mais (MULDER et al., 2005).

Uma das vantagens de estudar os nematoides ao nível de comunidade é que essa metodologia permite implicitamente contabilizar os efeitos indiretos dos poluentes já que a disponibilidade de alimento e as interações competitivas entre as espécies e o ambiente abiótico podem sofrer alterações

causada por poluentes, afetando de forma indireta a comunidade (KORTHALS et al., 1996). Além disso, ainda são encontrados poucos trabalhos na literatura que utilizam essa metodologia e nenhum destes teve por objetivo avaliar o efeito de uma matriz orgânica como o dejeto líquido de suínos.

Com base na avaliação de comunidades nativas e associando técnicas de classificação por estrutura trófica e taxonomia clássica de nematoides, esse trabalho objetiva compreender melhor as alterações que o dejeto líquido de suínos pode causar sobre a estrutura de comunidades de nematoides, além da diversidade e abundância, em dois solos subtropicais.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Amostragem do dejeto líquido de suínos

O dejeto líquido de suínos (DLS) utilizado para a realização dos ensaios com comunidades nativas de nematoides, foi coletado diretamente da baia de uma unidade produtora de animais da fase de terminação, na EMBRAPA Suínos e Aves em Concórdia, SC. Da coleta até utilização, o DLS foi mantido congelado (-4 ºC) para preservar sua

composição química. A caracterização física e química do DLS foi feita segundo a metodologia de van Raij (2001) e o percentual de carbono e nitrogênio total do solo foram analisados pelo método de combustão total utilizando o analisador elementar LECO-CN 2000 (Tabela 2.1 Capítulo 2).

4.2.2 Amostragem dos solos

Amostras deum Cambissolo Háplico eutroférrico (CHe) e de um Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd),em sistema de Integração-Lavoura-Pecuária,foram coletadas da camada de 0-0,20 m de profundidadepara uso na condução do ensaio laboratorial com DLS. OCambissolo Háplico eutroférrico (CHe) foi coletado no município de Chapecó, SC em uma propriedade de bovinos de leite localizada no bairro Lider (27.068702, -52.623913); e o Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd) no município de Concórdia, SC na unidade da EMBRAPA Suínos e Aves (-27.311710, -51.990814). Após coletados, os solos foram secos em estufa a 65 ^{o}C e tamisados em peneiras de 2 mm, para separação de resíduos vegetais e agregados de solo. Os atributos físico-químicos dos solos são apresentados na Tabela 2.2 (Capítulo 2).

Um solo de referência (SR) foi selecionado e coletado na profundidade de 0,10 m de uma área agrícola situada em Carapinheira - Coimbra, Portugal (40.209528, -8.657913), sem histórico de uso de pesticidas ou fertilizante agrícola. Parte do SR foi utilizado para extrair a microfauna a ser usada nos testes de laboratório (Item 4.2.3). As características físico-químicas deste solo eram pH (H_2O) de 6,8, Matéria Organica 2,9%, Nitrogenio total 0,15%, CTC 10,4 (Meq/100g) e argila 9,4% (CHELINHO et al., 2011). A escolha deste solo foi determinada pelo prévio conhecimento da comunidade base de nematoides desta área (CHELINHO et al., 2011), uma vez que não há chaves para identificação para a maior parte dos nematoides encontrados no globo terrestre.

Para desfaunar os solos utilizados no ensaio (CHe, NVd e SR) esses foram submetidos a três ciclos de congelamento (24 h) e secagem em estufa a 65 ^{o}C (24 h). Esse processo é feito para eliminar a fauna existente nas amostras de solo.

4.2.3 Incubação da microfauna

A incubação da microfauna foi feita para garantir que houvesse alimento para grupos específicos de nematoides (bacteríofagos e fungivoros). Para que fosse possível o reestabelecimento da microbiota esse procedimento foi

realizado nos solos desfaunados sete dias antes da montagem do ensaio.

A extração da microbiota foi realizada em 1000 g de solo SR diluído em 2000 mL de água. A solução foi agitada e posteriormente centrifugada 2 vezes durante 5 min a uma velocidade de 600 G (VIKETOFT, 2008). O sobrenadante foi peneirado a 20 µm, para reter os nematoides e então misturado aos solos utilizados no ensaio na proporção de 7 % dessa suspensão. Depois de realizada a incubação os solos foram mantidos a 20 ºC durante sete dias.

4.2.4 Teste comcomunidade de nematoides

Em recipientes de vidro com capacidade para 100 mL, foram adicionadas 30 g de solo (CHe e NVd) previamente contaminado com DLS correspondendo as doses de 0, 50, 100, 150, 200 e 250 m^3 ha^{-1}, sendo a umidade corrigida para 55 % da CRA. Foram utilizadas quatro réplicaspara cada tratamento com solos subtropicaise seis réplicas do SR.

O SR foi utilizado como controle positivo no ensaio, uma vez que não são conhecidos os efeitos da inoculaçãodos

nematoides oriundo de um solo de Portugal em solos subtropicais brasileiros.

Após pesado o solo nos recipientes de teste procedeu-se a inoculação dos organismos. Para isto, 1 mL da suspensão de nematoides (Item 4.2.4), contendo entre 250 e 350 organismos, foi adicionada em cada uma das réplicas. Durante a incubação das réplicas foram retiradas, aleatoriamente, oito amostras da suspensão para realizar a contagem e caracterização da comunidade inicial. O ensaio foi mantido durante 14 dias em sala com temperatura controlada de 20 ^{o}C $\pm$ 2. Após esse período, o conteúdo dos recipientes foi acondicionado em papel toalha e realizou-se a extração dos organismos conforme descrito no Item 4.2.4. Os organismos extraídos foram mantidos em água a 4 ^{o}Caté a contagem e identificação dos nematoídes.

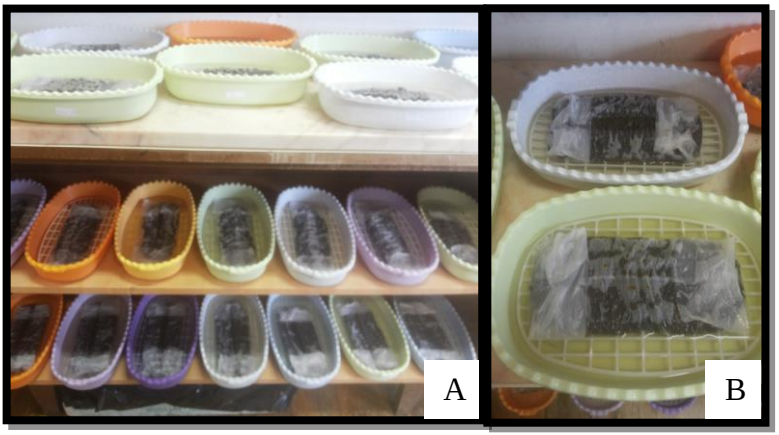

Figura 4.1– Extração de nematoides de comunidades nativas. Extratores (A); Detalhes do solo envolto por papel toalha sobre tela (B).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

4.2.5 Extração de nematoides – comunidade nativa

A extração das comunidades nativas de nematoides do SRseguiu o descrito por Abrantes et al. (1976). Para tanto foram acondicionados em papel toalha 300 g de solo fresco, formando um “envelope” que foi colocado sobre uma tela dentro de um recipiente e parcialmente emergido em água durante 48 h (Figura 4.1). Para obter o número necessário de organismos foram montados 30 extratores. Após esse período a água do recipiente foi passada por uma peneira de 20 µm para reter os nematoides. Os organismos coletados na peneira foram

transferidos para um Becker com 100 mL de água. Para a quantificação dos nematoides extraídos, foi feita a contagem do número de organismos por mL dessa suspensão (n = 3).

4.2.6 Contagem e identificação

A contagem do número total de nematoidesfoi feita transferindo a amostra em água para uma placa de Doncaster. Ao início da contagem dos organismos foi realizada a identificação ao nível de família dos 100 primeiros nematoides encontrados. A classificação por grupo trófico também foi feita para os mesmos 100 organismos classificados em famílias. A extrapolação das famílias e grupos tróficos foi feita para a amostra toda (CHELINHO et al., 2011).

A contagem e identificação foram feitas em um microscópio invertido com aumento de 100 e 200 vezes. A classificação das famílias foi realizadaconforme Goodey (1963) e, adicionalmente foi utilizada uma chave interativa elaborada por Tarjan et al (1977), disponível em <http://nematode.unl.edu/key/nemakey.htm>. Para a classificação por nível trófico os nematoides foram separados em bacteriófagos (BC), fungivoros (FV), fitoparasitas (FT) e predadores/onívoros (PO) de acordo com Yeates et al. (1993).

4.2.7 Análise estatística

Os dados de abundância total (número total de organimos recuperados por réplica), abundânciapor grupo trófico e número de famílias de cada solo foram submetidos a ANOVA *One-way* e as médias comparadas pelo teste de Dunnett a 5 % de significância. A mesma abordagem foi utilizada para verificar se houve efeitos da incubação dos nematoides no solo SR, através da comparação da comunidade inicial *vs* os dados do SR. E ainda para verificar se ocorreu efeito da incubação de nematoides oriundos de SR nos solos CHe e NVd, por meio da comparação dos resultados de SR com cada um dos solos subtropicais brasileiros. Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do programa estatístico Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

Adicionalmente utilizou-se analise de similaridade (ANOSIM) para verificar diferenças na estrutura da comunidade, comparando a estrutura de grupos tróficos e a composição das famílias nas doses de DLS testadas em relação ao controle. Para os casos onde ocorreram diferenças na estrutura da comunidade de nematoides utilizou-se analise de similaridade de porcentagens (SIMPER) para identificar quais

famílias ou grupos tróficos mais contribuíram para as diferenças encontradas. Tais análises foram desenvolvidas no software Primer versão 5.0 (CLARKE; GORLEY, 2001).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição da comunidade inicial

A comunidade de nematoides inoculada no início do teste era composta por 14 famílias divididas em quatro grupos tróficos.Essa comunidade inicial era predominantemente composta por nematoides fitoparasitas(51,7 %), seguidos de nematoides bacteriófagos (33,7%), conforme apresentado na Tabela 4.1.

Os resultados da comparação dos dados de abundância total, abundância por grupo trófico e número de famílias entre a comunidade inicial e os resultados do SR não apresentaram diferença estatística (P>0,05), mostrando que não ocorreu efeito da incubação em laboratório (Tabela 4.2).

Tabela 4.1– Composição e abundância relativa da comunidade inicial de nematoides oriundas de solo de Coimbra, Portugal. Médias ± desvio padrão.

GT*/ Familia	Abundância relativa (%)
Bacteriófagos (BC)	**33,7**
Panagrolamidae	19,3 ± 3,0
Rhabditidae	14,2 ± 4,4
Plectidae	1,0 ± 0,0
Fitoparasitas (FT)	**51,7**
Hoplolaimidae	31,6 ± 6,4
Thylenchidae	11,9 ± 4,2
Pratylenchidae	5,3 ± 2,0
Longidoridae	2,5 ± 2,1
Criconematidae	3,0 ± 1,4
Predadores/Onívoros (PO)	**7,1**
Dorylamidae	4,6 ± 1,5
Mononchidae	2,3 ± 0,8
Thricodoridae	1,3 ± 0,6
Fungívoros (FG)	**7,3**
Diphtherophoridae	5,1 ± 2,4
Apelenchidae	3,4 ± 2,1
Apelenchoididae	1,0 ± 0,0

* GT = Grupo trófico

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Tabela 4.2– Número de famílias, abundância total (Abund.) e abundância dos grupos tróficos bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG).Média ± desvio padrão.

	Nº de famílias	**Abund.**	**BC**	**FT**	**PO**	**FG**
Inicial[1]	10,2 ± 1,5	273,8 ± 22,2	92,0 ± 11,9	142,3 ± 22,2	19,4 ± 6,8	20,2 ± 9,7
SR[2]	9,3 ± 0,5	334,2 ± 31,9	177,3 ± 32,4	123,7 ± 21,4	20,1 ± 6,2	7,2 ± 6,4

[1]Comunidade inicial
[2]Comunidade do solo de referência
Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Comparação dos controles

A eficiência de inoculação de nematoides oriundos de solo de Portugal em testes com os solos brasileiros foi avaliada por meio da comparação direta entre os tratamentos controle dos solos CHe e NVd e o controle do SR, para as variáveis número total de nematoides, número por grupo trófico e número de famílias.

A abundância total de nematoides diferiram entre os controles dos solos brasileiros em relação ao SR (Tabela 4.3), sendo as reduções da ordem de 49,1 e 26,7 % para CHe e NVd, respectivamente. Reduções também foram observadas para abundância dentro dos grupos tróficos BC para o CHe e para o

grupo FT em ambos os solos.Essas reduções, no entanto, não interferiram nos resultados dos testes de efeito de doses de DSL, garantindo um grande número de organismos. Isso indica uma adaptação das comunidades de nematoides iniciais inoculadas em solos de diferente procedência e que isso é passível de ser realizado neste tipo de teste.

Tabela 4.3– Número de famílias, abundância total (Abund.) e abundância dos grupos tróficos bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG), entre os solos avaliados e o solo de referência.Média ± desvio padrão.

	Nº de famílias	**Abund.**	**BC**	**FT**	**PO**	**FG**
SR[1]	9,3 ± 0,5	334,2 ± 31,9	177,3 ± 32,4	123,7 ± 21,4	20,1 ± 6,2	7,2 ± 6,4
CHe[2]	8,8 ± 1,3	169,8 ± 31,6*	72,4 ± 14,3*	69,9 ± 13,6*	25,3 ± 15,9	2,2 ± 3,4
NVd[3]	9,0 ± 0,8	245,0 ± 46,8*	163,8 ± 33,6	54,3 ± 15,0*	19,2 ± 14,3	7,7 ± 6,8

* Diferença significativa (P≤0,05). Teste de Dunnett.
[1] Solo de referência
[2] Cambissolo Háplico eutrófico
[3] Nitossolo Vermelho distrófico
Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Efeito do DLS na abundância e diversidade dos nematoides

O número total de nematoides variou com as doses de DSL e apresentou comportamento diferente para os dois solos. Para o CHe a abundância foi reduzida com o aumento da dose de DLS aplicada ao solo, apresentando diferença significativa a partir da dose de 50 m^3 ha^{-1}.Por outro lado, a abundância de nematoides no NVd não foi afetada pelo aumento da dose de DLS, com aumento no número total de organismos nas doses mais elevadas (Tabela 4.5).

Na Tabela 4.4 ainda é possível verificar que número total de família também foi afetado pela presença de DLS nos solos, com efeitos mais pronunciados no CHe que apresentou reduções significativasa partir da dose de 50 m^3 ha^{-1}, enquanto no NVd as reduções só ocorreram a partir da dose de 150 m^3 ha^{-1}.

As doses de DLS alteraram a abundância dos nematoides dentro de cada grupo trófico. No CHe observou-se reduções em todos os grupos tróficos a partir da adição de 50 m^3 ha^{-1}, exceto para o FG (Tabela 4.6). No NVd o grupo PO foi diferente do controle já na dose de 50 m^3 ha^{-1}, no entanto devido a maior variabilidade entre as réplicas os grupos FT e FG apresentaram um comportamento não tão linear, nos quais

as diferenças ocorrem apenas na dose de 200 m^3 ha^{-1} para FT e de 100, 200 e 250 m^3 ha^{-1} para o grupo FG (Tabela 4.5).

Tabela 4.4– Abundância total e número de famílias, para o Cambissolo Háplico eutroférrico (CHe) e Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd).Média ± desvio padrão.

Dose (m^3 ha^{-1})	Abundância total		Número de famílias	
	CHe	**NVd**	**CHe**	**NVd**
0	169,8 ± 31,6	245,0 ± 46,8	8,8 ± 1,3	9,0 ± 0,8
50	44,8 ± 5,7*	192,6 ± 25,0	5,3 ± 1,9*	8,3 ± 1,9
100	17,0 ± 6,2*	278,8 ± 14,9	4,0 ± 0,8*	6,8 ± 1,3
150	3,5 ± 1,7*	277,8 ± 50,1	1,3 ± 0,5*	6,5 ± 2,1*
200	5,0 ± 1,4*	422,3 ± 76,3	2,3 ± 1,0*	5,3 ± 1,0*
250	6,3 ± 3,3*	461,0 ± 152,3	2,5 ± 1,3*	5,3 ± 0,5*

* Diferença significativa ($P \leq 0,05$). Teste de Dunnett.
Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Os diferentes efeitos do uso de DLS na abundância e diversidade de organismos da comunidade de nematoides entre os dois solos avaliados está diretamente relacionado as características físico-químicas do CHe e NVd. Uma das mais importantes características é o teor de MOS, de acordo com Kobetičová (2007) pode ocorrer um decréscimo na sensibilidade dos nematoides devido ao maior conteúdo de

MOS. O solo NVd que apresentou menos efeito a comunidade de nematoides tem o conteúdo inicial de MOS igual a 4,7 % enquanto que o CHe tinha 1,3 % (Tabela 2.2 – Capítulo 2) podendo isso ter causado os efeitos encontrados, mesmo quando foi feita a aplicação de grandes quantidades de material orgânico via DLS.

A textura do solo é outra característica que pode influenciar a presença de nematoides, já que existe comprovada preferência desses organismos por solos com textura mais arenosa (KLEYNHANS, 1999), pois o tamanho de partícula e diâmetro de poro favorece a aeração e drenagem destes solos. No entanto os efeitos das doses de DSL sobre a comunidade de nematoides foram maiores no solo mais arenoso (CHe = 31 % argila) que no argiloso (NVd = 33 % argila). Poucos trabalhos têm relacionado as características dos solos com o comportamento dos nematoides, sendo encontradas discrepâncias entre os organismos estudados, como por exemplo para nematoide da espécie *Caenorhabditis elegans*são conhecidos por tolerar uma vasta gama de características como argila (2,5 – 18 %), areia (18,7 – 70,9 %), matéria orgânica (2,5 – 77,1 %) conforme descrito por Höss et al. (1999). No CHe, a textura arenosa pode ter permitido maior disponibilidade decompostos tóxicos que compõem a matriz do DLS, como

metais, do que a drenagem e aeração, já que a umidade dos solos foi corrigida para a mesma faixa.

Tabela 4.5– Abundância de nematoides por grupos tróficos: bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG), em Cambissolo Haplico eutroférrico (CHe) e Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd).Média ± desvio padrão.

Dose (m^3 ha^{-1})	BC	FT	PO	FG
		CHe		
0	72,4 ± 14,3	69,9 ± 13,6	25,3 ± 15,9	2,2 ± 3,4
50	11,0 ± 2,3*	8,7 ± 3,8*	0,5 ± 1,1*	0,3 ± 0,5
100	2,2 ± 1,0*	0,9 ± 1,5*	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0
150	0,1 ± 0,1*	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0
200	0,2 ± 0,1*	0,1 ± 0,1*	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0
250	0,2 ± 0,2*	0,2 ± 0,3*	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0
		NVd		
0	67,3 ± 10,4	22,3 ± 4,5	7,5 ± 4,5	3,0 ± 2,2
50	72,3 ± 4,6	20,5 ± 3,9	5,5 ± 1,3*	1,8 ± 1,7
100	82,0 ± 3,7	15,8 ± 3,1	2,3 ± 1,7*	0,0 ± 0,0*
150	80,5 ± 7,4	16,5 ± 4,5	1,8 ± 1,3*	1,3 ± 2,5
200	86,5 ± 5,7	12,5 ± 6,0*	0,8 ± 1,0*	0,3 ± 0,5*
250	83,8 ± 6,0	16,0 ± 6,2	0,0 ± 0,0*	0,3 ± 0,5*

* Diferença significativa análise de similaridade de *Bray Curtis* ANOSIM($P \leq 0,05$).

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Outro fator importante é o acumulo de metais causado pelo uso de elevadas doses de DLS. Korthals et al. (1996) relataram que a presença de 134 e 151 mg de Cu kg^{-1} de peso seco de solo ocasionou efeitos significativos sobre a abundância de nematoides.No presente estudo foram estimados valores de 0,33 mg de Cu kg^{-1}de CHe na dose de 50 m^3 ha^{-1} e 1,95 mg de Cu kg^{-1} de NVd para a dose de 150 m^3 ha^{-1}. Essas doses causaram redução no número de famílias e abundância total no CHe e redução no número de famílias no NVd, o que pode estar relacionado aos teores de Cu, mesmo que em baixas concentrações. Duarte (2011) também relatou redução na abundância total de uma comunidade nativa de nematoides com a presença de 100 mg de Cu ou Zn kg^{-1} de solo, sendo que o Cu foi mais tóxico que o Zn. Outros trabalhos também relatam o efeito de metais sobre a abundância total de nematoides (BAKONYI et al., 2002; SÁNCHES-MORENO et al., 2005; CHEN et al., 2009).

A utilização de resíduos orgânicos para o controle de nematoides parasitas tem sido estudada ao longo dos anos, uma vez que um grande número de espécies de nematoides fitófagos, considerados pragas agrícolas. Trabalhos como de Araújo; Gentil (2010) demostraram redução da reprodução de *Meloidogyne* spp. com a aplicação de lodo de curtume ao solo

ou com aplicação de vinhaça (PEDROSA et al., 2005).Neste sentido, Araújo; Bettiol (2005) observaram redução da reprodução de *M. javanica* após a aplicação de lodo de esgoto. Compostos orgânicos como resíduo de cervejaria também promoveram redução na reprodução de nematoides da espécie *M. hapla*,conforme relatado por Chen et al. (2000). De acordo Pereira et al. (1996) e Rodríguez–Kábana (1986) esses efeitos estão relacionados ao fato de que resíduos orgânicos quando introduzidos ao solo sofrem intensa mineralização com liberação de NH_4^+, o que pode proporcionar efeito nematicida. Já para Silva (2009) esses efeitos estão associados a proliferação de inimigos naturais dos nematoides.

O uso de DLS no CHe afetou a composição de famílias de nematoides, resultados da análise de similaridade ANOSIM ($P<0,05$) mostraram significativas alterações desde a dose de 50 m^3 ha^{-1} quando comparadas com o controle (Tabela 4.6). A redução na abundância absoluta das famílias Rhabditidae (bacteriófagos) e Hoplolaimidae (fitoparasitas) fez com que essas duas famílias fossem as que mais contribuíram para as diferenças na estrutura de famílias com aproximadamente 28 e 20 % de contribuição, respectivamente, em todas as doses de

acordo com análise de similaridade percentual (SIMPER – $P \leq 0,05$).

No NVd as diferenças na composição da família foram encontradas nas doses de 100, 200 e 250 m^3 ha^{-1} (ANOSIM - $P \leq 0,05$) (Tabela 4.7). A família com maior percentual de contribuição para as diferenças encontradas foi Rhabditidae com percentuais de contribuição de 56,7 – 69,9 e 73,4 % para cada uma das doses, respectivamente (SIMPER - $P \leq 0,05$). Diferentemente do encontrado por Bongers; Bongers (1997) que considerou a família Rhabditidae como tolerante ao estresse causado pela presença de metais, os resultados aqui apontam para sensibilidade dessa família, o que corrobora com resultados de Duarte (2011), que encontrou redução na abundância de Rhabditidae com a presença de Cu e Zn no solo, sendo o segundo menos tóxico.

Além dos efeitos da adição de metais via DLS o aporte de compostos nitrogenados ocorre, uma vez que esse resíduo é rico em N, sendo assim a formação de compostos como amônia pode ter causado a alteração na comunidade de nematoides, Tamis (1986) relatou a redução no número de nematoides bacteriófagos, em especial da família Rhabditidae, após a aplicação de cama de aves, resíduo com elevada concentração

de amônio, e associou essa redução populacional de Rhabditidae com a presença deste composto.

A abundância relativa de cada grupo trófico foi comparada pela análise de similaridade de *Bray Curtis* ANOSIM ($P \leq 0,05$) para avaliar se ocorreu diferença na representatividade de cada grupo trófico e verificar se a utilização de DLS pode causar alterações na funcionalidade estrutural da comunidade de nematoides. Através da análise de SIMPER foi possível identificar quais grupos tróficos foram mais influenciados pela aplicação de DLS.

Os resultados mostram que apenas em CHe foram encontradas diferenças da representatividade dos grupos entre os tratamentos conforme pode ser verificado na Tabela 4.8. Desde a dose de 100 m^3 ha^{-1} houve diferença, e essa ocorreu pelo gradativo aumento da representatividade dos nematoides do grupo do BC e FT. Na Tabela 4.8 estão apresentados a abundância relativa dos grupos trófico e os valores percentuais de contribuição dos grupos BC e FT para as diferenças entre os tratamentos e o controle.

Tabela 4.6– Composição das famílias de nematoides expressa pela abundância (número total de organismos por família)em doses crescentes de dejeto líquido suíno por tratamento do adicionadas a Cambissolo Háplico eutroférrico.

	0	50	100	150	200	250
			(m^3 ha^{-1})			
Bacteriófagos						
Panagrolamidae	92	16	3	0	0	0
Rhabditidae	197	28	6	1	1	1
Fitoparasitas						
Hoplolaimidae	140	17	1	0	0	0
Thylenchidae	60	4	1	0	0	0
Pratylenchidae	67	14	1	0	0	1
Criconematidae	13	0	0	0	0	0
Predadores/Onívoros						
Dorylamidae	16	1	0	0	0	0
Mononchidae	64	1	0	0	0	0
Thricodoridae	21	0	0	0	0	0
Fungívoros						
Diphtherophoridae	7	0	0	0	0	0
Apelenchidae	1	1	0	0	0	0

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Tabela 4.7– Composição das famílias de nematoides expressa pela abundância total de organismos por família por tratamento do Nitossolo Vermelho distroférrico

	0	50	100	150	200	250
			(m^3 ha^{-1})			
Bacteriófagos						
Panagrolamidae	116	101	87	98	187	164
Rhabditidae	539	457	827	805	1287	1397
Plectidae						
Fitoparasitas						
Hoplolaimidae	81	71	75	84	72	125
Thylenchidae	64	47	48	52	87	81
Pratylenchidae	70	38	47	41	39	69
Longidoridae	2	0	0	0	0	0
Criconematidae	0	2	6	0	0	0
Predadores/Onívoros						
Dorylamidae	30	13	17	3	13	0
Mononchidae	31	25	9	7	0	0
Thricodoridae	16	4	0	9	0	0
Fungívoros						
Diphtherophoridae	25	10	0	2	0	0
Apelenchidae	6	4	0	9	5	7

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Estudos com metais e alterações na estrutura trófica da comunidade de nematoides são ligeiramente mais comuns que estudos avaliando a composição de famílias e de acordo com

Pen-Mouratov et al. (2010) os metais causam alterações na composição trófica de nematoides. Os resultados da literatura apontam redução na diversidade de grupos e aumento na representatividade de nematoides bacteriófagos, como no caso de Duarte (2011) que encontrou maior proporção deste grupo em diferentes ensaios com Cu e Zn. Por outro lado a presença de metais não causou efeito sobre FT; Chen et al. (2009) em estudo com metais encontrou maior proporção de BC seguido de FT. A redução na diversidade de nematoides em solos contaminados com Zn foi encontrada por Popovici; Korthals (1995); Popovici (1994) em solos contaminados com Cu e Pb, mas a representatividade de BC aumentou de 50 para 72 % enquanto que PO foram extintos das áreas estudadas; a extinção do grupo PO também foi apresentada por Duarte (2011) para contaminação com Cu.

Resultados similares aos relatados acima e aos encontrados para CHe nesse trabalho foram apresentados por Weiss; Larink (1991) onde avaliaram a diferença na representatividade dos grupos tróficos de nematoides em áreas com aplicação de lodo de esgoto e lodo de esgoto + metais pesados. Nos resultados por eles apresentados a contribuição do grupo BC aumentou para os dois tipos de contaminação estudadas em comparação com o controle. Esse mesmo

aumento na porcentagem de representação de BC foi relatado por Bulluck III et al. (2002) em solos com aplicação de dejeto de suínos. Tais resultados foram relacionados com a maior resistência desde grupo na presença de fonte de alimento proveniente do aporte de material orgânico.

Tabela 4.8– Abundância relativa dos grupos tróficos bacteriófago (BC), fitoparasitas (FT), predadores/onívoros (PO) e fungívoros (FG) e valores de contribuição para diferença entre tratamentos para o Cambissolo Háplico eutroférrico.Média ± desvio padrão.

Dose	**% BC[a]**	**FT**	**% FT[a]**	**PO**	**FG**
0	-	41,3 ± 3,7	-	14,3 ± 7,5	1,5 ± 2,4
50	-	42,0 ± 10,6	-	1,9 ± 3,8	0,9 ± 1,9
100	48,3	18,8 ± 19,5*	33,7	1,8 ± 3,6*	0,0 ± 0,0*
150	50	8,3 ± 16,7*	33,8	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0*
200	46,7	25,8 ± 21,1*	29,7	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0*
250	39,3	36,6 ± 30,3*	36,7	0,0 ± 0,0*	0,0 ± 0,0*

[a]Percentual de contribuição de acordo com análise de similaridade – SIMPER ($P \leq 0,05$).
*Diferença significativa análise de similaridade de *Bray Curtis* ANOSIM($P \leq 0,05$).
Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Porém o aumento na representatividade do grupo de bacteriófagos é um resultado esperado já que o aporte de

material orgânico estimula o crescimento bacteriano que por sua vez caracteriza-se por ser a principal fonte de alimento do grupo de nematoides BC. Esse efeito é relatado por Yeates; Bongers (1999) em uma revisão sobre nematoides em agroecossistemas.

Com base nesse estudo foi possível entender que perturbações do ambiente, como o uso de fertilizantes orgânicos, como o dejeto líquido de suínos levam a uma oscilação da abundância e composição de famílias da nematofauna e favorece o predomínio de nematoides bacteriófagos. Os resultados mostram, também, que a combinação da estrutura de famílias e distribuição relativa de grupos tróficos de nematoides do solo foi melhor que a utilização apenas da abundância dos organismos para avaliar o efeito de dejeto líquido de suínos no solo. Porém, são necessários mais estudos, com essa abordagem, para obter-se uma avaliação sistemática de efeitos em nematoides e poder utilizar essa como uma ferramenta da ecotoxicologia terrestre.

4.4 CONCLUSÕES

Aplicações de dejeto líquido de suínos causaram reduções na abundância de nematoides para Cambissolo

Háplico eutroférrico e aumentosno Nitossolo Vermelho distroférrico, demonstrando que solos com diferentes características fisico-químicas resultam em efeitos diferenciados na comunidade de nematoides.

Alteração na composição das famílias também ocorreram com a adição de dejeto líquido de suínos. A família Rhabditidae foi que apresentou redução mais significativa para ambos os solos estudados.

Nematoides bacteriófagos e fitoparasitas passaram a ser os grupos dominantes após a aplicação de dejeto líquido de suínos em um Cambissolo Háplico eutroférrico. Já a aplicação deste resíduo em Nitossolo Vermelho distroférrico não causou alteração na representatividade dos grupos tróficos.

Alterações encontradas na comunidade de nematoides apontaram efeitos tóxicos do uso de dejeto líquido de suínos demonstrando que esse grupo de organismos é passível de utilização em ensaios ecotoxicológicos.

Referências

ABRANTES, I. M.; MORAIS, de O.; PAIVA, M. M. N. de F. R.; SANTOS, M. S. N. de A. **Análise nematológica de solos e plantas**. Ciência Biológica: Portugal. p. 139–155. 1976.

ÁLVAREZ, T.; FRAMPTON, G. K.; GOULSON, D. Epigeic Collembola in winter under organic, integrated and conventional farm management regimes. **Agriculture, Ecossystems and Environmental**, sl, v. 83, p. 95-110, 2001.

ARAÚJO, F. F.; BETTIOL, W. Supressividade dos nematoides *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em soja por adição de lodo de esgoto ao solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 806-812, 2005.

ARAÚJO, F. F.; GENTIL, G. M. Ação do lodo de curtume no controle de *Melaidogyne* spp. e na nodulação em soja. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, p. 629-632, 2010.

BAKONYI, G., NAGY, P.; KÁDÁR, I. Long-term effects of heavy metals and microelements on nematode assemblage. **Toxicology Letters**, sl. v. 140, p. 391-401, 2002.

BONGERS, T.; BONGERS, M. Functional diversity of nematodes. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 10, p. 239-251, 1997.

BULLUCK III, L. R.; BARKER, K. R.; RISTAINO, J. B. Influences of organic and synthetic soil fertility amendments on nematode trophic groups and community dynamics under tomatoes. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 21, n. 3, p. 233-250, 2002.

CHELINHO, S.; DOMENE, X.; ANDRÉS, P.; NATAL DA LUZ, T; NORTE, C.; RUFINO, C.; LOPES, I.; CACHADA, A.; ESPÍNDOLA, E.; RIBEIRO, R.; DUARTE, A. C.; SOUSA, J. P. Soil microarthopod community testing: A new approach to increase the ecological relevance of effect data for

pesticide risk assessment. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 83, p. 200-209, 2014.

CHELINHO, S.; SAUTTER, K. D.'CACHADA, A.; ABRANTES, I.; BROWN, G.; DUARTE, A. C.; SOUSA, J. P. Carbofuran effects in soil nematode communities: Using trait and taxonomic based approaches. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Paris, v. 74, p. 2000-2012, 2011.

CHEN, G.; QUIN, J.; SHI, D.; ZHANG, Z.; JI, W. Diversity of soil nematodes in areas polluted with heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Lanzhou, China**.** **Environmental Management**, sl. v. 44, p. 163-172, 2009.

CHEN, J.; ABAWI, G. S.; ZUCHERMAN, B. M. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii* and *Streptomyces costaricanus* with organic amendment against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. **Journal of Nematology**, sl, v. 32, p. 70-77, 2000.

CHEN, Y.; LI, Q.; CHEN, Y.; LU, Z-X.; ZHU, X. Ant biodiversity and bio-indicatrs in land management of lac insect agroecosystem in Southwestern China. **Biodiversity and Conservation**, sl. v. 20, p. 3017-3018, 2011.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. **Software PRIMER v5**. Plymouth. PRIMER-E, UK, 2001.

COLEMAN, D.; WALL, D. Fauna: the engine for microbial activity and transport. In: PAUL, E. (Ed.) **Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry.** New York: Academic Press, 2007, p. 163–191.

DUARTE, J. O. **Toxicidade de produtos fitofarmacêuticos e metais sobre uma comunidade de nemátodes do solo**. 2011.

85 f. Dissertação de Mestrado em Ecologia – Universidade do Minho, Braga, 2011.

EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues. **EFSA-4176**: Scientific Opinion on the effect assessment for pesticides on sediment organisms in edge-of-field surface water. Parma, Italy. 2015. 145p.

FRAMPTON, G. K.; VAN DEN BRINK, P. J.; GOULD, P. J. L. Effects of spring precipitation on a temperate arable collembolan community analysed using Principal Response Curves. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 14, p. 231-248, 2000.

GILREATH, J. P.; SANTOS, B. M.; GILREATH, P. R.; JONES, J. P.; NOLING, J. W. Efficacy of 1,3-dichloropropene plus chloropicrin application methods in combination with pebulate and napropamide in tomato. **Crop Protection**, Guildford, v. 23, p. 1187–1191, 2004.

GOODEY, T. **Soil and Freshwater Nematodes**. Londres: Methuenand Co LTD. 1963.

HÖSS, S.; HAITZER, M.; TRAUNSPURGER, W.; STEINBERG, C. E. W. Growth and fertility of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in unpolluted freshwater sediments: response to particle size distribution and organic content. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 18, p. 2921–2925, 1999.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 23611-3:**Soil Quality – Sampling of soil invertebrates – Part 3: sampling and soil extraction of enchytraeids, Genebra, 2007.

KLEYNHANS, K. P. N. **Collecting and preserving nematodes.** Petroria: ARC. 52p. 1999.

KOBETIČOVÁ, K. **Laboratory tested of toxicity with enchytraeids**. 2007. 45F. Tese de doutorado em Ciência – Universidade Masaryk, Brno, 2007.

KORTHALS, G. M.; ALEXIEV, A. D.; LEXMOND, T. M.; KAMMENGA, J. E.; BONGERS, T. Long-term effects of copper and pH in the nematode community in an agroecosystem. **Environmental toxicology and chemistry**, New York, v. 15, p. 979–985, 1996.

LAVELLE, P. Faunal activities and soil processes: adaptive strategies that determine ecosystem function. **Advances in Ecological Research**, sl. v. 27, p. 93-132, 1997.

MULDER, C.; SCHUTEN, A. L.; HUND-RINKE, K.; BREURE, A. M. The use of nematodes in ecological soil classification and assessment concepts. **Ecotoxicollogy and Environmental Safety**, Paris, v. 62, p. 278-289, 2005.

MURCHIE, A. K.; BLACKSHAW, R. P.; GORDON, A. W.; CHRISTIE, P. Responses of earthworm species to long-term applications of slurry. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 96, p. 60-67, 2015.

NIVA, C. C.; RÖMBKE, J.; SCHMELZ, R. M.; BROWN, G. G. Enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida). In: MOREIRA, F.M. S.; JEROEN-HUISING, E.; BIGNELL D. E. (Org.). **Manual de Biologia dos Solos Tropicais Amostragem e Caracterização da Biodiversidade**. 1ed. Lavras: UFLA, 2010, p. 351-361.

PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; ALBUQUERQUE, P. H. S.; CUNHA, A. C. Supressividade de nematóides em cana-de-açucar por adição de vinhaça ao solo. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, sl. v. 9, p.197-201, 2005.

PEN-MOURATOV, S.; SHUKUROV, N.; STEINBERGER, Y. Soil free-living nematodes as indicators of both industrial pollution and livestock activity in Central Asia**. Ecological Indicators**, sl. v. 10, p. 955-967, 2010.

PEREIRA, J. C. R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; CHAVES, G. M. Compostos orgânicos no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual em Proteção de Plantas**, sl. v. 4, p. 353-379, 1996.

POPOVICI, I. Nematodes as indicators of ecosystem disturbance due to pollution. **Studia University Babes−Bolyai**, v. 37, p. 15–27, 1994.

POPOVICI, I.; KORTHALS, G. Soil nematodes used in the detection of habitat disturbance due to industrial. **Studia University Babes−Bolyai**,v. 38, p. 37-41, 1995.

RODRIGUEZ-KABANA, R. Organic and inorganic amendments to soil as nematode supressants. **Journal of Nematology**, sl. v. 18, p. 129-135, 1986.

SÁNCHEZ-MORENO, S.; CAMARGO, J.; NAVAS, A. Ecotoxicological assessment of the impact of residual heavy metals on soil nematodes in the Guadiamar River Basin (Southern Spain). **Environmental Monitoring and Assessment**, sl. v. 116, p. 245–262, 2005.

SILVA, K. K. B. **Efeitos da irrigação com esgoto tratado sobre o Sistema solo-planta (milho) e indução da supressividade a doenças.** 2009. 88 f. Tese de doutorado em engenharia civil – Universidade de Pernambuco, Recife, 2011.

SOCHOVÁ, I.; HOFMAN, J.; HOLOUBEK, I. Using nematodes in soil ecotoxicology. **Environmental International**, sl, v. 32, p. 374-383, 2006.

STATSOFT. **STATISTICA 7.0 (data analysis software system)**. [s.l]. 2004. Disponível em: <http//:www.statsoft.com> Acesso em: 15 dez. 2015.

TAMIS, W. Nematoden in een ammonium depositie gradient in een groevdennenbos. **Hydrobiologisch Adviesbureau Klink bv**, Wageningen, v. 23, p. 27, 1986.

TARJAN, A. C.; ESSER, R. P.; CHANG, S. L. Interactive diagnostic key to plant parasitic, freeliving and predaceous nematodes. **Journal WPCF**, 1977. Disponível em: <http://nematode.unl.edu/key/nemakey.htm> Acesso em 20 de nov. de 2015.

VAN RAIJ, B. VAN.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, Campinas: Instituto Agronômica, 2001. 400p.

VIKETOFT, M. Effects of six grassland plant species on soil nematodes: a glass house experiment. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, p. 906–915, 2008.

WEISS, B.; LARINK, O. Influence of sewage sludge and heavy metals on nematodes in an arable soil. **Biology and Fertility Soils**, sl. v. 12, p. 5–9, 1991.

WIESCHER, P. T.; PEARCE-DUVET, J. M. C.; FEENER, D. H. Assembling an ant community: species functional traits reflect environmental filtering. **Oecologia**, Berlim, v. 169, p. 1063-1074, 2012.

YEATES, G. W.; BONGERS, T.; DEGOEDE, R. G. M.; FRECKMAN, D. W.; GEORGIEVA, S. S. Feeding habits in soil nematode families and genera: an outline for soil

ecologists. **Journal of Nematology**, College Park, v. 25, p. 315–331, 1993.

YEATES, G. W.; BONGERS, T. Nematode diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdan, v. 74, p. 113-135, 1999.

ZHAO, J.; NEHER, D. Soil nematode genera that predict specific types of disturbance. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 64, p.135–141, 2013.

SECÇÃO 2. FASE DE ENSAIOS EM CONDIÇÕES DE SEMI-CAMPO (em Terrestrial model ecosystems – TMES)

CAPÍTULO 5

Efeito de doses de dejeto líquido suíno e da água presente no dejeto sobre a fauna edáfica de solos subtropicais em condições de semi-campo

Resumo

Avaliações da qualidade ambiental dos corpos receptores de resíduos tem recebido cada vez mais maior atenção, especialmente em se tratando de resíduos orgânicos. O potencial de uso de dejeto líquido de suínos (DLS) como fertilizante agrícola tem sido uma alternativa para seu descarte, mas sua aplicação inadequada pode oferecer riscos ecotoxicológicos no solo. Além do uso inadequado deste resíduo ainda não há trabalhos que relatem os efeitos que a água proveniente deste material tem sobre a biota dos solos. Este estudo objetivou avaliar com o uso de *Terrestrial Models Ecosystems* (TMEs) determinar o efeito do aporte momentâneo de água no sistema solo via DLS utilizando as doses de 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1} de dejeto e água sobre a estrutura da comunidade edáfica nativa de um Cambissolo Húmico alumínico e um Nitossolo Vermelho distroférrico. Os resultados da composição da fauna, riqueza de grupos, abundância de organismos foram

avaliados através de PCoA, PERMANOVA e SIMPER. Os resultados de análises químicas e físicas foram submetidos a análises de GLMM. Os resultados do trabalho mostraram que o aporte de grande volume de água via DLS não causa efeitos na estrutura da comunidade edáfica dos solos avaliados.

Palavras-chave: adubação orgânica, comunidade edáfica nativa, dejeto líquido de suínos.

Abstract

Reviews of the environmental quality of the waste receiving bodies has received increasingly more attention, especially in the case of organic waste. The potential use of pig slurry (DLS) as agricultural fertilizer has been an alternative to its disposal, but their improper application can provide ecotoxicological risks on the ground. In addition to the inappropriate use of this waste there is still no studies that report the effects that water from this material has on the biota of the soil. This study aimed to evaluate the use of Terrestrial Models Ecosystems (TMEs) determine the effect of momentary water supply in the soil system via DLS using the doses of 20, 50 and 150 m^3 ha^{-1} of manure and water on the structure of soil community native of a Entisol and Nitosol. The faunal composition of results, wealth groups, plenty of bodies and were evaluated by PCoA, PERMANOVA and SIMPER. The results of chemical and physical analyzes were subjected to analysis GLMM. Our results showed that the intake of large amounts of water via DLS has no effect on the structure of soil community of evaluated soil.

Keywords:native edaphic community, eco morphotypes springtails, pig slurry.

5.1 INTRODUÇÃO

Por definição a análise de risco ecológico (ARE) é um processo de coleta, organização e análise de dados ambientais para estimar a probabilidade de efeitos adversos sobre receptores ecológicos (espécies, populações, comunidades) ou sobre ecossistemas devido a uma contaminação. A ARE pode ter duas diferentes abordagens, análises prospectivas e análises retrospectivas, as quais diferem entre si, basicamente por serem realizadas antes (prospectiva) ou após (retrospectiva) o evento poluidor ter ocorrido (VAN GESTEL, 2012).

Análises de risco prospectivas têm como ferramenta avaliar possíveis efeitos associados ao uso de contaminantes, nesse caso, no solo, objetivando regulamentar e definir níveis seguros de introdução do contaminante no meio. Esse tipo de análise utiliza, portanto, substâncias testes e ensaios laboratoriais ou de semi-campo que devem levar em consideração os receptores ecológicos e a dinâmica do contaminante no meio, para a obtenção de respostas mais realistas. Em geral os ensaios desenvolvidos para esse tipo de abordagem, de análise de risco, levam em consideração efeitos morfológicos e fisiológicos em ensaios desenvolvidos em laboratório, com organismos e protocolos padronizados que

são, então, extrapolados para a comunidade (VAN GESTEL, 2012).

Para permitir a avaliação dos efeitos tóxicos, em uma abordagem prospectiva, pode-se lançar mão de estudos em mesocosmos, neste caso em TMEs (*Terrestrial Model Ecossystems)*. Os TMEs buscam simular processos e interações dos componentes do ecossistema podendo fornecer informações mais completas que os testes ecotoxicológicos padrões de laboratório, permitindo que os serviços prestados por diferentes níveis da cadeia trófica sejam considerados durante a avaliação experimental (VAN GESTEL, 2012).

Essa metodologia pode ser amplamente utilizada para avaliações de risco ecológico mesmo que sua complexidade faça com que ainda não sejam apropriados para rotinas laboratoriais. Tais sistemas têm como objetivo avaliar não apenas os efeitos, mas também a recuperação do ecossistema, essencial para a manutenção dos processos biológicos no solo e o provisionamento dos serviços ecossistêmicos associados, visando o uso sustentável dos recursos naturais.

As funções exercidas pela fauna do solo estão diretamente relacionadas aos serviços prestados pelos

ecossistemas, para que o provisionamento destes serviços ocorra é necessária a preservação da biodiversidade, incluindo, a biodiversidade edáfica. Sendo assim, compreender o comportamento de espécies, grupos ou populações específicas nos ambientes é de suma importância para a tomada de decisão sobre a proteção dos serviços de determinados locais.

Diversas espécies podem ser utilizadas como indicadoras de estresse nos mais diferentes ambientes, no entanto abordagens que utilizam indicadores de alteração de comunidades edáficas têm sido muito aceitas e utilizadas para a obtenção de respostas e estabelecimento de modelos ecológicos. As respostas em nível de comunidade são medidas através da abundância, diversidade e distribuição dos organismos.

Dentro dessa abordagem, de alterações não apenas em nível de organismos, alguns grupos específicos têm recebido grande atenção, devido a sua ampla dispersão em diversos ambientes e por serem capazes de responder de forma rápida e significativa às alterações ou aos estresses impostos aos ambientes em que estão inseridos. Como exemplo pode-se citar os colêmbolos. No entanto, a classificação taxonômica destes organismos é dispendiosa e requer treino e muito material humano para conseguir identificar as espécies (CARVALHO,

2012). Como forma de contornar essa dificuldade taxonômica estudos têm desenvolvido índices funcionais para a classificação de colêmbolos (VANDEWALLE et al., 2010), os quais levam em conta adaptações dos organismos no ecossistema.

Trabalhos sobre alterações na fauna edáfica, ocasionada pelo uso de dejetos líquido de suínos, podem ser encontrados na literatura (ANDRÉS; DOMENE, 2005; DOMENE et al., 2007; ALVES et al., 2008; MURCHIE et al., 2015; SEGAT et al., 2015). Porém, existe ainda a necessidade de entender se a alteração na fauna é causada pela presença de compostos tóxicos no dejeto de suíno (presença de metais Cu, Zn, antibióticos, nutrientes) ou pelo aporte momentâneo de grandes volumes de água durante a aplicação deste resíduo no solo. Na literatura não são encontrados trabalhos avaliando o efeito da água do dejeto de suínos na fauna do solo.

Com base na possibilidade de utilização de TMEs para análises de toxicidade e na importância da fauna edáfica como indicadora, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de doses de DLS sobre a fauna do solo em condições de semi-campo, utilizando para isso modelos terrestres de ecossistemas

(Terrestrial Models Ecosystemas - TMEs) e avaliar se estes efeitos estão relacionados a quantidade de água aplicada via dejeto líquido de suínos no solo e para entender o efeito que o grande volume de água pode causar na estrutura da comunidade do solo.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Dejeto líquido de suínos

A coleta do dejeto líquido de suínos (DLS) foi realizada diretamente da baia na unidade produtora de suínos de terminação da EMBRAPA Suínos e Aves. Anteriormente ao uso esse material passou por um processo de estabilização química por 120 dias como recomendado pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFRS/SC, 2004).

A caracterização físico-química do DLS foi feita segundo a metodologia de van Raij (2001) e o percentual de carbono e nitrogênio total do solo foram analisados pelo método de combustão total utilizando o analisador elementar LECO-CN 2000. Na Tabela 2.1 (Capítulo 2) estão apresentadas as características físico-químicas do DLS.

5.2.2 Doses

As doses utilizadas para os dois solos foram definidas de acordo com os resultados obtidos nos experimentos descritos nos Capítulos 2 e 3. Para o desenvolvimento deste experimento foram escolhidas as doses de 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}. A escolha de tais doses está baseada nos resultados a seguir:

EC_{50} para colêmbolos – CHe 15,3 m^3 ha^{-1} (14,3 – 16,4 m^3 ha^{-1})

NVd 15,8 m^3 ha^{-1} (12,7 – 19,0 m^3 ha^{-1})

EC_{50} para minhocas – CHe 112,0 m^3 ha^{-1} (68,4– 133,4 m^3 ha^{-1})

NVd não foi possível calcular

EC_{50} para enquitreídeo – CHe 17,7 m^3 ha^{-1} (10,8 – 24,5 m^3 ha^{-1})

NVd 45,0 m^3 ha^{-1} (30,2 – 59,9 m^3 ha^{-1})

EC_{50} para ácaros – CHe 92,5 m^3 ha^{-1} (73 - 112 m^3 ha^{-1})

NVd 82,6 m^3 ha^{-1} (65,3 – 99,9 m^3 ha^{-1})

5.2.3 Áreas de coleta de TMEs

Duas diferentes áreas foram selecionadas para realizar a coleta dos TMEs. A primeira delas em um Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd), localizada no município de Concórdia, SC,

na área experimental da Embrapa Suínos e Aves (27.068702, -52.623913). A área escolhida era utilizada em um sistema de Integração Lavoura-Pecuária, e não tinha histórico de uso de dejeto líquido de suínos nos últimos 10 anos. No momento da coleta essa área estava sendo utilizada para o cultivo de aveia (*Avena sativa*)

A segunda área escolhida está localizada no município de Lages, SC (-27.311710, -51.990814) e pertence a uma propriedade produtora de leite, durante a coleta essa área estava sendo cultivada com pastagens de inverno (*Avena sativa* + *Lolium multiflorum*). Da mesma maneira que a primeira essa área é utilizada para um sistema de Integração Lavoura-Pecuária, sem uso de dejeto líquido de suínos. O solo desta área é um Cambissolo Humico alumínico (CHa) (-27.765607, -50.285365). A análise físico-quimica dos solos está apresentada na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Atributos físico-químicos dos solos

Determinações	**CHa**	**NVd**
CTC[a]	7,1	19,1
pH(H_2O)	5,4	5,5
Matéria Orgânica (%)	2,5	4,7
Fósforo (mg dm^{-3})	2,4	6,8
Potássio (mg dm^{-3})	135,0	352,7
Cálcio (mmolc dm^{-3})	0,6	82,0
Magnésio (mmolc dm^{-3})	34,0	49,0
H+Al (mmolc dm^{-3})	33,0	50,0
Cobre (mg dm^{-3})	4,3	15,7
Zinco (mg dm^{-3})	0,9	20,0
Ferro (mg dm^{-3})	278,0	201,0

[a] Capacidade de Troca Catiônica
Fonte: produção do próprio autor, 2016.

5.2.4 Metodologia de coleta

Para cada uma das áreas foram coletados 72 TMEs os quais se caracterizam por serem amostras de solo com estrutura preservada com um tamanho de 40 cm de altura e diâmetro de 17,5 cm. A coleta foi realizada com o auxílio de uma retroescavadeira para introduzir o amostrador + tubo de PVC no solo e remover-los do solo. O tubo de PVC contendo ao

monólitofoi retirado do amostrador e levado para o laboratório de Ecologia do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias, UDESC. O esquema da coleta está detalhado na Figura 5.1.

5.2.5 Tratamentos e delineamento estatístico

Os tratamentos constituíram da combinação de cada um dos solos com as três doses de DLS (20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}), um tratamento controle (sem dejeto e sem água) e três doses de água (20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}) adicionados aos TMEs. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado.

Para o controle e as doses de 20 e 50 m^3 ha^{-1} de dejeto foram utilizadas quatro repetições, para a dose de 150 m^3 ha^{-1} de dejeto e as doses de 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1} de água foram utilizadas apenas três repetições. Este arranjo desbalanceado de repetições deveu-se a limitação do numero de TMEs disponíveis. Para isso, foi escolhida a dose mais elevada (150 m^3 ha^{-1}de DLS) considerando uma esperada redução severa da fauna (ver Cap 2 e 3).Os tratamentoscom água, devido a baixa variabilidade na composição da água.

Figura 5.1– Esquema de coleta de TMEs. Amostrador (A); Introdução do amostrador no solo (B); Amostrador + tubo de PVC no solo (C); remoção do amostrador do solo (D); Retirada do tubo de PVC com amostra de dentro do amostrador (E); Tubo de PVC com amostra de solo com estrutura preservada (F).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

5.2.6 Manutenção do experimento

Os TMEs coletados a campo foram colocados em *carts*com temperatura controlada, mantidos em câmara de crescimento climatizada com sistema de iluminação para

plantas C_3 e C_4 e controle de fotoperíodo. No interior dos*carts*,os TMEs forma mantidos à12 ^{o}Ce a superfície destes mantidas a 24 ^{o}C (temperatura da sala climatizada) gerando assim um gradiente de temperatura ao longo da amostra de solo (Figura 5.2), simulando as condições de campo.

Anteriormente ao início do experimento os TMEs foram mantidos nos *carts* durante 10 dias para aclimatação, nesse mesmo período procedeu-se o corte das gramíneas presentes no solo e realizou-se a semeadura de aveia branca (*Avena sativa).* Passados os 10 dias de aclimatação o experimento foi iniciado, para tanto os TMEs receberam as respectivas doses de água e DLS e foram colocados os *litter bags* em cada um dos TMEs (Figura 5.3). Após a aplicação das doses foram contados 25 dias e desmontados os TMEs.

Durante o ensaio, foi realizada a coleta de lixiviado gerado pelos TMES nos *carts*. O lixiviado foi coletado durante toda a condução dos experimentos para quantificar o volume gerado.

A cada dois dias os TMEs foram regados com solução de chuva artificial, como proposto por Velthorst (1993). O volume de chuva fornecido foi de 115 mL para o NVd e 50 mL para oCHa e foram estabelecidos com base no regime hídrico

dos últimos 10 anos da região de coleta dos solos Concórdia e Lages, respectivamente.

Avaliação do fluxo de CO_2

A avaliação do fluxo de CO_2 do sistema foi feita aos 10 e 20 dias após a aplicação de DLS e água. Foram realizadas quatro medições de dois minutos em três réplicas de cada um dos tratamentos.Essas medições foram realizadas com o auxílio do equipamento Licor LI 8100, um sistema que consiste em uma câmara fechada, acoplada sobre os TMEs. Em seu modo de medição, o sistema monitora as mudanças na concentração de CO_2 dentro da câmera, por meio de espectroscopia de absorção óptica na região do infravermelho.

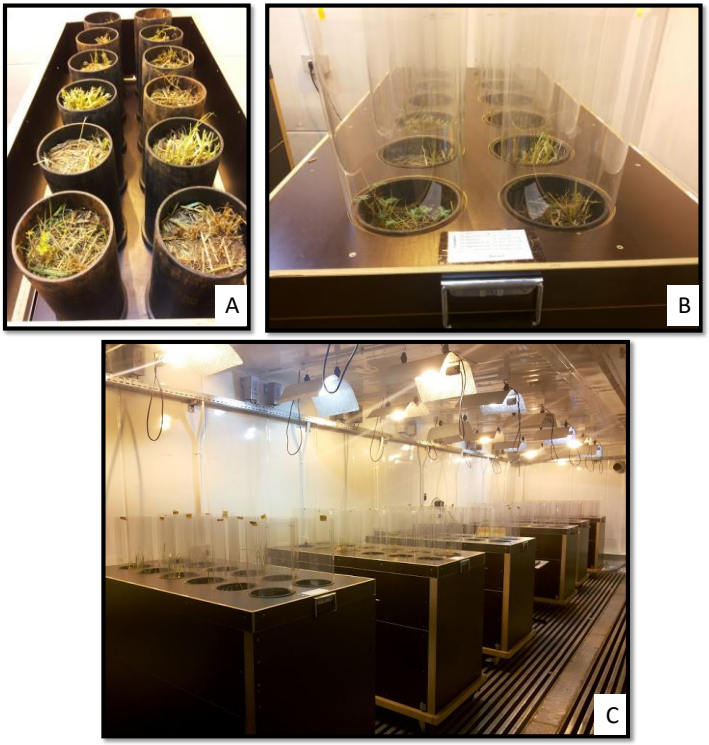

Figura 5.2– Acondicionamento dos TMEs. TMEs dentro do *cart* (A); Detalhe do espaço destinado a cada um dos TMEs (B); *carts* mantidos em sala com temperatura e fotoperíodo controlados (C).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

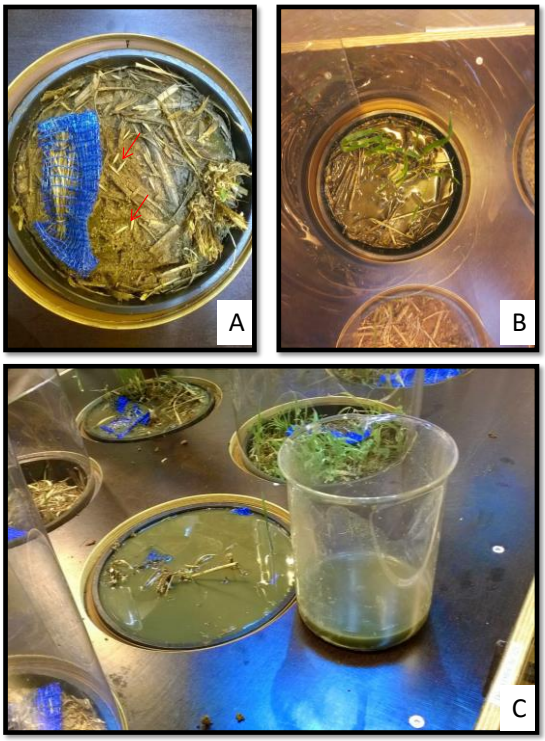

Figura 5.3– Início da montagem do experimento. Detalhe da semeadura de aveia (flechas vermelhas) e colocação do *Litter bag* (A); Amostra com 50 m^3 ha^{-1} de água (B); Amostra com 150 m^3 ha^{-1} de dejeto líquido de suínos (C).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

5.2.7 Desmontagem dos TMEs

Ao final de 25 dias os 24 TMEs foram desmontados (4 Controles; 3 para cada dose de água; 4 para as doses 20 e 50

m^3ha^{-1} de DLS e 3 para a dose 150 m^3 ha^{-1} DLS). A desmontagem consistiu em fazer o corte da parte aérea da vegetação para estimar a produção de matéria seca e na retirada dos *litter bags*, após issoos TMEs foram removidos dos *carts* e a amostra de solo retirada do tubo de PVC.

O TME foi dividido em três distintas camadas de profundidade (0-10; 10-20 e 20-40 cm); em seguida a camada superior (0-10 cm) foi dividida em três porções (1/2 + 2 x 1/4). Cada uma das camadas foi utilizada para a realização das análises que serão descritas a seguir. Na Figura 5.4 estão apresentadas as etapas de desmontagem, bem como a divisão das amostras.

Análises químicas

Para caracterização química das amostras de cada tratamento utilizou-se parte do solo proveniente da ½ da amostra da camada superficial (0-10 cm) (Figura 5.4). Foram determinadas as seguintes caracterísctica: Ca, Mg, Al, H+Al, CTC efetiva, CTC pH7,0 (cmol dm^{-3}) Saturação por Al, Saturação de bases, Matéria orgânica, Carbono orgânico (%), P, K, Na, Cu, Zn, Fe, Mn (mg dm^{-3}) de acordo com metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

Para determinação do teor de carbono orgânico total (COT), N total e S total amostras peneiradas a 2 mm e secas a 60 ºC foram moídas em gral de porcelana. Os elementos foram determinados por combustão seca pelo Autoanalisador de Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio e Enxofre (CNHS) equipamento Elementar Vario EL Cube®.

Análises físicas

Nos TMEs ainda intactos foi determinadaa resistência a penetração até 10 cm de profundidade em cada uma das unidades experimentais, com medidor automático SoloTrack Falker®. A umidade do solo foi determinada no laboratório com as amostras secas em estufa a 105 ºC por 24 horas para cada umas das três distintas camadas (0-10; 10-20; 20-40 cm), retirando 50 g de solo não peneirado.

A estabilidade de agregados foi determinada por peneiramento úmido, em agregados entre 4,76 e 8,35 mm, de acordo com a metodologia de Kemper; Chepil (1965), sendo o aparelho composto por quatro peneiras (4,75; 2,00; 1,00 e 0,25 mm). A estabilidade dos agregados foi representada pelo

diâmetro médio ponderado (DMP).Para essa análise foi utilizado ¼ da amostra da camada mais superficial (0-10 cm).

Análise da fosfatase ácida

As análises da enzima foram realizadas com solo peneirado a 2 mm proveniente da ½ da amostra da camada de 0-10 cm para cada repetição dos dois solos avaliados. A análise foi desenvolvida com adaptações ao método de Tabatabai; Bremner (1969); para a análise foi utilizado 1 g de solo com a mistura de 1 mL de p-nitrofenyl fosfato + 4 mL de uma solução tampão com pH 6,5 (MUB, pH 6,5), incubada com agitação durante 2 h a 35 ^{o}C em tubos Falcon de 50 mL, Após a incubação as amostras receberam de l mL $CaCl_2$ (0,5 mol L^{-1}) + 4 mL de um solução de tris(hidroximetil) aminometano (0,5 molL^{-1}), os tubos foram agitados por 30 s e posteriormente centrifugados por 4 min a 300 RPM. Um volume de200 µL foi utilizado para medir a atividade da fosfatase por quantificação espectrométrica a 405 ηm do p-nitrofenol liberado na mistura centrifugada. Efetuou-se a análise em triplicata para cada uma das repetições do campo mais duas repetições de controle.

Carbono microbiano

O carbono da biomassa microbiana (CMic) foi determinado pelo método de fumigação-extração (VANCE et

al., 1987).Para tanto utilizou-se solo peneirado a 2 mm provenientes de 1/2 camada superficial do solo dos TMEs (Figura 5.4) com três repetições laboratoriais, sendo três amostras fumigadas e três não fumigadas. A fumigação foi realizada com clorofórmio ($CHCl_3$). As amostras foram incubadas em dessecador por 24 h, à 25 ºC, na ausência de luminosidade e após isto o C foi extraído com sulfato de potássio 0,5 mol L^{-1} (K_2SO_4) com agitação por 30 min, posterior decantação por uma hora e filtração em filtro de papel. A leitura das amostras foi realizada através da oxidação destas com dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 66,7 mmol L^{-1}. O teor de C solúvel foi determinado por titulação com $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 33,3 mmol L^{-1} na presença do indicador difenilamina (1%). O CMic foi calculado pela diferença entre carbono extraído do solo fumigado e não fumigado multiplicada pelo fator de correção KEC = 0,33, que representa a eficiência da extração de 33 %, proposto por Sparling; West (1988), para solos com baixo pH.

Figura 5.4– Desmontagem de TMEs por tempo. Extração da amostra de solo do tubo de PVC (A); Amostra com estrutura preservada retirada do tubo de PVC (B); Amostra de solo separa em três camadas 0-10; 10-20; 20-40 cm (C); Camada superficial 0-10 cm separada em três porções.Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Decomposição da palhada - *Litter bags*

Litter bags foram confeccionados com tela de nylon de 2 mm de abertura, com dimensões de 5 x 5 cm, contendo 0,5 g de aveia (*A. sativa*) seca a 65 ^{o}C por 48 h. Cada TMEs recebeu um *litter bag* que permaneceu no solo até o dia de desmontagem do experimento, quando então o conteúdo de cada um deles foi retirado, seco a 65 ^{o}C por 48 h e pesado, a diferença de peso entre o início e final do experimento foi atribuída a decomposição. Os dados foram apresentados em g da diferença obtida entre o inicio e final do experiemnto.

Matéria seca parte aérea

A determinação da produção de matéria seca (MS) de aveia nos tratamentos foi feita através do corte das plantas a 3 cm de altura do solo, com posterior secagem em estufa a 65 ^{o}C por 72 h, sendo a matéria seca produzida expressa em g TME^{-1}.

Fauna edáfica – catação manual e extração em funil de Berlese

A avaliação da fauna edáfica por catação manual foi feita para 1/2 da primeira camada de solo (0-10 cm). Desta maneira, durante a desmontagem dos TMEs foi feita a triagem

manual e contabilização dos organismos da macrofauna. Ainda para avaliação da fauna edáfica ¼ da camada superficial de cada TME foi levado ao Funil de Berlese para extração dos organismos pertencentes a mesofauna. O objetivo do uso destas duas metodologias não foi comparar os métodos, mas sim coletar o máximo de organismos das amostras.

Enquitreídeos

Para a contagem de enquitreídeos utilizou-se 120 g de solo retirado de ¼ da amostra da camada de 0-10 cm (mesma porção utilizada para estabilidade de agregados).O número de enquitreídeos foi determinado após fixação com álcool (80%), colorindo com rosa de Bengala (solução de 1% com etanol) e peneiragem úmida (malha 103 mm).

Análise estatística

Para identificar diferenças estatísticas entre os tratamentos os dados de fauna foram submetidos a uma análise de Permutações Múltiplas – PERMANOVA com base no índice de similaridade de Bray-Curtis. Como forma de avaliar quais os grupos que mais contribuíram para separação dos tratamentos observados na PERMANOVA efetuaram-se análises de similaridade (SIMPER), obtendo-se a contribuição

de cada espécie para a dissimilaridade observada entre o controle e cada uma das doses de dejeto e água usadas. Essas análises foram efetuadas utilizando o programa PRIMER 6.0 (CLARKE; GORLEY, 2001).

A análise de Coordenadas Principais (PCoA) com base na matriz de similaridade após a aplicação do índice de Bray-Curtis foi realizada para obter uma representação gráfica das respostas nos diferentes tratamentos. Para gerar as coordenadas das amostras nos eixos utilizou-se a ferramenta PRCoord 1.0 e o programa CANOCO 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 2002) para gerar os gráficos de PCoAs.

As variáveis físicas (umidade, resistência a penetração, diâmetro médio ponderado), químicas (carbono orgânico, matéria orgânica, pH, SMP, P, K, Na, Ca, Mg, Al, H+Al, CTC pH 7,0, CTC efetiva, saturação por Al, saturação por bases, Cu, Zn, Fe, Mn, N, C, H, S), a taxa de decomposição do *litter bag*, a produção de matéria seca vegetal, o volume de lixiviado, a riqueza da fauna (número de grupos), abundância (ind. m^{-2}), e morfotipos de colembolos (número de eco-morfotipos) foram avaliadas por meio de modelos mistos lineares generalizados (GLMM). As funções de distribuição utilizadas em cada

GLMM foram selecionadas de acordo com os dados e o melhor ajuste do modelo, para tanto as distribuições usadas foram distribuição de Poisson com *link* Log, distribuição Gamma com *link* identidade e distribuição linear. Em todos os casos as comparações múltiplas foram realizadas com correções de Bonferroni e foram considerados significativos valores de $P < 0,05$, esta análise estatística foi realizada no SPSS Statistic 23 (SPSS INC., 2001).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as variáveis medidas no experimento foram submetidas a análise GLMM, para determinar as variáveis explicativas que mais interferem nas variáveis respostas, no entanto, aqui serão apresentadas apenas as variáveis com efeito dos tratamentos ($P<0,05$). Para facilitar a apresentação dos resultados encontrados nas análises estatísticas estes foram separados para cada solo dentro de dois subtópicos de forma a atender as duas diferentes hipóteses testadas 1) o efeito do DLS na fauna do solo (Doses DLS *vs* Controle); e 2) o efeito da água na fauna do solo, pelacomparação Dose de DLS *vs* Dose de água.

Efeito das Doses de DLS

Cambissolo Húmico aluminico: O resultado da PCoA (Figura 5.5) mostra que não houve grande influência dos tratamentos, apenas pequena separação das doses de 50 e 150 m^3 ha^{-1} e a explicação para o eixo 1 foi de 36,3 % e do eixo 2 foi de 16,5 %. Para verificar se há diferenças na composição das comunidades da fauna entreos tratamentos foi utilizada uma PERMANOVA e para identificar os grupos que foram responsáveis por essas diferenças utilizou-se análise de similaridade de SIMPER. Os resultados destas análises mostram diferença apenas na dose de 150 m^3 ha^{-1} e neste caso a maior contribuição foi dos grupos larva, ácaro e formiga com 32,2, 19,5 e 13,8 %, respectivamente.

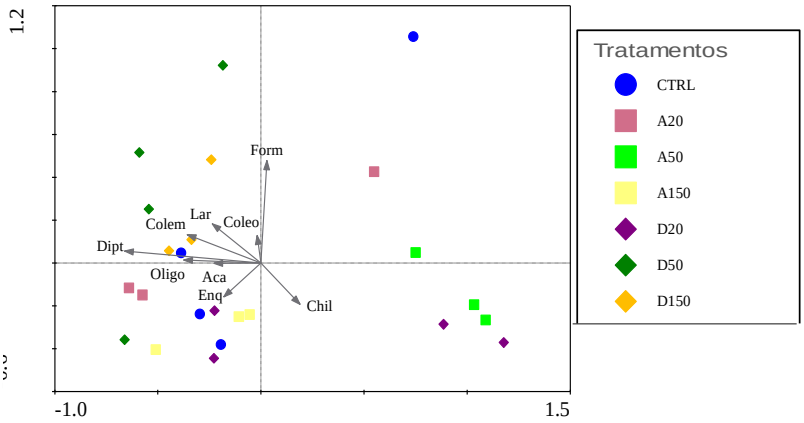

Figura 5.5 - Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Cambissolo Húmico alumínico. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo). Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e 150 m^3 ha^{-1} de água (A150).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Os resultados encontrados na análise GLMM apontaram diferenças estatísticas para nove variáveis e estas estão apresentadas na Figura 5.6. Observou-se decréscimo da abundância total de indivíduos (abund.) na menor na dose de 20 m^3 ha^{-1}, entretanto, este efeito não foi observado nas maiores doses. Comportamento similiar foi observado para o teor decarbono microbiano (Cmic) no solo. Aumentos na

emissão de CO_2ao décimo dia, foram observadas apenas na dose de 150 m^3 ha^{-1} de DLS.

As concentrações de Ca, Mg, e K foram maiores na dose de 150 m^3 ha^{-1}. Aumentos nos teores de P e Zn foram observados nas doses 50 e 150 m^3 ha^{-1}.Esses resultados eram esperados uma vez que a adição de DLS serve como fonte destes elementos. Outra variável que apresentou aumento foi a umidade (150 m^3 ha^{-1}), o que é explicado pelo volume de material orgânico adicionado que ocasiona aumento na CRA do solo.

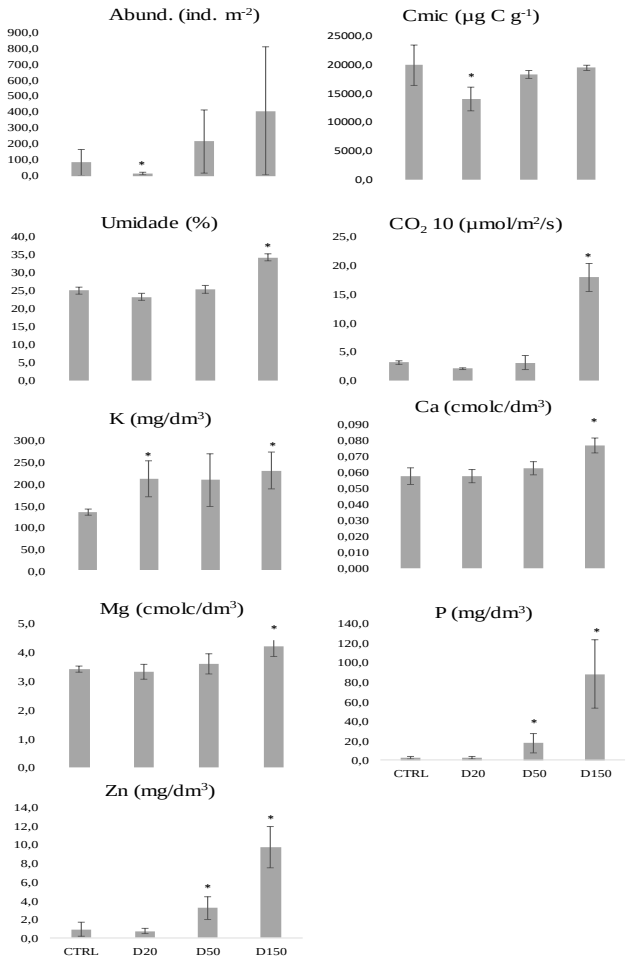

Figura 5.6– AnáliseGLMM do efeito das doses de DLS em compração com o Controleno Cambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150).(┬) Desvio padrão.*Variáveis significativas (P<0,05).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Nitossolo Vermelho distroférrico: Para o NVd o resultado da PCoA (Figura 5.7) mostra que o tratamento com adição de 150

m^3 ha^{-1} de DLS ficou separado dos demais tratamentos. E apresentou elevada ligação com o número de larvas encontrados. A explicação para o eixo 1 foi de 41,2 % e do eixo 2 foi de 15,2 %.

De acordo com o resultado da PERMANOVA há diferenças na composição da comunidade da fauna no tratamento DLS 150 m^3 ha^{-1} e pela análise de similaridade de SIMPER a maior contribuição foi dos grupos larva, hymenoptera e ácaro com 25,0, 17,0 e 10,7 %, respectivamente.

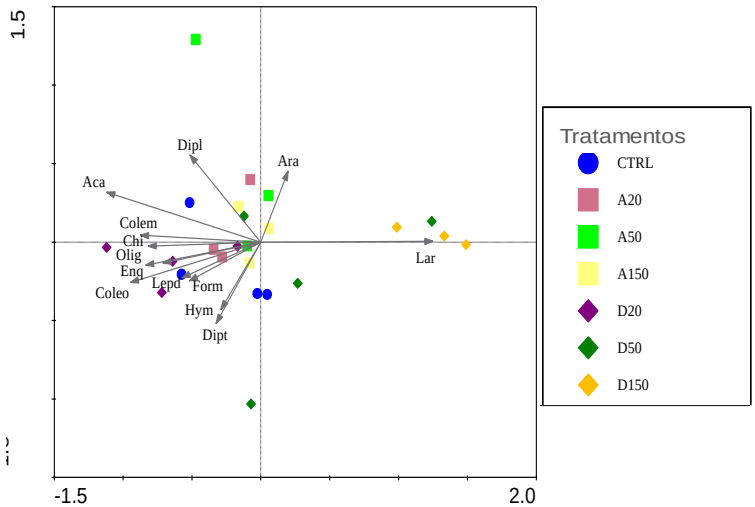

Figura 5.7- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférrico. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Chilopoda (Chi), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Hymenoptera (Hym), Larvae (Lar), Lepidoptera (Lepd) e Oligochaeta (Olig). Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e 150 m^3 ha^{-1} de água (A150).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Os resultados encontrados na análise GLMM indicaram efeitos do DLS para sete variáveis (Figura 5.8). A abundância total de organimos da fauna aumentou nas doses de 20 e 150 m^3ha^{-1}.Na dose de 20 m^3 ha^{-1} observou-se elevado número de

formigas em uma das unidades experimentais o que fez com que a média ficasse mais alta. Esse tipo de situação pode ocorrer em amostras indeformadas coletadas no campo, e a amostragem pode ter sido feita próximo a um formigueiro. Já a elevada abundância da dose de 150 m^3 ha^{-1} de DLS foi devida a grande ocorrencia de larvas, especialmente de dípteras, encontradas nessadose, ocasionada pelo acúmulo de material orgânico na superfície do solo o que favoreceu seu desenvolvimento.

O Cmic aumentou com o aumento da dose de DLS aplicada no solo, assim como o CO_2_10 (CO_2 ao décimo dia), o que indica elevação na atividade biológica do solo. Esse é um comportamento esperado quando são adicionados aos solos elevados volumes de material orgânico. Nas variáveis químicas K, Na, P na dose de 150 m^3 ha^{-1} e Mg nas doses de 50 e 150 m^3 ha^{-1} tiveram suas concentrações aumentadas por consequência da aplicação destes nutrientes via DLS.

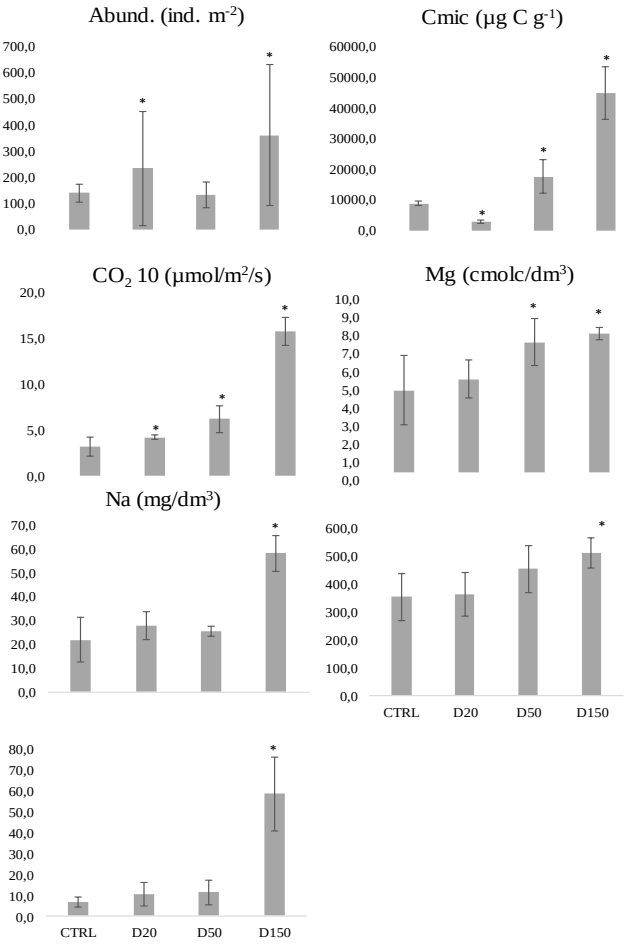

Figura 5.8– Análise GLMM (P<0,05) na comparação do efeito do DLS no Nitossolo Vermelho distroférrico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150).Variáveis significativas (*).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Dose de DLS vs Dose de Água

Cambissolo Húmico alumínico: Os resultados da PERMANOVA e da análise SIMPER indicaram efeito da aplicação de 50 m^3 ha^{-1} sobre a composição da fauna edáfica e como grupos mais representativos os ácaros, formigas e dípteras com 24,1, 21,3 e 17,4 % de contribuição, respectivamente. Os resultados da análise GLMM mostraram que apenas seis variáveis foramdiferentes, as quais estão apresentadas na Figura 5.9, nesse caso, em geral as variáveis apresentaram diferenças para a dose de 150 m^3 ha^{-1}.

A abundância de indivíduos foi menor nas doses de 50 e 150 m^3 ha^{-1}, mas esse resultado ocorreu devido ao aumento no número de indivíduos nos tratamentos que receberam DLS.

Diferenças no Cmic também foram verificadas para as mesmas doses que a abundância, porem nesse caso o comportamento desta variável não foi muito linear a adição de 20 m^3 ha^{-1} de água elevou o Cmic quando comparado com a dose de 20 m^3 ha^{-1} de DLS, para as doses de 50 e 150 m^3 ha^{-1} esse comportamento foi o inverso a adição de DLS aumentou o Cmic em comparação com as respectivas doses de água.

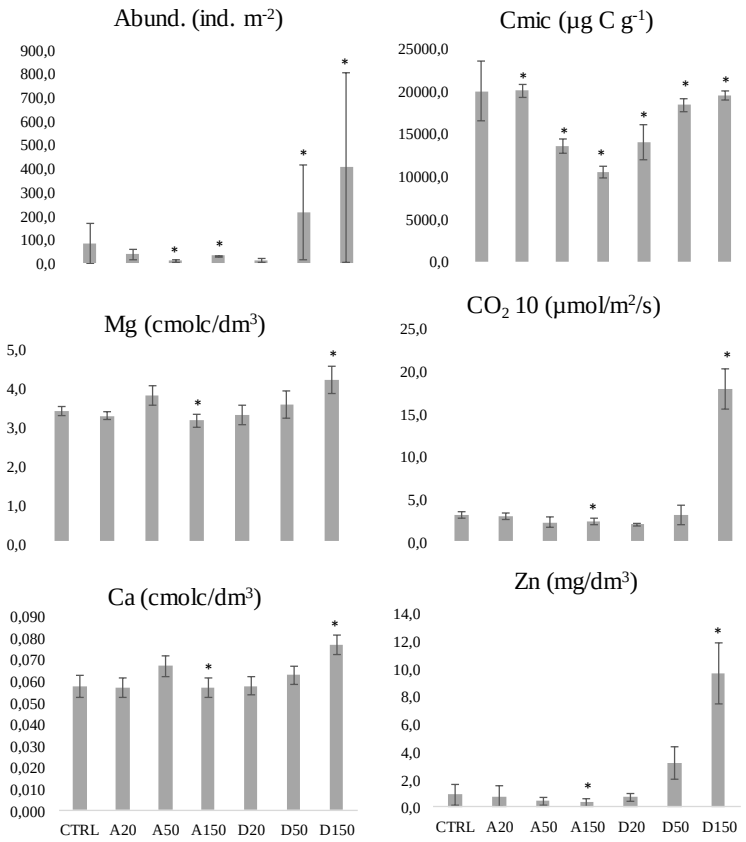

Figura 5.9– Análise GLMM (P<0,05) na comparação DLS noCambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e 150 m^3 ha^{-1} de água (A150).Variáveis significativas (*).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

A leitura da emissão de CO_2_10 apresentou significativa diferença na dose mais elevada. Essa diferença foi

promovida pela elevada emissão de CO_2 nas amostras que receberam DLS. As variáveis químicas Ca, Mg, e Zn foram maiores no tratamento que recebeu 150 m^3 ha^{-1} de DLS, devido a inclusão desses elementos via DLS.

Nitossolo Vermelho distrófico: Diferentemente do CHa, de acordo com os resultados encontrados nas análises PERMANOVA e SIMPER não ocorreram diferenças na fauna do solo, indicando que nesse solo o aporte de grandes volumes de água não é capaz de afetar a estrutura da comunidade edáfica. Para os dados de GLMM ocorreram diferenças em apenas três variáveis as quais estão apresentadas na Figura 5.10.

A abundância total de organismos foi diferente para as doses de 20 e 150 m^3 ha^{-1} devido ao número de formigas e larvas, respectivamente, conforme mencionado anteriormente. Para o Cmic as diferenças foram de aumento nos tratamentos que receberam 50 e 150 m^3 ha^{-1} DLS em comparação com as respectivas doses de água e a variável CO_2_10 teve esse mesmo comportamento para as três doses avaliadas.

As diferenças encontradas através da análise de SIMPER foram, exceto para NVd na comparação DLS *vs* água, principalmente, devido a influência de larvas na maior dose de dejeto. A elevada ocorrência de larvas é devido a ocorrência de moscas que para realizar a oviposição buscam material orgânico, em geral dejeto úmido, pois após a eclosão as larvas utilizam esse material como fonte de alimento até que evoluam para o estágio de pupa, sendo assim esse resultado já era esperado e já tem sido relatado na literatura. De acordo com Castro et al. (2011) o aporte de DLS no solo em volumes de 50 m^3 ha^{-1} já é suficiente para o aparecimento de larvas, mas que volumes mais elevados favorecem maior biomassa de larvas.

Os resultados do GLMM, para o CHa e o NVdmostram que a adição de DLS favorece abundância de organismo edáficos resultado que também foi verificada por Ponge et al (2013) após a aplicação de dejeto de suínos.Esse mesmo comportamento foi relatado por Silva et al. (2014) avaliando o uso de dejeto de suínos em solos no Rio Grande do Sul verificou que doses de 40 e 80 m^3 ha^{-1} aumentaram a abundância de organismos e quando o dejeto foi aplicado em áreas de cultivo mínimo a dose de 80 m^3 ha^{-1} favoreceu também o aparecimento de ácaros essesautores associaram esse resultado com o aumento da taxa de decomposição do material

no solo e ao aparecimento de ácaros decompositores. No presente trabalho a presença de ácaros contribuiu para a diferenciação da comunidade edáfica entre os tratamentos, porém esses não foram separados de acordo com seus hábitos de alimentação.

A adição de material orgânico nos solos é capaz de elevar a atividade biológica.Além da variável abundância,de organismos que mostrou esse efeito, o carbono microbiano no NVd também foi elevado. A quantificação da biomassa microbiana através do Cmic tem sido utilizada para avaliar efeitos do uso de resíduos orgânicos em solos (YADA et al., 2015). O aumento no Cmic pode estar relacionado à quantidade de substrato orgânico de fácil degradação oriunda do DLS. Esse mesmo comportamento foi observado por Quadro et al. (2011) utilizando DLS até 18 t ha^{-1} e de acordo com Oliveira et al. (2009) o fornecimento de substrato orgânico estimula o crescimento microbiano. Além da matéria orgânica, a atividade microbiana pode ter sido aumentada pelas condições mais favoráveis de umidade após a adição do DLS.

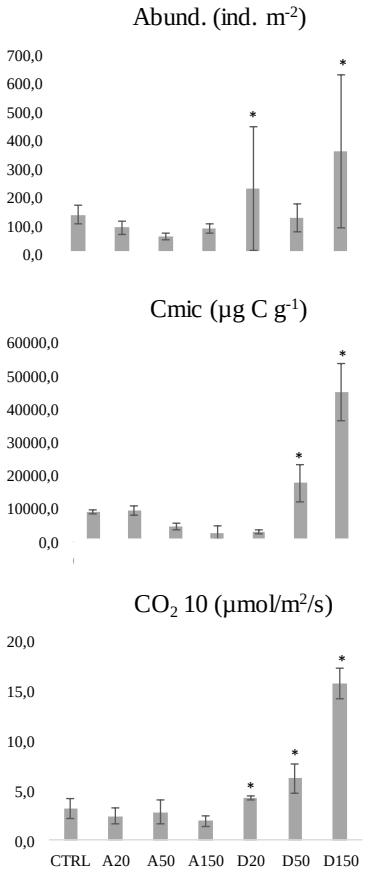

Figura 5.10– Análise GLMM (P<0,05) na comparação DLS no Nitossolo Vermelho distroférrico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} de DLS (D20), 50 m^3 ha^{-1} de DLS (D50), 150 m^3 ha^{-1} de DLS (D150), 20 m^3 ha^{-1} de água (A20), 50 m^3 ha^{-1} de água (A50) e 150 m^3 ha^{-1} de água (A150).Variáveis significativas (*).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

A emissão de CO_2 ocorre em uma taxa maior devido ao material que está sendo decomposto no solo. Terhoeven-

Urselmans et al. (2009) mediram maior emissão de CO_2 poucos dias após a aplicação de dejeto de suíno proveniente de biodigestores quando comparado com solo que não recebeu o material orgânico, segundo os autores o aumento na emissão foi de 27 % ao final do experimento (50 dias). Em estudo avaliando diferentes tratamentos para o dejeto de suíno Bertora et al. (2008) verificaram que o dejeto líquido mineralizou mais C na forma de CO_2 do que a fração solida desse material, sendo que a diferença verificada foi três vezes maior.

As diferenças encontradas para K, Mg e P nas maiores doses de DLS avaliadas para ambos os solos, maiores teores de Ca e Zn no CHa e de Na para o NVd ocorreram devido o aporte destes nutrientes proveniente da aplicação de DLS. O acumulo de nutrientes nos solos, como resultado desta prática agrícola já foi reportado na literatura em diversos trabalhos avaliando o uso agrícola de DLS (GESSEL et al., 2004; QUEIROZ et al., 2004; SCHERER et al., 2007; SCHERER et al., 2010).

5.4 CONCLUSÕES

O uso de dejeto líquido de suínos alterou a composição da fauna edáfica de ambos os solos avaliados.

Os efeitos do DLS no acúmulo de nutrientes forammaiores no Cambissolo Húmico alumínico que o Nitossolo Vermelho eutroférrico.

No Nitossolo Vermelho eutroférrico a aplicação de dejeto líquido de suínos na dose de 150 m^3 ha^{-1} favoreceu o desenvolvimento de larvas.

Em ambos os solos avaliados foi possível perceber que o aporte de água no sistema solo via DLS não foi capaz de causar diferenças significativas na fauna edáfica.

Referências

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

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

BERTORA, C.; ALLUVIONE, F.; ZAVATTARO, L.; VAN GROENIGEN, J. W.; VELTHOF, G.; GRIGNANI, C. Pig slurry treatment modifies slurry composition, N_2O, and CO_2 emissions after soil incorporation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 1999-2006, 2008.

CARVALHO, F. C. **Efeito de diferentes tipos de gestão em olivais nos microatrópodes de solo usando uma abordagem funcional**. 2012. 56f. Dissertação de Mestrado- Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012. 56f.

CASTRO, A. L. G.; CRUZ, I.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L. C.; SANTOS, C. V.; SOUSA-FIGUEIREDO, R. J. Influência da adubação orgânica de plantas de minimilho (*Zea mays* L.) no desenvolvimento larval de *Spodoptera cosmoides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, 2011.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. **PRIMER v5**: User manual/tutorial. Plymounth: Plymounth Marine Laboratory, 2001.

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

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

GESSEL, P. D.; HANSEN, N. C.; MONCRIEF, J. F.; SCHMITT, M. A. Rate of fall-applied liquid swine manure: Effects on runoff transport of sediment and phosphorus. **Journal of Environmental Quality**, sl., v. 33, p. 1839-1844, 2004.

KEMPER, W. D.; CHEPIL, W. S. Size distribution of aggregation. In: BLACK, C. A. **Methods of soil analysis**. Madison: American Society Agronomy, p. 499-510, 1965.

MURCHIE, A. K.; BLACKSHAW, R. P.; GORDON, A. W.; CHRISTIE, P. Responses of earthworm species to long-term applications of slurry. **Applied Soil Ecology**, Barcelona, v. 96, p. 60-67, 2015.

OLIVEIRA, M.; MARIA, V. L.; AHMAD, I.; SERAFIM, A.; BEBIANNO, M. J.; PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Contamination assessment of a coastal lagoon (Rio de Aveiro, Portugal) using defence and damage biochemical indicators in gill of *Liza aurata* – an integrated biomarker approach. **Environmental Pollution**, Londres, v. 157, p. 959-967, 2009.

PONGE, J. F.; PÉRÈS, G.; GUERNION, M.; RUIZ-CAMACHO, N.; CORTET, J.; PERNIN, C.; VILLENAVE, C.; CHAUSSOD, R.; MARTIN-LAURENT, F.; BISPO, A.; CLUZEAU, D. The impact of agricultural practices on soil biota: A regional study. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 67, p. 271-284, 2013.

QUADRO, M. S.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; VIVIAN, G. Biomassa e atividade microbiana em solos acrescidos de dejeto suíno. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v. 17, p. 85-93, 2011.

QUEIROZ, F. M.; MATTOS, A. F.; PEREIRA, O. G.; OLIVEIRA, R. A. Características químicas de solo submetido ao tratamento com esterco líquido de suínos e cultivado com gramíneas forrageiras**. Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1487-1492, 2004.

SCHERER, E. E.; BALDISSERA, I. T.; NESI, C. N. Propriedades químicas de um Latossolo Vermelho sob plantio direto e adubação com esterco de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 123-131, 2007.

SCHERER, E.E.; NESI, C.N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.1375-1383, 2010.

SEGAT, J. C.; ALVES, P. R. L.; BARETTA, D.; CARDOSO, E, J. B. N. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Paris, v. 122, p. 91-97, 2015.

SILVA, R. F.; BERTOLLO, G. M.; CORASSA, G. M.; COCCO, L. B.; STEFFEN, R. B.; BASSO, C. J. Doses of liquid swine sllurry on soil biota community under no tillage and minimum tillage. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, p. 418-424, 2014.

SPARLING, G.P.; WEST, A.W. A direct extraction method to estimate soil microbial - C - calibration in situ using microbial

respiration an 14Clabeled cells. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, n.3, 20:337-343, 1988.

SPSS Inc. **Statistical Analisys Using SPSS.** Chicago, 2006.

TABATABAI, M. A.; BREMMER, J.M. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 1, p. 301-307, 1969.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** 2 ed.Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147 p.

TER BRAAK, C. J. F.; SMILAUER, P. **CANOCO**. Reference manual and CanoDraw for Windows user´s guide: Software for Canonical Comunitiy Ordination, version 4.5. Microcomputer Power, Ithaca, 2002.

TERHOEVEN-URSELMANS, T.; SCHILLER, E.; RAUBUCH, M.; LUDWIG, B.; JOERGENSEN, R. G. CO_2 evolution and N mineralization after biogas slurry application in the fields and its yield effects on spring barley. **Applied Soil Ecology**, Barcelona, v. 42, p. 297-302, 2009.

VAN GESTEL, C. A. M. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. **ZooKeys**, sl, v. 176, p. 275–296, 2012.

van RAIJ, B. VAN.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, Campinas: Instituto Agronômica, 2001. 400p.

VANCE, E.D.; BROOKS, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 19:703-707, 1987.

VANDEWALLE, M.; BELLO, F.; BERG, M. P.; BOLGER, T.; DOLÉDEC, S.; DUBS, F.; FELD, C. K.; HARRINGTON,

R.; HARRISON, P. A.; LAVOREL, S.; SILVA, P. M.; MORETTI, M.; NIEMELÄ, J.; SANTOS, P.; SATTLER, T.; SOUSA, J. P.; SYKES, T. M.; VANBERGEN, A. J.; WOODCOOK, B. A. Functional traits as indicators of biodiversity response to land use changes across ecosystems and organisms. **Biodiversity Conservation**, sl., v. 19, p. 2921–2947, 2010.

VELTHORST, E. J. **Manual for Chemical Water Analysis**. Wageningen: Agricultural University. 1993.

YADA, M. M.; MELO, W. J.; MINGOTTE, F. L. C.; MELO, V. P.; MELO, G. M. P. Chemical and biochemical properties of oxisols after sewage sludge application for 16 years. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, p. 1302-1310, 2015.

CAPÍTULO 6

O efeito da adição continuada do dejeto líquido de suínos na fauna de solos subtropicais

Resumo

O potencial de uso de dejeto líquido de suínos (DLS) como fertilizante agrícola tem sido uma alternativa para seu descarte, mas o seu uso sem critérios tem causado grandes impactos ambientais no solo e na água e com base nesses riscos as valiações da qualidade ambiental dos corpos receptores de resíduos tem recebido cada vez mais atenção. O presente estudo objetivou avaliar o efeito da continuidade do uso do DLS sobre a diversidade estrutural das comunidades da fauna do solo. Para tanto o estudo foi desenvolvido em *Terrestrial Models Ecosystems* (TMEs) para determinar o efeito da continuidade do uso de DLS, testando as doses de 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1} de dejeto que foram repetidas três vezes espaçadas temporalmente em 25 dias em dois diferentes solos, um Cambissolo Húmico alumínico e um Nitossolo Vermelho distroférrico. Além dos efeitos do uso de DLS objetivou-se também saber se TMEs são metodologias adequadas para a avaliação de efeitos da reaplicação de substâncias ou resíduos. Os resultados desta etapa foram avaliados através de ANOVA com comparação por Dunnett para as variáveis químicas e físicas. As variáveis de composição da fauna, abundância de organismos, riqueza de grupos e de eco morfotipos de colêmbolos foram avaliadas com o uso de PCoA, PERMANOVA e SIMPER. Os resultados da continuidade de

aplicação de dejeto mostram que para o Cambissolo Húmico alumínico ocorreram alterações com as repetidas aplicações de DLS, para o Nitossolo Vermelho distroférrico essas alterações não responderam da mesma maneira mostrando maior influência do uso do DLS do que da reaplicação desse resíduo.

Palavras-chave: Cambissolo Húmico alumínico, continuidade de aplicação de dejeto líquido de suínos, estrutura da comunidade edáfica nativa, Nitossolo Vermelho eutroférrico.

Abstract:

The potential use of pig slurry (PS) as agricultural fertilizer has been an alternative to its disposal, but their use without criteria has caused major environmental impacts on soil and water, and based on these risks the assessments of environmental quality waste receiving bodies has received increasing attention. This study aimed to evaluate the effect of continued use of the PS on the structural diversity of soil fauna communities. For this study was developed in Terrestrial Models Ecosystems (TMES) to determine the effect of continued use of PS, testing doses of 20, 50 and 150 m^3 ha^{-1} of manure that were repeated three times spaced temporally in 25 days two different soils, one Entisol Humic and Nitosol. In addition to the effects of using PS aimed to also know if TMES are appropriate methodologies for assessing effects of reapplication of substances or waste. The results of this stage were evaluated by ANOVA with Dunnett by comparison to the chemical and physical variables. The faunal composition variables, abundance of organisms, wealth groups and morphotypes echo springtails were evaluated using PCoA, PERMANOVA and SIMPER. The results of manure application continuity show that for Entisol Humic changes with repeated applications of PS for the Nitosol these changes did not respond in the same way showing greater influence of the use of PS than the reapplication of this waste.

Keywords: Entisol Humic, continuity of application of pig slurry, structure of native edaphic community,Nitosol.

6.1 INTRODUÇÃO

Avaliações de risco ecológico em abordagens prospectivas objetivam definir valores seguros de aplicação de substâncias e resíduos ao solo considerando as vias de exposição, os receptores ecológicos e efeitos em níveis não prejudiciais ao ambiente em questão. Esse tipo de análise utiliza ensaios laboratoriais ou de semi-campo e são desenvolvidos para considerar efeitos morfológicos e fisiológicos nos indivíduos e lançam mão de protocolos padronizados e os resultados são, então, extrapolados ao nível de comunidade (VAN GESTEL, 2012).

Uma lacuna na avaliação de impactos ecológicos é que a metodologia dos testes, padronizados mundialmente, não considera avaliações do efeito de reaplicação do resíduo ao longo do tempo, como acontece com dejetos da pecuária de confinamento, que são aplicados anualmente nos solos. Desta maneira, desenvolver metodologias ou adaptações que permitam esse tipo de avaliação ecotoxicológica tem fundamental importância para conhecer as respostas que a

fauna edáfica tem frente à exposição de repetidas aplicações de um dado contaminante.

Alternativamente aos ensaios laboratoriais é possível a realização de estudos em mesocosmos, neste caso em TMEs (*Terrestrial Model Ecossystems)* e desta maneira incluir a abordagem de avaliações de efeitos resultantes da reaplicação de substâncias ou resíduos. A aplicabilidade dos TMEs está baseada na simulação de processos e interações dos componentes do ecossistema podendo fornecer informações mais completas que os testes ecotoxicológicos padrões de laboratório, permitindo que os serviços prestados por diferentes níveis da cadeia trófica sejam considerados durante a avaliação experimental (VAN GESTEL, 2012).

A importância da preservação da biodiversidade, incluindo, a biodiversidade edáfica está diretamente relacionada as funções exercidas pela fauna e ao provisionamento dos serviços prestados pelos ecossistemas. E para que seja possível proteger a biodiversidade é necessário conhecer o comportamento de espécies, grupos ou populações nos ambientes frente as exposições dos contaminantes de interesse.

Para alcançar resultados mais realistas é importante utilizar não apenas espécies específicas individualmente, mas

abordagens com indicadores de alteração de comunidades edáficas para a obtenção de respostas e estabelecimento de modelos ecológicos mais completos.

Com base na utilização de TMEs para análises de toxicidade e na importância da fauna edáfica como indicadora, o objetivo deste trabalho foi avaliaro efeito da adição ontinuidade de DLS no solosobre a composição da comunidade edáfica, em sucessivas aplicações do resíduo em uma escala temporal, utilizando TMEs na analise do risco deste tipo de resíduo.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Dejeto líquido de suínos

O dejeto líquido de suínos (DLS) foi coletado diretamente da unidade produtora de suínos de terminação da EMBRAPA Suínos e Aves. Antes de ser utilizado passou por um processo de estabilização química de 120 dias (CQFRS/SC, 2004.

A caracterização do DLS foi feita segundo a metodologia de van Raij (2001) e o percentual de carbono e nitrogênio total do solo foram analisados pelo método de combustão total utilizando o analisador elementar LECO-CN 2000. Na Tabela 2.1 (Capítulo 2) estão apresentadas as características físico-químicas do DLS.

6.2.2 Doses

As doses utilizadas para os dois solos foram definidas de acordo com os resultados obtidos nos experimentos descritos nos Capítulos 2 e 3. Para o desenvolvimento do presente experimento foram, portanto, escolhidas as doses de 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}. A escolha de tais doses está baseada nos resultados a seguir:

EC_{50} para colêmbolos – CHe 15,3 m^3 ha^{-1} (14,3 – 16,4 m^3 ha^{-1})

NVd 15,8 m^3 ha^{-1} (12,7 – 19,0 m^3 ha^{-1})

EC_{50} para minhocas – CHe 112,0 m^3 ha^{-1} (68,4– 133,4 m^3 ha^{-1})

NVd não foi possível calcular

EC_{50} para enquitreídeo – CHe 17,7 m^3 ha^{-1} (10,8 – 24,5 m^3 ha^{-1})

NVd 45,0 m^3 ha^{-1} (30,2 – 59,9 m^3 ha^{-1})

EC_{50} para ácaros – CHe 92,5 m^3 ha^{-1} (73 - 112 m^3 ha^{-1})

NVd 82,6 m^3 ha^{-1} (65,3 – 99,9 m^3 ha^{-1})

6.2.3 Áreas de coleta de TMEs

Duas diferentes áreas foram selecionadas para realizar a coleta dos TMEs. A primeira delas localizada no município de Lages, SC (-27.311710, -51.990814) e pertence a uma propriedade produtora de leite, durante a coleta essa área estava sendo cultivada com pastagens de inverno (*Avena sativa* + *Lolium multiflorum*), e era utilizada para um sistema de Integração Lavoura-Pecuária, sem uso de dejeto líquido de suínos. O solo desta área é um Cambissolo Húmico alumínico.

A segunda área escolhida é um Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd), localizada no município de Concórdia, SC, na área experimental da Embrapa Suínos e Aves (27.068702, -52.623913). A área escolhida era utilizada em um sistema de Integração Lavoura-Pecuária, e não tinha histórico de uso de dejeto líquido de suínos nos últimos 10 anos. No momento da coleta essa área estava sendo utilizada para o cultivo de aveia (*Avena sativa*). A análise físico-quimica dos solos esta apresentada na Tabela 5.1 (Capítulo 5).

6.2.4 Metodologia de coleta

Para cada uma das áreas foram coletados 45 TMEs os quais se caracterizam por serem amostras de solo com estrutura preservada com 40 cm de altura e diâmetro de 17,5 cm. A coleta foi realizada com o auxílio de uma retroescavadeira que introduzia o amostrador + tubo de PVC no solo e então removia-os do solo, o tubo de PVC contendo a amostra de solo era então retirado do amostrador e levado para o laboratório. O esquema da coleta está detalhado na Figura 5.1 (Capítulo 5).

6.2.5 Tratamentos e delineamento estatístico

Os tratamentos constituíram-se da combinação de dois diferentes solos (Nitossolo Vermelho distroférrico e Cambissolo Húmico alumínico) submetidasà três doses de DLS (20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}) repetidas em três tempos de aplicação (T1, T2 e T3)com intervalos de 25 dias. O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, sendo os blocos os tempos de aplicação. O número de repetições foi calculado de acordo com o número de TMEs disponíveis. Para facilitar o entendimento das repetições por tratamento e por tempo de coleta a distribuição dos TMEs está descrita no Quadro 6.1.

Quadro 6.1– Distribuição das repetições por tratamento e por tempo de aplicação

		Controle	
Controle =	3 Tempos x	4 repetições/tempo	**12 TME's**

		Dejeto	
Dose 1 =	3 Tempos x	4 repetições/tempo	12 TME's
Dose 2 =	3 Tempos x	4 repetições/tempo	12 TME's
Dose 3 =	3 Tempos x	3 repetições/tempo	9 TME's
		Total	**33 TME's**
		Total geral	**45 TME's**

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

6.2.6 Manutenção do experimento

Os TMEs, em laboratório, ficaram em uma sala climatizada armazenados em *carts* que possuíam uma abertura adequada a cada um dos tubos. Nesses *carts* eram simuladas as condições de campo de um solo com o auxílio de uma serpentina de resfriamento, na parte de baixo dos tubos que eram, então, mantidos a 12 ^{o}C e a superfície destes mantidas a 24 ^{o}C (temperatura da sala climatizada) gerando assim um gradiente de temperatura ao longo da amostra de solo (Figura 5.2 no capítulo 5).

Durante o período experimental os TMEs foram regados com solução de chuva artificial (Velthorst, 1993), a cada dois dias. O volume de chuva fornecido foi de 115 mL para o NVd e 50 mL para o CHa e foram estabelecidos com base no regime hídrico dos últimos 10 anos da região de coleta dos solos Concórdia e Lages, respectivamente.

Anteriormente ao início do experimento os TMEs foram mantidos nos *carts* durante 10 dias para aclimatação. Nesse mesmo período procedeu-se o corte das gramíneas presentes no solo e realizou-se a semeadura de aveia branca (*Avena sativa).* Passados os 10 dias de aclimatação o experimento foi iniciado, os TMEs receberam as respectivas doses de DLS e foram colocados os *litter bags* em cada um dos TMEs (Figura 4.3 no capítulo anterior).

Decorridos 25 dias após a primeira adição de doses de DLS, os TMEs do T1 foram coletados para avaliação. Os demais receberam a segunda aplicação de DLS. Passados 25 dias da segunda aplicação os TMEs do T2 foram coletados e nova aplicação de DLS foi realizada nos TMEs restantes, referentes ao T3, os quais foram desmontados ao final de mais 25 dias. No total o período experimental durou 85 dias: 10 dias de aclimatação mais 75 de condução do experimento - 25 dias para cada tempo de amostragem (3 x 25). Durante o período

experimental foram realizadas medições da emissão de CO_2 (descritas a seguir) e as demais análises foram realizadas após a desmontagem do experimento.

Avaliação do fluxo de CO_2

A avaliação do fluxo de CO_2 do sistema foi feita aos 10 e 20 dias após cada uma das aplicações de dejeto líquido de suínos e água. Foram feitas quatro medições de dois minutos cada em três réplicas de cada um dos tratamentos, tais medições foram realizadas com o auxílio do equipamento Licor LI 8100, um sistema que consiste em uma câmara fechada, acoplada sobre os TMEs. Em seu modo de medição, o sistema monitora as mudanças na concentração de CO_2 dentro da câmera, por meio de espectroscopia de absorção óptica na região do infravermelho.

6.2.7 Avaliação dos TMEs

Em cada um dos tempos 15 TMEs foram desmontados (4 Controles; 4 replicasdas doses 20 e 50 m^3 ha^{-1} de DLS e 3 replicas da dose 150 m^3 ha^{-1} DLS). A desmontagem consistiu em fazer o corte da parte aérea da vegetação para estimar a produção de matéria seca e na retirada dos *litter bags*, após

issoos TMEs foram removidos dos *carts* e a amostra de solo retirada do tubo de PVC.

A amostra indeformada foi dividida em três distintas camadas de profundidade (0-10; 10-20 e 20-40 cm); a camada superior (0-10 cm) foi dividida em três porções (1/2 + 2 x 1/4). Cada uma das camadas foi utilizada para a realização das análises que serão descritas a seguir. Na Figura 5.4 (Capítulo 5) estão apresentadas as etapas de desmontagem, bem como a divisão das amostras.

Análises químicas

Para caracterização do solo dos tratamentos utilizou-se parte do solo proveniente da ½ da amostra da camada superficial (0-10 cm) (Figura 4.4) e, então, foi realizada análise química para a fertilidade de acordo com metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

Análises químicas

Para caracterização química das amostras de cada tratamento utilizou-se parte do solo proveniente da ½ da amostra da camada superficial (0-10 cm) (Figura 5.4). Foram determinadas as seguintes característica: Ca, Mg, Al, H+Al, CTC efetiva, CTC pH7,0 (cmol dm^{-3}) saturação por Al, saturação de bases, matéria orgânica, carbono orgânico (%), P,

K, Na, Cu, Zn, Fe, Mn (mg dm^{-3}) de acordo com metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

Para determinação do teor de carbono orgânico total (COT), N total e S total amostras peneiradas a 2 mm e secas a 60 ºC foram moídas em gral de porcelana. Os elementos foram determinados por combustão seca pelo Autoanalisador de Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio e Enxofre (CNHS) equipamento Elementar Vario EL Cube®.

Análises físicas

Nos TMEs ainda intactos foi determinadaa resistência a penetração até 10 cm de profundidade em cada uma das unidades experimentais, com medidor automático SoloTrack Falker®. A umidade do solo foi determinada no laboratório com as amostras secas em estufa a 105 ºC por 24 horas para cada umas das três distintas camadas (0-10; 10-20; 20-40 cm), retirando 50 g de solo não peneirado.

A estabilidade de agregados foi determinada por peneiramento úmido, em agregados entre 4,76 e 8,35 mm, de acordo com a metodologia de Kemper; Chepil (1965), sendo o aparelho composto por quatro peneiras (4,75; 2,00; 1,00 e 0,25

mm). A estabilidade dos agregados foi representada pelo diâmetro médio ponderado (DMP).Para essa análise foi utilizado ¼ da amostra da camada mais superficial (0-10 cm).

Análise da fosfatase ácida

As análises da enzima foram realizadas com solo peneirado a 2 mm proveniente da ½ da amostra da camada de 0-10 cm para cada repetição dos dois solos avaliados. A análise foi desenvolvida com adaptações ao método de Tabatabai; Bremner (1969); para a análise foi utilizado 1 g de solo com a mistura de 1 mL de p-nitrofenyl fosfato + 4 mL de uma solução tampão com pH 6,5 (MUB, pH 6,5), incubada com agitação durante 2 h a 35 ^{o}C em tubos Falcon de 50 mL, Após a incubação as amostras receberam de l mL $CaCl_2$ (0,5 mol L^{-1}) + 4 mL de um solução de tris(hidroximetil) aminometano (0,5 mol L^{-1}), os tubos foram agitados por 30 s e posteriormente centrifugados por 4 min a 300 RPM. Um volume de200 µL foi utilizado para medir a atividade da fosfatase por quantificação espectrométrica a 405 ηm do p-nitrofenol liberado na mistura centrifugada. Efetuou-se a análise em triplicata para cada uma das repetições do campo mais duas repetições de controle.

Carbono microbiano

O carbono da biomassa microbiana (Cmic) foi determinado pelo método de fumigação-extração (VANCE et al., 1987), para tanto utilizou-se solo peneirado a 2 mm provenientes de 1/2 camada superficial do solo dos TMEs (Figura 4.4) com três repetições laboratoriais, sendo três amostras fumigadas e três não fumigadas. A fumigação foi realizada com clorofórmio ($CHCl_3$). As amostras foram incubadas em dessecador por 24 h em 25 ºC e na ausência de luminosidade, após isto o CMic foi extraído com sulfato de potássio 0,5 mol L^{-1} (K_2SO_4) agitando por 30 min, permitindo a decantação por uma hora e procedida a filtração em filtro de papel. A leitura das amostras foi realizada através da oxidação destas com dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$). 66,7 mmol L^{-1} O teor de C solúvel foi determinado por titulação com $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 33,3 mmol L^{-1} na presença do indicador difenilamina (1%). O CMic foi calculado pela diferença entre carbono extraído do solo fumigado e não fumigado multiplicada pelo fator de correção KEC = 0,33, que representa a eficiência da extração de 33 %, proposto por Sparling; West (1988), para solos com baixo pH.

Decomposição da palhada - *Litter bags*

Os *litter bags* foram confeccionados com tela de nylon de 2 mm de abertura, com dimensões de 5 x 5 cm, contendo 0,5 g de aveia (*A. sativa*) seca a 65 ^{o}C por 48 h. Cada TMEs recebeu um *litter bag* que permaneceu no solo até o dia de desmontagem do experimento, quando então o conteúdo de cada um deles foi retirado, seco a 65 ^{o}C por 48 h e pesado, a diferença de peso entre o início e final do experimento foi atribuída a decomposição. Os dados foram apresentados em g da diferença obtida entre o início e final do experimento.

Matéria seca parte aérea

A determinação da produção de matéria seca (MS) dos tratamentos foi feita através do corte das plantas a 3 cm de altura do solo, o material coletado foi seco em estufa a 65 ^{o}C por 72 h e a matéria seca produzida foi expressa em g TME^{-1}.

Os tratamentos dos Tempos 2 e 3 de amostragem tiveram 2 e 3 cortes da pastagem, respectivamente, e a MS produzida foi expressa pela soma dos tempos. O corte realizado em cada um dos tempos foi feito para adicionar o DLS diretamente sobre o solo e também por essa ser um a prática amplamente difundida em nível de campo, onde os animais pastejam as áreas e então essas recebem uma aplicação de DLS

para favorecer o crescimento para o próximo período de pastejo.

Carbono orgânico total, nitrogênio total, enxofre total

Para determinação do teor de carbono orgânico total (COT), N total e S total amostras peneiradas a 2 mm e secas a 60 ºC foram moídas em gral de porcelana. Os elementos foram determinados por combustão seca pelo Autoanalisador de Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio e Enxofre (CNHS) equipamento Elementar Vario EL Cube®.

Fauna edáfica – catação manual e extração em funil de Berlese

A avaliação da fauna edáfica por catação manual foi feita para 1/2 da primeira camada de solo (0-10 cm) e para o volume total das demais camadas. Desta maneira, durante a desmontagem dos TMEs foi feita a triagem manual e contabilização dos organismos da macrofauna. Ainda para avaliação da fauna edáfica ¼ da camada superficial de cada TMEs foi levado ao Funil de Berlese para extração dos organismos pertencentes a mesofauna. O objetivo do uso destas

duas metodologias não foi comparar os métodos, mas sim coletar a totalidade de organismos das amostras.

Enquitreídeos

Para a contagem de enquitreídeos utilizou-se 120 g de solo retirado de ¼ da amostra da camada de 0-10 cm (mesma porção utilizada para estabilidade de agregados), o número de enquitreídeos foi avaliado após fixação com álcool (80%), colorindo com rosa de Bengala (solução de 1% em etanol) e peneiragem úmida (malha 103 mm).

Extração e morfotipagem de colêmbolos

Os colêmbolos coletados nas amostras, principalmente por Funil de Berlese, foram separados por eco morfotipos de acordo com a classificação usada por Carvalho, 2012. Nessa classificação cinco características morfológicas (olhos, antena, fúrcula, pelos e coloração) foram avaliadas e atribuídos pesos (0, 2 e 4), a soma dos pesos atribuídos às características determinaram o eco morfotipo do colêmbolo. Os eco-morfotipos foram então divididos em três categorias (epígeos, semiedáficos e edáficos) de acordo com a profundidade em que preferencialmente habitam o solo. Na Tabela 5.2 são

apresentadas as características e seus respectivos pesos, já a classificação dos eco-morfotipos está na Tabela 5.3.

Tabela 5.2 – Classificação de colêmbolos por tipos eco-morfológicos.

Característica	*Endpoint*	Peso
Olhos	Presente	0
	Ausente	4
Comprimento da antena	> comprimento do corpo	0
	> 0,5 x comprimento do corpo	2
	< 0,5 x comprimento do corpo	4
Fúrcula	Bem desenvolvida	0
	Reduzida/ Curta	2
	Ausente	4
Pelos /Escamas	Presente	0
	Ausente	4
Coloração	Colorido com padrões	0
	Colorido sem padrões	2
	Ausência de cor	4

Adaptado de Carvalho, 2012.

Tabela 5.3 – Classificação dos tipos eco-morfológicos

Morfotipos	
	Soma
Epígeos	0-6
Semiedáficos	8-12
Edáficos	14-20

Adaptado de Carvalho, 2012.

Análise estatística

Os resultados utilizados para a análise estatística deste experimento são provenientes de diferenças obtidas entre os resultados das amostras de Controle e das doses de DLS em cada um dos tempos para as variáveis estudadas. Para facilitar o entendimento de como essas diferenças foram obtidas segue o exemplo de uma das variáveis que foi medida durante a condução deste trabalho.

O exemplo que será descrito é para a variável umidade do NVd para o primeiro tempo de aplicação de DLS. De cada uma das amostras da dose 20 m^3 ha^{-1} foi subtraído o valor da leitura dos Controles, conforme representado na Tabela 6.1 pelas setas pretas.

Tabela 6.1– Representação da obtenção combinações a partir das diferenças entre o controle e osresultados dos tratamentos com 20m^3 ha^{-1} de dejeto para Umidade no Nitossolo Vermelho distroférrico.

Amostras (repetição)	Umidade (%)	Umidade (%)	Amostras (repetição)
Controle (1)	23,95	22,10	Dejeto 20 m^3 ha^{-1} (1)
Controle (2)	26,68	24,29	Dejeto 20 m^3 ha^{-1} (2)
Controle (3)	20,64	22,74	Dejeto 20 m^3 ha^{-1} (3)
Controle (4)	28,62	23,53	Dejeto 20 m^3 ha^{-1} (4)

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Após realizar esse procedimento para todas as amostras obteve-se 16 valores para cada uma das doses. Os valores obtidos no exemplo acima estão apresentados na Tabela 6.2.

Após obter as diferenças da subtração esses valores foram submetidos a ANOVA *one-way* e comparados através do teste de Dunnett ($P \leq 0,05$). Para tanto, os valores obtidos entre as diferenças das doses e o controle do Tempo 1 foram consideradas o Controle da análise e, portanto, a análise foi usada para saber se as diferenças dos tempos 2 e 3 eram maiores que as diferenças obtidas no Tempo 1.

Tabela 6.2– Diferenças obtidas a partir da subtração dos valores de leitura dos Controle da repetição 1 da dose 20 m^3 ha^{-1} de DLS.

Diferença entre DLS 20 m^3 ha^{-1} e Controle
-1,85
-2,39
2,10
-5,09

Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Os dados de fauna foram para cada tempo de avaliação submetidos a uma análise de Permutações Múltiplas – PERMANOVA com base no índice de similaridade de Bray-Curtis. Como forma de avaliar quais grupos que mais contribuíram para separação entre os tratamentos efetuou-se uma análise de similaridade - SIMPER, obtendo-se a contribuição de cada grupo para a dissimilaridade observada entre o controle e cada uma das doses de dejeto usadas, tais análises foram efetuadas no programa PRIMER 6.0 (CLARKE; GORLEY, 2006). Análise de Coordenadas Principais (PCoA) com base na matriz de similaridade após a aplicação do índice de Bray-Curtis foi realizada para obter uma representação gráfica das respostas nos diferentes tratamentos. Para gerar as coordenadas das amostras nos eixos utilizou-se a ferramenta

PRCoord 1.0 e o programa CANOCO 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 2002) para gerar os gráficos de PCoAs.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as variáveis medidas no experimento foram submetidas a ANOVA *one-way*, no entanto aqui serão abordadas apenas as variáveis que apresentaram diferenças significativas ($P<0,05$). É importante ressaltar que para realizar a ANOVA foram utilizadas as diferenças entre o controle e as doses de dejeto dentro dos Tempos 2 e 3 de avaliação e que foram consideradas estatisticamente diferentes os casos em que as diferenças eram maiores do que no Tempo 1. Para facilitar a apresentação dos resultados encontrados os efeitos serão descritos para cada classe de solo em separado (Cambissolo Húmico alumínico e Nitossolo Vermelho distrófico).

CambissoloHúmico alumínico

O resultado da PCoA (Figura 6.1) mostra que houve separação do tratamento de 20 m^3 ha^{-1} dos demais, também foi possível perceber relação entre o grupo chilopoda e o controle,

esse grupo esteve presente apenas nesse tratamento o que pode significar que a utilização de DLS causa efeitos negativos sobre a presença de chilopodas. Os tratamentos de 50 e 150 m^3 ha^{-1} não apresentaram clara associação com grupos específicos da fauna edáfica. A explicação para o eixo 1 foi de 35,6 % e do eixo 2 foi de 25,4 %.

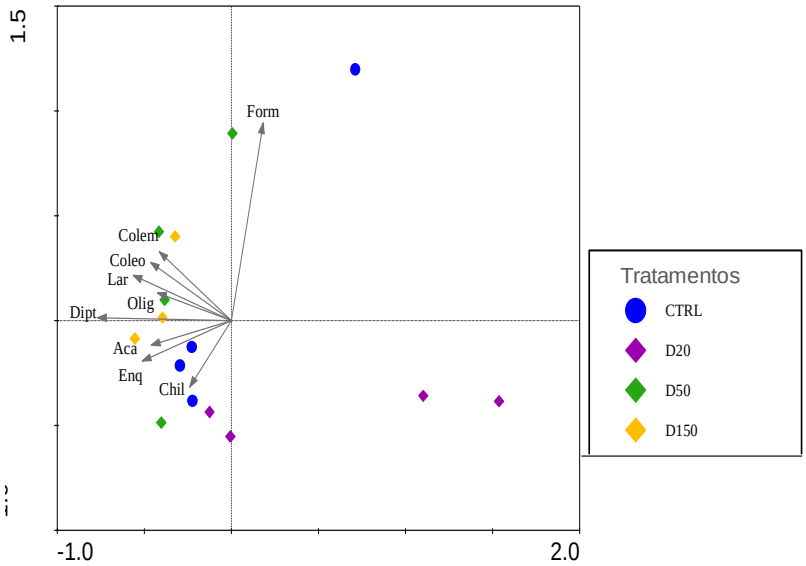

Figura 6.1- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Cambissolo Húmico alumínico no primeiro tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enquitreídeo (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Para verificar se houve diferenças na composição das comunidades da fauna entre os tratamentos foi utilizada PERMANOVA e para identificar os grupos que foram responsáveis por essas diferenças utilizou-se análise de similaridade de SIMPER. Os resultados desta análise mostram que apenas a dose de 150 m^3 ha^{-1} foi significativa e nesse caso a maior contribuição foi dos grupos larva, ácaro, formiga e colêmbolos com 30,9, 19,1, 13,3 e 11,8 %, respectivamente.

A PCoA gerada com os dados de frequência de cada grupo da fauna edáfica para o segundo tempo de avaliação (Figura 6.2) mostra que ocorre maior separação dos tratamentos com 50 e 150 m^3 ha^{-1} dos demais tratamentos e há relação entre as maiores doses de DLS e a presença de larvas. A PCoA também apresenta maior separação entre o tratamento com 20 m^3 ha^{-1} e o controle. O comportamento dos grupos nesse segundo tempo de avaliação mostra que existe efeito do uso de DLS ao longo do tempo, pois diferentemente do Tempo 1 os tratamentos estão separados entre si. A explicação para o eixo 1 foi de 38,1 % e do eixo 2 foi de 21,6 %.

Os resultados obtidos a partir da PERMANOVA para o Tempo 2 apontaram diferença entre o controle e o tratamento

150 m^3 ha^{-1} e os grupos que mais contribuíram para as diferenças entre as comunidades destes dois tratamentos foram larvas e formigas com 31,6 e 14,2 %, respectivamente.

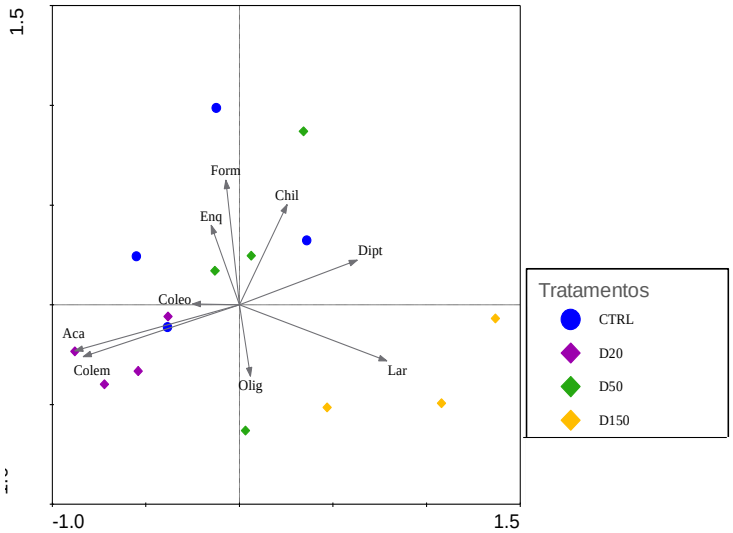

Figura 6.2- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Cambissolo Húmico alumínico no segundo tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

O terceiro tempo de avaliação mostra separação do tratamento 150 m^3 ha^{-1} (Figura 6.3). A explicação do primeiro eixo da PCoA foi de 41,7 % e do segundo eixo foi de 23,3 %.A separação apontada na PCoA é confirmada pela

PERMANOVA que mostra que há diferença na composição da fauna entre esse tratamento e o controle. As diferenças são causadas pelos grupos larvas com 30,5 % de contribuição e que está especialmente associado a maior dose de DLS, e também aos grupos colêmbolos, ácaros, enquitreídeos e minhocas com 13,7, 11,7, 10,5, 10,3 % de contribuição, respectivamente e que estão relacionados aos demais tratamentos.

Os resultados da ANOVA apontaram oito variáveis onde as diferenças obtidas entre as doses e o controle foram maiores nos Tempos 2 e 3 do que no Tempo 1 o que significa dizer que para essas variáveis ocorreu efeito após a reaplicação de DLS.

As variáveis relacionadas a atividade biológica que foram significativas para o Tempo 2 e 3 foram riqueza de grupos edáficos, carbono microbiano (Cmic), emissão de CO_2 ao décimo dia (CO_2_10) e atividade da fosfatase ácida (Fosf.) (Figura 6.4). A riqueza de grupos foi reduzida nas doses de 50 e 150 m^3 ha^{-1} para o Tempo 2, e na dose de 150 m^3 ha^{-1} para o Tempo 3. Essa redução significa que os efeitos sobre a fauna do solo foram mais pronunciados nas segunda e terceira aplicações de DLS, demonstrando a importância de

considerarmos efeitos da aplicação continuada no solo sobre a biodiversidade da fauna edáfica.

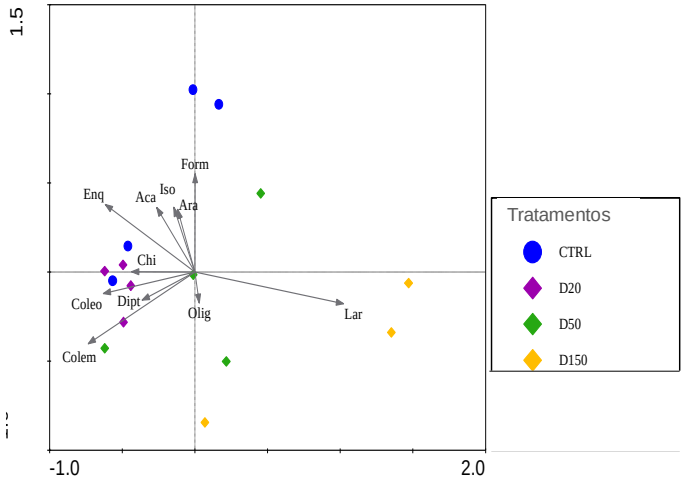

Figura 6.3- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Cambissolo Húmico alumínico no segundo tempo de avaliação. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Isopoda (Iso), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

O Cmic foi mais elevado nas doses de 50 e 150 m^3 ha^{-1} no Tempo 2 e 150 m^3 ha^{-1} no Tempo 3, essa variável tende a ser mais elevada quando é realizada aplicação de material orgânico de fácil decomposição como é o caso do DLS, aliado ao aumento do Cmic ocorreu maior emissão de CO_2 para a

maior dose de DLS nos 2 tempos de leitura, indicando que a maior atividade microbiológica (Cmic) promoveu a maior decomposição do material e liberação de CO_2. Como consequência da maior atividade biológica também ocorre maior taxa de decomposição do *litter bag* na maior dose de DLS no último tempo.

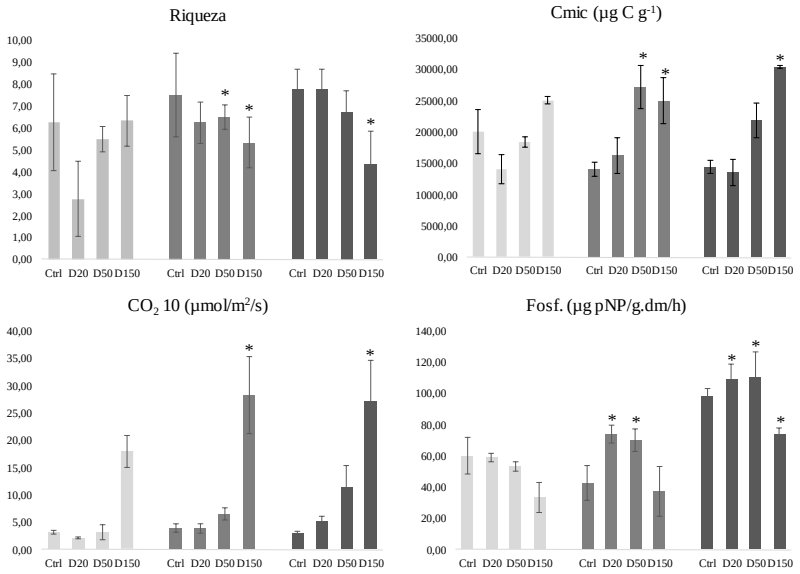

Figura 6.4– Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Cambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Tempo 1 (▒), Tempo 2 (■) e Tempo 3 (■). (┬) Desvio padrão.Variáveis significativas (*).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

A atividade da fosfatase ácida foi maior com a aplicação de DLS exceto na dose de 150 m^3 ha^{-1} para o tempo 2. A fosfatase ácida é responsável pela mineralização do P orgânico, e sua atividade foi aumentada pelo aporte de P via DLS, no entanto na dose de 150 m^3 ha^{-1} no Tempo 2 sua atividade foi reduzida, o que pode ser resposta da alta concentração de P na solução do solo, fato que causa inibição na atividade desta enzima.

O carbono orgânico (CO) também variou com a dose, com aumentos no seu teor apenas na dose de 150 m^3 ha^{-1} no Tempo 2. No T3, a umidade do solo foi maior em todas as doses de DLS o que se deve ao aumento na CRA que ocorre após a aplicação de DLS nos solos. O Zn apresentou maior concentração em todas as doses de DLS no tempo 2, esse comportamento não foi observado no Tempo 3, mas pode ter ocorrido maior lixiviação deste elemento nas amostras do Tempo 3 (Figura 6.5).

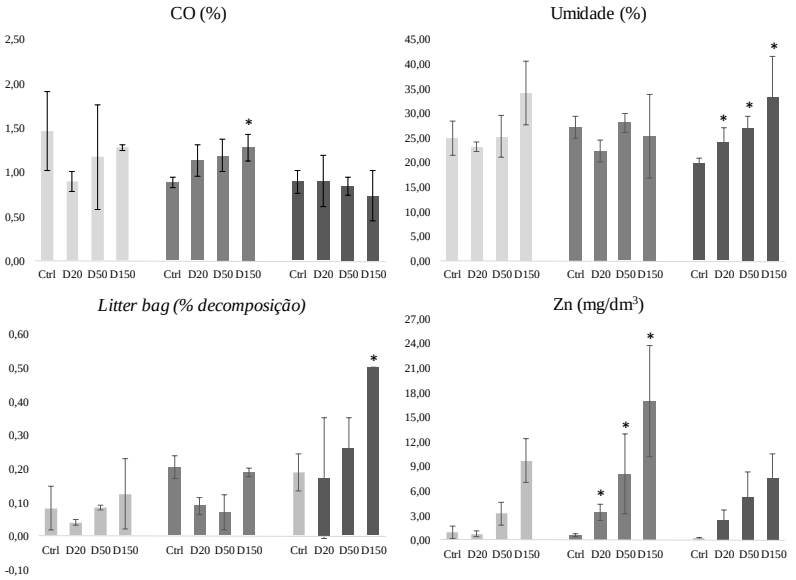

Figura 6.5– Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Cambissolo Húmico alumínico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Tempo 1 (■), Tempo 2 (■) e Tempo 3 (■). (┬) Desvio padrão.Variáveis significativas (*).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Nitossolo

Na Figura 6.6 está apresentado o resultado da PCoA para o primeiro Tempo de avaliação no NVd. Há uma clara relação entre o tratamento com 150 m^3 ha^{-1} e a presença de larvas, também existe associação dos tratamentos controle e 20

m^3 ha^{-1}com a maior diversidade de grupos. A explicação para o eixo 1 foi de 56,2 % e do eixo 2 foi de 13,9 %.

Com base no resultado da PERMANOVA a dose de 150 m^3 ha^{-1} teve diferente composição da comunidade edáfica especialmente causada pelos grupos larva, hymenoptera e ácaro com 25,0, 17,0 e 10,7 %, respectivamente.

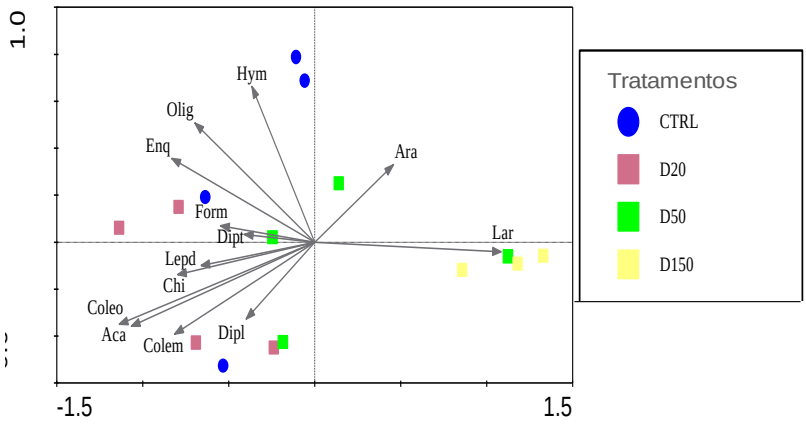

Figura 6.6- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférrico no primeiro tempo de avaliação. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Hymenoptera (Hym), Larvae (Lar), Lepidoptera (Lepd) e Oligochaeta (Oligo).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Para o segundo tempo (Figura 6.7) de avaliação a PCoA mostra que, da mesma maneira que no Tempo 1, ocorreu maior separação do tratamento com 150 m^3 ha^{-1} e há relação entre a maior dose de DLS com a presença de larvas. Os demais tratamentos não têm separação ou relação tão nítida. A explicação para o eixo 1 foi de 39,7 % e do eixo 2 foi de 18,0 %.

Os resultados obtidos a partir da PERMANOVA para o Tempo 2 indicaram diferença entre o controle e os tratamentos 50 e 150 m^3 ha^{-1} de DLS e os grupos que mais contribuíram para as diferenças entre as comunidades destes dois tratamentos foram formigas, minhocas, colêmbolos e ácaros com 25,5, 12,1, 11,4 e 10,2 %, respectivamente para a dose de 50 m^3 ha^{-1}. Já para a dose de 150 m^3 ha^{-1} os grupos que promoveram as diferenças na comunidade edáfica foram formigas, larvas, colêmbolos e minhocas com contribuição de 25,5, 19,0, 12,2 e 10,6 %, respectivamente.

A PCoA do terceiro tempo de avaliação mostra separação do tratamento 150 m^3 ha^{-1} (Figura 6.8). A explicação para o eixo 1 foi de 33,4 % e do eixo 2 foi de 18,8 %. As diferenças na composição da fauna edáfica foram confirmadas

pela PERMANOVA e causadas pelos grupos ácaros, dípteras, eco morfotipo de colêmbolos 8, larvas e enquitreídeos com 22,3, 15,7, 12,5, 10,8 e 10,6 % de contribuição, respectivamente.

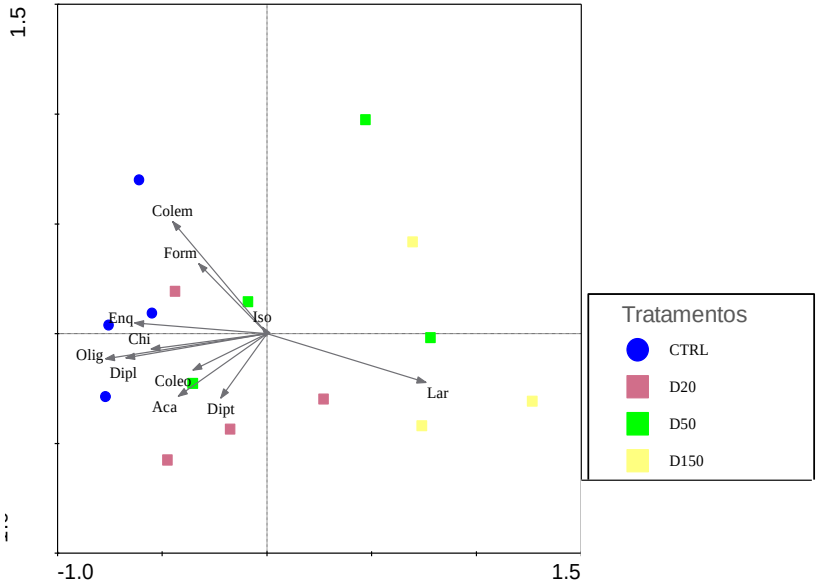

Figura 6.7- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférricono segundo tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Isopoda (Iso), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Diferentemente do CHa o NVd foi menos sensível ao efeito da aplicação repetida de DLS. Para esse solo apenas três variáveis foram significativamente diferentes, e nenhuma delas está relacionada a presença de algum elemento químico no solo, esse comportamento se deve ao fato de que a área em que este solo foi coleta é corrigida para nutrientes anualmente, desta maneira é possível que os nutrientes em excesso que foram adicionados via dejeto tenham sofrido lixiviação e, portanto, não alterou de maneira significativa a presença deles no solo.

As variáveis que apresentaram diferença estatística (Figura 6.9) foram a riqueza de grupos da fauna edáfica para as doses de 20 e 50 m^3 ha^{-1} nas quais a diversidade de grupos diminuiu em relação ao Tempo 1, a dose mais elevada não teve esse comportamento pois já na primeira aplicação houve uma grande redução no número de grupos, para o Tempo 3 essa variável não foi significativa, pois o controle desse tempo já apresentou baixo número de grupos, o que pode ser resposta do tempo de manutenção do experimento em condições laboratoriais.

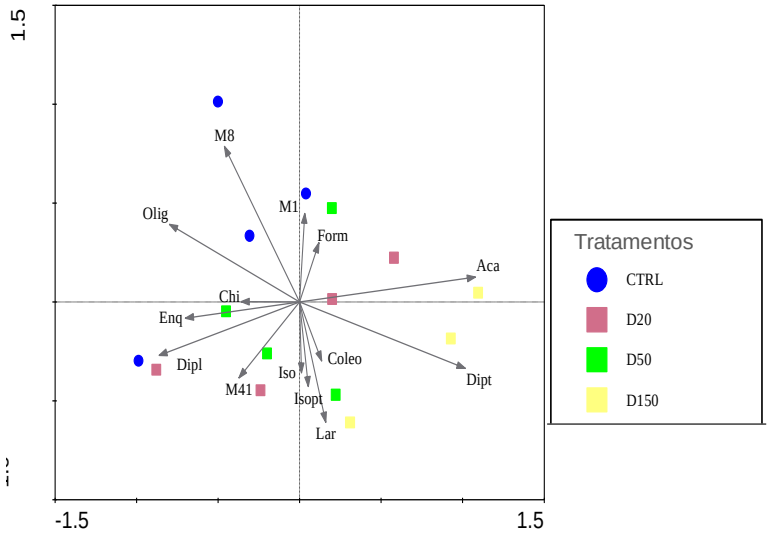

Figura 6.8- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento para Nitossolo Vermelho distroférrico no terceiro tempo de avaliação. Acarina (Aca), Chilopoda (Chil), Coleoptera (Coleo), Diplopoda (Dipl), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Isoptera (Isopt), Isopoda (Iso), Larvae (Lar), Morfotipo edáfico (M1 e M8), Morfotipo semi-edáfico (M41) e Oligochaeta (Oligo).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

A emissão de CO_2 também foi significativamente maior na dose de 150 m^3 ha^{-1} para os Tempos 2 e 3 mostrando que a aplicação de grandes volumes de DLS ao longo do tempo aumenta o CO_2 emitido, o que ocorre devido ao material de

fácil decomposição que está presente no DLS, outra variável que mostra que ocorreu maior decomposição na dose mais elevada e no último tempo de aplicação foi a taxa de decomposição do *litter bag*, que se apresentou maior conforme pode ser visto na Figura 6.9.

Alterações causadas na estrutura da comunidade edáfica foram em sua maioria influenciados pelo aumento na presença de larvas, especialmente na aplicação da maior dose de DLS. A aplicação de resíduos orgânicos como o DLS pode atrair moscas para realizarem a oviposição nesse material (PAIVA, 2004) e assim aumentar o número de larvas presente nas amostras.

Outro grupo que apresentou influencia entre os tempos de avaliação foram os ácaros com aumento na abundância, Bosch-Serra et al. (2014) também encontraram aumento na abundância de ácaros com a aplicação de dejeto de suínos e ainda afirmam que a presença de ácaros é consequência do seu longo período de vida, o que faz com que esse grupo seja muito utilizado na avaliação de efeitos a longo prazo. A presença de ácaros pode ser resposta ao aumento nos ácaros decompositores que tiveram sua abundância influenciada pelo

aporte de material orgânico, esse mesmo comportamento foi relatado por Silva et al. (2014) também utilizando DLS.

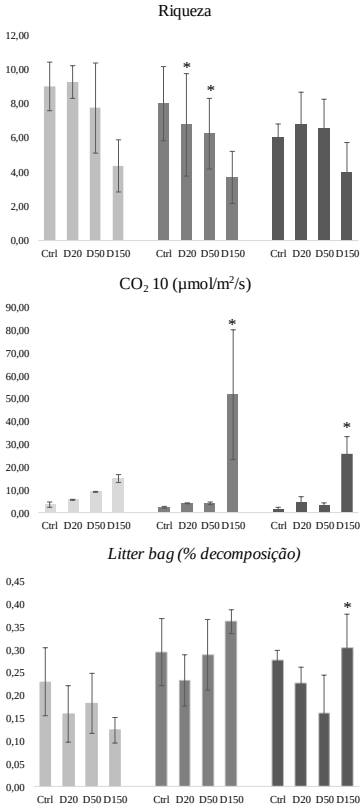

Figura 6.9– Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Nitossolo Vermelho distrófico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Tempo 1 (■), Tempo 2 (■) e Tempo 3 (■). (┬) Desvio padrão.Variáveis significativas (*).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Trabalhos como o de Kautz et al. (2006), Alves et al. (2008), Ponce et al. (2011), Bosch-Serra et al. (2014) reportam

aumento na abundância de organismos no solo associada, principalmente, a oferta de alimento imediato que ocorre após a aplicação do resíduo. No entanto, no presente trabalho a abundância não foi alterada mesmo com o aumento no número de larvas e ácaros, isso ocorreu devido ao desaparecimento de alguns grupos como o caso de chilopodas e minhocas. A redução na riqueza de grupos após o uso de dejeto de suínos já foi relatada por Bolger; Curry (1984), Decaëns et al. (1999), Baretta et al. (2007). Além do efeito do DLS na riqueza de organismos outro efeito que pode ter ocorrido foi o período experimental, de acordo com Cole et al., (2004) a utilização de microcosmos pode causar redução na densidade de espécies, esse fator pode ser visto no presente trabalho, mesmo sendo mesoosmos, quando observado que o Tempo 3 do NVd que apresentou redução na riqueza de grupo não apenas nos tratamentos que receberam DLS, mas também no controle, podendo assim, ser resposta ao período e ao sistema de condução do experimento em condições laboratoriais.

Para o NVd além de larvas e ácaros outros importantes grupos que influenciaram a composição da comunidade foram formigas e minhocas, que tiveram sua frequência reduzida com

o passar do tempo e quanto maior dose de DLS aplicada. A facilidade de locomoção das formigas (PARR et al., 2007) e das minhocas pode ter sido fator determinante na redução da frequência deste grupo, pois na metodologia utilizada (TMEs) não tem como evitar que esses organismos saiam das amostras.

Ainda para o NVd outra importante alteração ocorrida foi a significativa influência do eco morfotipo de colêmbolo (M8) para o terceiro tempo de avalição. Esse é um eco morfotipo classificado como edáfico (CARVALHO, 2012) caracterizado por possuir tamanho de antenas reduzido, pouca pigmentação, ausência de ocelos e, portanto, baixa capacidade de dispersão. A presença do M8 pode estar diretamente relacionada a maior umidade presente nesse solo, assume-se tal ponto por saber que colêmbolos, especialmente os classificados como edáficos, são extremamente sensíveis a baixa umidade dos solos (CARVALHO, 2012). Além disso os colêmbolos edáficos estão essencialmente relacionados ao processo de decomposição da matéria orgânica (SANTOS, 2008).

O aumento no Cmic e na emissão de CO_2 são respostas ao aporte de resíduos orgânicos no solo de fácil decomposição como o DLS. O comportamento destas duas variáveis indica que ocorre maior atividade biológica, seja essa promovida pelo estresse da alteração brusca na condição edáfica do meio ou

como resposta a presença de alimento no solo, que estimula o crescimento da microbiota (OLIVEIRA et al., 2009). A utilização destas variáveis já tem sido relatada para avaliar os efeitos do uso de resíduos orgânicos (YADA et al., 2015), e trabalhos utilizando dejeto de suíno tem demonstrado maior Cmic (QUADRO et al., 2011) e maior emissão de CO_2 (BERTORA et al., 2008; TERHOEVEN-URSELMANS et al., 2009).

O aumento na atividade da fosfatase ácida e do Cmic são fortes indicadores de que ocorreu aumento na biomassa microbiana e por consequência na síntese de fosfatase (NANNIPIERI et al., 2002). De acordo com Aira et al. (2007) a atividade da fosfatase também é aumentada na presença de minhocas, devido a presença de enzimas extracelulares liberadas no ambiente pelas minhocas, neste trabalho o CHa apresentava maior número de minhocas que o NVd o que pode ter contribuído para a significativa diferença da fosfatase apenas no CHa.

As diferenças encontradas para a concentração de Zn no CHa ocorreram devido o aporte deste nutriente proveniente da aplicação de DLS. O acúmulo de nutrientes nos solos, como

resultado desta prática agrícola já foi reportado na literatura em diversos trabalhos avaliando o uso agrícola de DLS (GESSEL et al., 2004; QUEIROZ et al., 2004; SCHERER et al., 2007; SCHERER et al., 2010). Esse resultado mostra também que o CHa além de ser mais suscetível a alterações na fauna edáfica, na atividade microbiológica apresenta também efeitos nas características químicas do solo.

6.4 CONCLUSÕES

O Cambissolo Húmico alumínico foi mais susceptível aos efeitos causados pelo uso de dejeto líquido de suínos que o Nitossolo Vermelho distrófico.

A dose de 150 m^3 ha^{-1} causou alterações na composição dos grupos da fauna edáfica em ambos os solos.

Efeitos da reaplicação de dejeto líquido de suínos na comunidade edáfica do Cambissolo Húmico alumínico foram mais evidentes do que no Nitossolo Vermelho distrófico.

Aumento na presença de larvas e ácaros foi a característica que mais contribuiu para as diferenças entre os três tempos de avaliação para os dois solos.

Referências

AIRA, M.; MONROY, F.; DOMÍNGUEZ, J. Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry. **Science of the Total Environmental**, sl., v. 385, p. 252-261, 2007.

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

BARETTA, D.; BROWN, G. G.; JAMES, S. W.; CARDOSO, E. J. B. N. Earthworms populations sampled using collection methods in Atlantic Forests with *Araucaria angustofolia*.**Scientia Agricola**, sl., v. 64, p. 384-392, 2007.

BERTORA, C.; ALLUVIONE, F.; ZAVATTARO, L.; VAN GROENIGEN, J. W.; VELTHOF, G.; GRIGNANI, C. Pig slurry treatment modifies slurry composition, N_2O, and CO_2 emissions after soil incorporation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 1999-2006, 2008.

BOLGER, T.; CURRY, J. P. Influences of pig slurry on soil microarthropods in grassland. **Revue d Ecologie et de Biologie du Soil**, sl. v. 21, p. 269-281, 1986.

BOSCH-SERRA, A. D.; PADRÓ, R.; BOIXADERA-BOSCH, R. R.; OROBITG, J.; YAGÜE, M. R. Tillage and slurry over-fertilization affect oribatid mite communities in a semiarid Mediterranean environment. **Applied Soil Ecology**, Barcelona, v. 84, p. 124-139, 2014.

CARVALHO, F. C. **Efeito de diferentes tipos de gestão em olivais nos microatrópodes de solo usando uma abordagem funcional**. 2012. 56f. Dissertação de Mestrado- Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012. 56f.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. **Software PRIMER v5**. Plymouth. PRIMER-E, UK, 2001.

COLE, L.; DROMPH, K. M.; BOAGLIO, V.; BARDGETT, R. D.; Effect of density and species richness of soil mesofauna on nutriente mineralization and plant growth. **Biology and Fertility of Soils**, sl. v. 39, p. 337-343, 2004.

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

DECAËNS, T.; JIMÉNEZ, J. J.; LAVELLE, P. Effecst of exclusion of the anecic earthworm *Martiodrilus carimaguensis* Jiménez and Moreno on soil properties and plant growth in grassland of the eastern plains of Colombia. **Pedobiologia**, Jena, v. 48, p. 835-841, 1999.

GESSEL, P. D.; HANSEN, N. C.; MONCRIEF, J. F.; SCHMITT, M. A. Rate of fall-applied liquid swine manure: Effects on runoff transport of sediment and phosphorus. **Journal of Environmental Quality**, sl., v. 33, p. 1839-1844, 2004.

KAUTZ, T.; LÓPEZ-FANDO, C.; ELLMER, F. Abundance and biodiversity of soil microarthropods as influenced by diferente types of organic manure in a long-term field experimente in Central Spain. **Applied Soil Ecology**, Barcelona, v. 33, p. 278-285, 2006.

KEMPER, W. D.; CHEPIL, W. S. Size distribution of aggregation. In: BLACK, C. A. **Methods of soil analysis**. Madison: American Society Agronomy, p. 499-510, 1965.

NANNIPIERI, P.; KANDELER, E.; RUGGIERO, P. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: BURNS, R. G.; DICK, R. (Eds.) **Enzymes in the environmental**. New York: Marcel Dekker, p. 1 – 33. 2002.

OLIVEIRA, M.; MARIA, V. L.; AHMAD, I.; SERAFIM, A.; BEBIANNO, M. J.; PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Contamination assessment of a coastal lagoon (Rio de Aveiro, Portugal) using defence and damage biochemical indicators in gill of *Liza aurata* – an integrated biomarker approach. **Environmental Pollution**, Londres, v. 157, p. 959-967, 2009.

PAIVA, D. P. **Controle de moscase borrachudos baseado no manejo de dejetos em criações de suínos.** Concórdia, Embrapa Suínos e Aves, 1994. 3p. (Comunicado Técnico, 208).

PARR, C. L.; ANDERSEN, A. N.; CHASTAGNOL, A.; DUFFAUD, C. Savanna fires increase rates and distances of seed dispersal by ants. **Oecologia**, Berlim, v. 151, p. 33-41, 2007.

PONCE, C.; BRAVO, C.; GARCÍA DE LEÓN, D.; MAGAÑA, M.; ALONSO-LÓPEZ, J. C. Effects of organic farming on plant and arthropod communities: a case study in Mediterranean dryland cereal. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdan, v. 141, p. 193-201, 2011.

QUADRO, M. S.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; VIVIAN, G. Biomassa e atividade microbiana em solos

acrescidos de dejeto suíno. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v. 17, p. 85-93, 2011.

QUEIROZ, F. M.; MATTOS, A. F.; PEREIRA, O. G.; OLIVEIRA, R. A. Características químicas de solo submetido ao tratamento com esterco líquido de suínos e cultivado com gramíneas forrageiras**. Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1487-1492, 2004.

SANTOS, P. **Utilização de colêmbolos edáficos (Insecta: Collembola) como indicadores de qualidade do solo, com recurso a características funcionais.** 2008. 81 f. Dissertação de Mestrado em Ecologia – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2008.

SCHERER, E. E.; BALDISSERA, I. T.; NESI, C. N. Propriedades químicas de um Latossolo Vermelho sob plantio direto e adubação com esterco de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 123-131, 2007.

SCHERER, E.E.; NESI, C.N.; MASSOTTI, Z. Atributos químicos do solo influenciados por sucessivas aplicações de dejetos suínos em áreas agrícolas de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.1375-1383, 2010.

SILVA, R. F.; BERTOLLO, G. M.; CORASSA, G. M.; COCCO, L. B.; STEFFEN, R. B.; BASSO, C. J. Doses of liquid swine sllurry on soil biota community under no tillage and minimum tillage. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, p. 418-424, 2014.

SPARLING, G.P.; WEST, A.W. A direct extraction method to estimate soil microbial - C - calibration in situ using microbial respiration an 14Clabeled cells. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, n.3, 20:337-343, 1988.

TABATABAI, M. A.; BREMMER, J.M. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 1, p. 301-307, 1969.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** 2 ed.Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147 p.

TER BRAAK, C. J. F.; SMILAUER, P. **CANOCO**. Reference manual and CanoDraw for Windows user´s guide: Software for Canonical Comunitiy Ordination, version 4.5. Microcomputer Power, Ithaca, 2002.

TERHOEVEN-URSELMANS, T.; SCHILLER, E.; RAUBUCH, M.; LUDWIG, B.; JOERGENSEN, R. G. CO_2 evolution and N mineralization after biogas slurry application in the fields and its yield effects on spring barley. **Applied Soil Ecology**, Barcelona, v. 42, p. 297-302, 2009.

VAN GESTEL, C. A. M. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. **ZooKeys**, sl, v. 176, p. 275–296, 2012.

VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, Campinas: Instituto Agronômica, 2001. 400p.

VANCE, E.D.; BROOKS, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 19:703-707, 1987.

VELTHORST, E. J. **Manual for Chemical Water Analysis**. Wageningen: Agricultural University. 1993.

YADA, M. M.; MELO, W. J.; MINGOTTE, F. L. C.; MELO, V. P.; MELO, G. M. P. Chemical and biochemical properties of oxisols after sewage sludge application for 16 years. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, p. 1302-1310, 2015.

CAPÍTULO 7

Avaliação do efeito da aplicação de dejeto líquido de suínos na fauna edáfica em solos com e sem histórico de uso de dejeto líquido de suínos

Resumo

Avaliações da qualidade ambiental dos corpos receptores de resíduos tem recebido cada vez mais maior atenção, especialmente em se tratando de resíduos orgânicos. Tais resíduos são utilizados como fertilizantes ou condicionantes agrícolas, mas o seu uso sem critérios tem causado grandes impactos ambientais no solo e na água. O potencial de uso de dejeto líquido de suínos (DLS) como fertilizante agrícola tem sido uma alternativa para seu descarte, mas sua aplicação a longo prazo pode oferecer riscos ecotoxicológicos no solo. Este estudo objetivou avaliar o uso histórico de DLS como fertilizante agrícola, para tanto TMEs (*Terrestrial Model Ecosystems)* de duas áreas de Integração Lavoura-Pecuária sobre um Nitossolo Vermelho distroférricoforam coletados, uma das áreas sem histórico de uso de DLS e outra com uso de DLS ao longo de 20 anos. Três doses de DLS 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}foram aplicadas aos TMEs e avaliou-se alterações causadas na estrutura das comunidades edáficas. Os dados referentes a fauna edáfica foram estatisticamente avaliados por análises de PERMANOVA, SIMPER, PCoA, ANOVA com comparações por Dunnett e os resultados obtidos das análises químicas e

físicas foram comparados por teste *t*. O uso histórico de DLS promove a presença de grupos de organismos mais adaptados a fertilização com esse resíduo, uma vez que a aplicação de DLS provocou alterações na estrutura da comunidade edáfica apenas na área sem histórico de uso de DLS.

Palavras-chave: comunidade edáfica nativa, uso histórico de dejeto líquido de suínos, Nitossolo Vermelho distroférrico.

Abstract

Reviews of the environmental quality of the waste receiving bodies has received increasingly more attention, especially in the case of organic waste. Such waste is used as fertilizer or agricultural conditions, but its use without criteria has caused major environmental impacts on soil and water. The potential use of pig slurry (PS) as agricultural fertilizer has been an alternative to its disposal, but their long-term application can provide ecotoxicological risks on the ground. This study aimed to evaluate the historical use of PS as agricultural fertilizer, for both TMEs (Terrestrial Model Ecosystems) two areas Integration Crop-Livestock on a Nitosol was collected, one of the areas without PS usage history and another with the use of PS over 20 years. Three doses PS 20, 50 and 150 m^3 h^{-1} were applied to TMES and evaluated changes caused in the structure of the soil communities. The data on soil fauna were statistically evaluated by analysis of PERMANOVA, SIMPER, PCoA, ANOVA with comparisons by Dunnett and the results of chemical and physical analyzes were compared by t test. The historical use of PS promotes the presence of more groups of organisms adapted fertilization with this waste, since the application of DLS caused changes in the soil community structure only in the area without PS usage history.

Keywords: native edaphic community, historical use of liquid pig slurry, Nitosol.

7.1 INTRODUÇÃO

O aumento da intensificação produtiva de suínos ocorre, especialmente, em propriedades com limitado espaço territorial e pequena área agricultável, associada a essa realidade tem-se o grande volume de dejetos de suínos que é gerado nas propriedades suinícolas. Em muitas dessas propriedades os dejetos são utilizados continuamente nas mesmas áreas com frequência e quantidades excessivas em relação à capacidade de absorção pelas plantas cultivadas (SEGANFREDO et al., 2003; GIROTTO et al., 2010; MATTIAS et al., 2010).

A disposição intensiva de dejetos de suínos pode promover acúmulo de elementos com menor mobilidade, entre os quais P, Cu e Zn (SCHERER et al., 2007), no entanto aplicações sucessivas de dejetos líquido de suínos podem aumentar a quantidade das formas solúveis e trocáveis no solo, potencializando, assim, a toxidez (BASSO et al., 2012) às plantas e a biota do solo (ALVES et al., 2008).

Vale destacar que outros países já tiveram grandes problemas relacionados a poluição ambiental pela utilização de dejeto de suínos como fertilizante agrícola, como o caso da Alemanha (FEDERAL ENVIRONMENTAL AGENCY, 1998); da Holanda onde foi necessário reduzir o número de

animais no plantel (KETELLARS; MEER, 1998) e da Bélgica (VLASSAK, 1994) e os problemas encontrados nesses países são considerados uma resposta do acúmulo de nutrientes do solo causado pelo uso ao longo do tempo nas mesmas áreas e esses impactos são de difícil, onerosa e lenta resolução.

A adição de dejetos suínos em sistemas agrícolas pode influenciar a biologia do solo (BARETTA et al., 2003) e, portanto, provocar alterações relacionadas com a degradação do solo, aumento da compactação, saturação de alumínio, redução na quantidade de carbono, toxidez por excesso de fertilizantes minerais e/ou orgânicos e queda da biomassa herbácea (ALVES, 2007). Alguns trabalhos sobre alterações na fauna edáfica, ocasionada pelo uso de dejetos de suínos, podem ser encontrados na literatura (ANDRÉS; DOMENE, 2005; DOMENE et al., 2007; ALVES et al., 2008), porém de acordo com Basso et al. (2012) estudos detalhados que visem fazer um diagnóstico da situação dos solos que recebem periodicamente aplicações de dejetos de suínos são escassos.

Se a utilização de dejeto líquido de suínos causa alterações na estrutura da comunidade edáfica e promove o acúmulo de elementos no solo, a utilização histórica deste

resíduo pode, então, originar diminuição da diversidade da fauna do solo e ou favorecer a presença de espécies ou grupos que sejam resistentes à sua aplicação o que pode resultar em perdas no funcionamento do ecossistema (DECAËNS et al., 1999).

Avaliar a variabilidade dos grupos edáficos presentes em áreas utilizadas para o descarte de dejeto líquido de suínos pode ajudar a compreender qual o impacto desta prática a partir da exclusão de um ou mais organismos edáficos. Esta hipótese foi testada utilizando ensaios com TMEs, onde se comparou os efeitos da adição de dejeto líquido de suínos em um solo sem histórico de uso do resíduo e outro com histórico de utilização de dejeto líquido de suínos como fertilizante agrícola.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Dejeto líquido de suínos

O dejeto líquido de suínos (DLS) foi coletado diretamente da baia na unidade produtora de suínos de terminação da EMBRAPA Suínos e Aves. Para ser utilizado esse material passou por um processo de estabilização química por 120 dias como recomendado por Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFRS/SC, 2004), e foi mantido

congelado a – 4 ºC para que não sofresse alterações em suas características químicas.

A caracterização do DLS foi feita segundo a metodologia de van Raij (2001) e o percentual de carbono e nitrogênio total do solo foram analisados pelo método de combustão total utilizando o analisador elementar LECO-CN 2000. Na Tabela 2.1 estão apresentadas as características físico-químicas do DLS.

7.2.2 Doses

As doses utilizadas para os dois solos foram 20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}, definidas de acordo com os resultados obtidos nos experimentos descritos nos Capítulo 2 e 3 e apresentados a seguir:

EC_{50} para colêmbolos – CHe 15,3 m^3 ha^{-1} (14,3 – 16,4 m^3 ha^{-1})
NVd 15,8 m^3 ha^{-1} (12,7 – 19,0 m^3 ha^{-1})

EC_{50} para minhocas – CHe 112,0 m^3 ha^{-1} (68,4– 133,4 m^3 ha^{-1})
NVd não foi possível calcular

EC_{50} para enquitreídeo – CHe 17,7 (10,8 – 24,5 m^3 ha^{-1})
NVd 45,0 (30,2 – 59,9 m^3 ha^{-1})

EC_{50} para ácaros – CHe 92,5 m^3 ha^{-1} (73 - 112 m^3 ha^{-1})

NVd 82,6 m^3 ha^{-1} (65,3 – 99,9 m^3 ha^{-1})

7.2.3 Áreas de coleta de TMEs

Duas diferentes áreas foram selecionadas para realizar a coleta dos TMEs, a primeira delas (área sem histórico de uso de dejeto – SH) em um Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd), localizada no município de Concórdia, SC, na área experimental da Embrapa Suínos e Aves (27.068702, -52.623913). Essa área foi utilizada em um sistema de Integração Lavoura-Pecuária, e não tinha histórico de uso de dejeto líquido de suínos nos últimos 10 anos. No momento da coleta essa área estava sendo utilizada para o cultivo de aveia (*Avena sativa*)

A segunda área escolhida (área com histórico – CH) também sobre um Nitossolo Vermelho distroférrico (NVd), localizada no município de Concórdia, SC, na área experimental da Embrapa Suínos e Aves (-27.312418, -51.993896). Essa área era utilizada para um sistema de cultivo de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e que recebe adubação orgânica com DLS há 20 anos. As amostras foram coletadas no espaçamento entre linhas de cultivo, as quais possuíam 4 m de largura, as entrelinhas estavam cultivadas com *A. sativa* no

momento da coleta. As características físico-quimica dos solos esta apresentada na Tabela 5.1 (Capítulo 5).

7.2.4 Metodologia de coleta, tratamentos e delineamento estatístico

Para cada uma das áreas foram coletados 20 TMEs, com o auxílio de uma retroescavadeira que introduzia o amostrador + tubo de PVC no solo e então removia-os do solo, o tubo de PVC contendo a amostra de solo era então retirado do amostrador e levado para o laboratório. O esquema da coleta está detalhado na Figura 5.1 (Capítulo 5).

Os tratamentos constituíram da combinação de cada um dos solos com as três doses de DLS (20, 50 e 150 m^3 ha^{-1}) aplicadas uma única vez aos TMEs. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com cinco repetições para cada tratamento.

7.2.5 Manutenção do experimento

Os TMEs, em laboratório, foram armazenados em *carts* que simulavam as condições de campo de um solo com o auxílio de uma serpentina de resfriamento, na parte de baixo dos tubos que eram, então, mantidos a 12 ^{o}C e a superfície

destes mantidas a temperatura ambiente (24 ^{o}C) gerando assim um gradiente de temperatura ao longo da amostra de solo. Os *carts* também possibilitavam a coleta de lixiviado gerado em cada uma das unidades experimentais. O lixiviado foi coletado durante toda a condução dos experimentos para quantificar o volume total gerado.

Durante o período experimental os TMEs eram regados com solução de chuva artificial, Velthorst (1993), a cada dois dias com 115 mL, volume estabelecido com base no regime hídrico dos últimos 10 anos da região de Concórdia, SC.

Para aclimatação as amostras foram mantidas por 10 dias nos *carts*, durante esse período foi feito o corte das gramíneas presentes no solo e realizou-se a semeadura de aveia branca (*Avena sativa).* No início do experimento (passados os 10 dias) os TMEs receberam as respectivas doses de DLS e foram colocados os *litter bags* em cada um dos TMEs. Após a aplicação das doses foram contados 25 dias e desmontados os TMEs. Durante esse período foram realizadas medições da emissão de CO_2 (descritas a seguir) e as demais análises foram realizadas quando da desmontagem do experimento.

Avaliação do fluxo de CO_2

A avaliação do fluxo de CO_2 do sistema foi feita aos 10 e 20 dias após a aplicação do DLS. Foram feitas quatro medições de dois minutos em três réplicas de cada tratamento, tais medições foram realizadas com o auxílio do equipamento Licor LI 8100, um sistema que consiste em uma câmara fechada, acoplada sobre os TMEs. Em seu modo de medição, o sistema monitora as mudanças na concentração de CO_2 dentro da câmera, por meio de espectroscopia de absorção óptica na região do infravermelho.

7.2.6 Avaliação dos TMEs

Para a desmontagem dos 40 TMEs foi feito o corte da parte aérea da vegetação para estimar a produção de matéria seca e a retirada dos *litter bags*, após issoos TMEs foram removidos dos *carts* e a amostra de solo retirada do tubo de PVC. A amostra inderfomada foi dividida em três distintas camadas de profundidade (0-10; 10-20 e 20-40 cm); a camada superior (0-10 cm) foi dividida em três porções (1/2 + 2 x 1/4). Cada uma das camadas foi utilizada para a realização das análises que serão descritas a seguir.

Análises químicas

Para caracterização química das amostras de cada tratamento utilizou-se parte do solo proveniente da ½ da amostra da camada superficial (0-10 cm) (Figura 5.4). Foram determinadas as seguintes caracterísctica: Ca, Mg, Al, H+Al, CTC efetiva, CTC pH7,0 (cmol dm^{-3}) saturação por Al, saturação de bases, matéria orgânica, carbono orgânico (%), P, K, Na, Cu, Zn, Fe, Mn (mg dm^{-3}) de acordo com metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

Para determinação do teor de carbono orgânico total (COT), N total e S total amostras peneiradas a 2 mm e secas a 60 ºC foram moídas em gral de porcelana. Os elementos foram determinados por combustão seca pelo Autoanalisador de Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio e Enxofre (CNHS) equipamento Elementar Vario EL Cube®.

Análises físicas

Nos TMEs ainda intactos foi determinadaa resistência à penetração até 10 cm de profundidade em cada uma das unidades experimentais, com medidor automático SoloTrack Falker®. A umidade do solo foi determinada no laboratório com as amostras secas em estufa a 105 ºC por 24 horas para cada umas das três distintas camadas (0-10; 10-20; 20-40 cm), retirando 50 g de solo não peneirado.

A estabilidade de agregados foi determinada por peneiramento úmido, em agregados entre 4,76 e 8,35 mm, de acordo com a metodologia de Kemper; Chepil (1965), sendo o aparelho composto por quatro peneiras (4,75; 2,00; 1,00 e 0,25 mm). A estabilidade dos agregados foi representada pelo diâmetro médio ponderado (DMP).Para essa análise foi utilizado ¼ da amostra da camada mais superficial (0-10 cm).

Análise da fosfatase ácida

As análises da enzima foram realizadas com solo peneirado a 2 mm proveniente da ½ da amostra da camada de 0-10 cm para cada repetição dos dois solos avaliados. A análise foi desenvolvida com adaptações ao método de Tabatabai; Bremner (1969); para a análise foi utilizado 1 g de solo com a mistura de 1 mL de p-nitrofenyl fosfato + 4 mL de uma solução tampão com pH 6,5 (MUB, pH 6,5), incubada com agitação durante 2 h a 35 ºC em tubos Falcon de 50 mL, Após a incubação as amostras receberam de l mL $CaCl_2$ (0,5 mol L^{-1}) + 4 mL de um solução de tris(hidroximetil) aminometano (0,5 mol L^{-1}), os tubos foram agitados por 30 s e posteriormente centrifugados por 4 min a 300 RPM. Um volume de200 µL foi

utilizado para medir a atividade da fosfatase por quantificação espectrométrica a 405 ηm do p-nitrofenol liberado na mistura centrifugada. Efetuou-se a análise em triplicata para cada uma das repetições do campo mais duas repetições de controle.

Carbono microbiano

O carbono da biomassa microbiana (CMic) foi determinado pelo método de fumigação-extração (VANCE et al., 1987), para tanto utilizou-se solo peneirado a 2 mm provenientes de 1/2 camada superficial do solo dos TMEs (Figura 4.4) com três repetições laboratoriais, sendo três amostras fumigadas e três não fumigadas. A fumigação foi realizada com clorofórmio ($CHCl_3$). As amostras foram incubadas em dessecador por 24 h, à 25 ºC na ausência de luminosidade, após isto o CMic foi extraído com sulfato de potássio 0,5 mol L^{-1} (K_2SO_4) agitadas por 30 min, permitindo a decantação por uma hora e procedida a filtração em filtro de papel. A leitura das amostras foi realizada através da oxidação destas com dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$). 66,7 mmol L^{-1} O teor de C solúvel foi determinado por titulação com $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 33,3 mmol L^{-1} na presença do indicador difenilamina (1%). O CMic foi calculado pela diferença entre carbono extraído do solo fumigado e não fumigado

multiplicada pelo fator de correção KEC = 0,33, que representa a eficiência da extração de 33 %, proposto por Sparling; West (1988), para solos com baixo pH.

Decomposição da palhada - *Litter bags*

Litter bags foram confeccionados com tela de nylon de 2 mm de abertura, com dimensões de 5 x 5 cm, contendo 0,5 g de aveia (*A. sativa*) seca a 65 ºC por 48 h. Cada TMEs recebeu um *litter bag* que permaneceu no solo até o dia de desmontagem do experimento, quando então o conteúdo de cada um deles foi retirado, seco a 65 ºC por 48 h e pesado, a diferença de peso entre o início e final do experimento foi atribuída a decomposição. Os dados foram apresentados em g da diferença obtida entre o início e final do período experiemntal.

Matéria seca parte aérea

A determinação da produção de matéria seca (MS) dos tratamentos foi feita através do corte das plantas a 3 cm de altura do solo, o material coletado foi seco em estufa a 65 ºC por 72 h e a matéria seca produzida foi expressa em g TME^{-1}.

Carbono orgânico total, nitrogênio total, enxofre total

Para determinação do teor de carbono orgânico total (COT), N total e S total amostras peneiradas a 2 mm e secas a 60 ºC foram moídas em gral de porcelana. Os elementos foram determinados por combustão seca pelo Autoanalisador de Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio e Enxofre (CNHS) equipamento Elementar Vario EL Cube®.

Fauna edáfica – catação manual e extração em funil de Berlese

A avaliação da fauna edáfica por catação manual foi feita para 1/2 da primeira camada de solo (0-10 cm) e para o volume total das demais camadas. Desta maneira, durante a desmontagem dos TMEs foi feita a triagem manual e contabilização dos organismos da macrofauna. Ainda para avaliação da fauna edáfica ¼ da camada superficial de cada TMEs foi levado ao Funil de Berlese, por oito dias, para extração dos organismos pertencentes a mesofauna. O objetivo do uso destas duas metodologias não foi comparar os métodos, mas sim coletar o máximo de organismos das amostras.

Enquitreídeos

Para a contagem de enquitreídeos utilizou-se 120 g de solo retirado de ¼ da amostra da camada de 0-10 cm (mesma

porção utilizada para estabilidade de agregados), o número de enquitreídeos foi avaliado após fixação com álcool (80%), colorindo com rosa de Bengala (solução de 1% com etanol) e peneiragem úmida (malha 103 mm).

Extração e morfotipagem de colêmbolos

Os colêmbolos coletados nas amostras, principalmente por funil de Berlese, foram separados por eco-morfotipos de acordo com a classificação usada por Carvalho, 2012. Nessa classificação cinco características morfológicas (olhos, antena, fúrcula, pelos e coloração) são avaliadas e atribuídos pesos (0, 2 e 4), a soma dos pesos atribuídos às características determina o eco morfotipo do colêmbolo. Os eco morfotipos são então divididos e três categorias (epígeos, semiedáficos e edáficos) de acordo com a profundidade em que preferencialmente habitam o solo. Nas Tabelas 5.2 e 5.3 (capítulo 5) são apresentadas as características, seus respectivos pesos e a classificação dos ecomorfotipos.

Análise estatística

Os resultados utilizados para a análise estatística deste experimento são provenientes de diferenças obtidas entre as amostras controle e as doses de DLS em cada uma das áreas. Uma maneira mais detalhada e melhor exemplificada da obtenção destas diferenças está descrita no capítulo anterior (Capítulo 6). No caso deste estudo após realizar o cálculo das diferenças para todas as amostras obteve-se 25 valores para cada uma das doses.

Os valores das diferenças obtidas foram submetidos ao teste *t student* ($P \leq 0,05$).E objetivou-se avaliar se as diferenças na área sem histórico de uso de DLS eram maiores que na área com estudo o que indica que o uso histórico de DLS causa uma adaptação e seleção de organismos melhor adaptados a fertilização orgânica com DLS.

As variáveis riqueza de grupos e abundância de organismos foram submetidas a ANOVA e comparadas pelo teste de Dunnett com significância de 5 % com auxílio do software STATISTICA® 7.0.

Os dados de fauna foram para cada área submetidos a uma análise de Permutações Múltiplas – PERMANOVA com base no índice de similaridade de Bray-Curtis. Como forma de avaliar quais grupos que mais contribuíram para separação

entre as doses e efetuou-se uma análise de similaridade - SIMPER, obtendo-se a contribuição de cada espécie para a dissimilaridade observada entre o controle e cada uma das doses de dejeto usadas, tais análises foram efetuadas no programa PRIMER 6.0 (CLARKE; GORLEY, 2006).

Análise de Coordenadas Principais (PCoA) com base na matriz de similaridade após a aplicação do índice de Bray-Curtis foi realizada para obter uma representação gráfica das respostas nos diferentes tratamentos. Para gerar as coordenadas das amostras nos eixos utilizou-se a ferramenta PRCoord 1.0 e o programa CANOCO 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 2002) para gerar os gráficos de PCoAs.

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente os dados de cada uma das áreas foram submetidos a análise PERMANOVA para identificar possíveis diferenças na estrutura da comunidade edáfica entre o controle e os tratamentos com DLS. O resultado para a área com histórico (CH) mostrou que a aplicação de DLS não causou

diferenças significativas entre os tratamentos (P>0,05) e por isso não foi realizada análise de similaridade SIMPER. A figura 7.1 mostra a PCoA para os dados dessa área e nela é possível perceber que não ocorreu mesmo diferenças entre os tratamentos e então nenhum dos tratamentos tem clara associação com os grupos da fauna. A explicação obtida no eixo 1 foi de 33,8 % e de 21,0 % para o eixo 2.

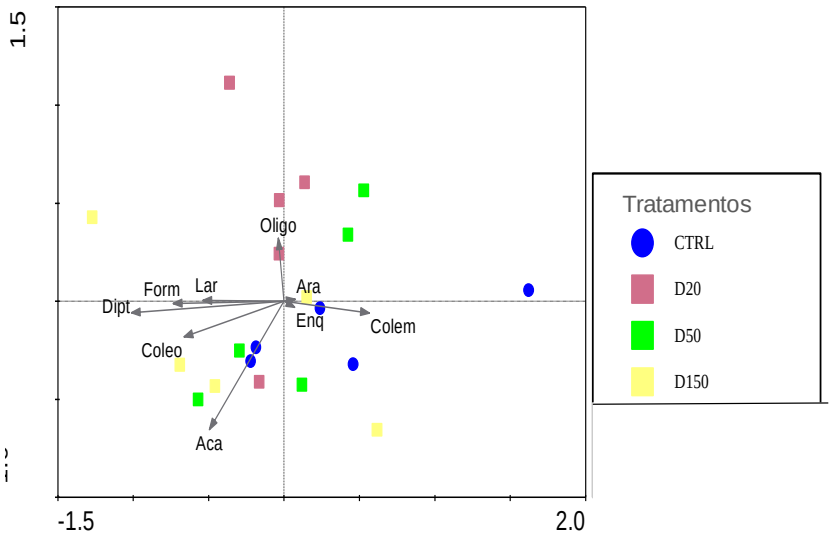

Figura 7.1- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento da área com histórico de uso de dejeto líquido de suínos. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Larvae (Lar) e Oligochaeta (Oligo).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

A frequência de organismos da área sem histórico de uso de dejeto líquido de suínos (SH) foi submetida à análise PERMANOVA e ocorreu diferença significativa para as doses de 50 e 150 m^3 ha^{-1} ($P<0,05$). Os resultados da análise de similaridade mostraram que para a dose de 50 m^3 ha^{-1} os grupos que mais contribuíram foram formigas, ácaros, larvas e colêmbolos com contribuição de 20,6, 11,9, 11,5 e 10,4 %, respectivamente. Já a dose de 150 m^3 ha^{-1} a maior contribuição foi de dípteras (estágios finais de desenvolviemnto) com 25,8 % seguido dos grupos formiga e colêmbolos com 15,2 e 10,1 % de contribuição na diferenciação da estrutura da comunidade, respectivamente.

A PCoA para SH (Figura 7.2) mostra separação do tratamento com 150 m^3 ha^{-1} dos demais. No caso do tratamento de 50 m^3 ha^{-1} a separação não é tão evidente quanto na maior dose, e este tratamento está mais relacionado aos grupos larva e ácaros. A explicação nos eixos 1 e 2 da PCoA foram de 53,3 e 17,0 %, respectivamente.

A elevada contribuição do grupo formiga para a diferenciação da comunidade entre os tratamentos para a área SH é provavelmente ocasionada pela fuga deste grupo das

amostras, o tratamento controle apresentava grande frequência deste grupo que passou a não ocorrer mais nas duas maiores doses de DLS, a grande facilidade de locomoção (PARR et al., 2007) e o fato de não ter como evitar a fuga de tais organismos nas amostras facilitou esse comportamento.

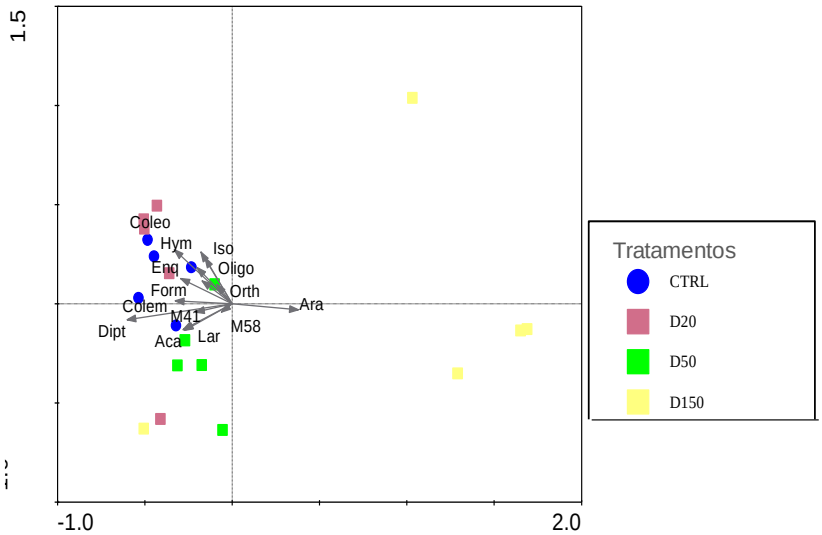

Figura 7.2- Análise de Coordenadas Principais (PC*o*A), utilizando o coeficiente de Bray-Curtis com base na frequência de ocorrência dos grupos da fauna edáfica em cada tratamento da área sem histórico de uso de dejeto líquido de suínos. Acarina (Aca), Araneae (Ara), Colembolla (Colem), Coleoptera (Coleo), Díptera (Dipt), Enchytraeidae (Enq), Formicidae (Form), Hymenoptera (Hym), Isopoda (Iso), Larvae (Lar), Morfotipo semi-edáfico (M41 e M58), Oligochaeta (Oligo) e Orthoptera (Orth).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

A presença de larvas em ambientes onde há deposição de DLS é bastante frequente (PAIVA, 2004) e como consequência da alta concentração de larvas nas maiores doses de DLS também se obteve grande número de dípteras em seus estágios de desenvolvimento posteriores ao estágio larval. Outra grande contribuição na diferenciação da comunidade edáfica foi a presença de ácaros, esse grupo de organismos que estava presente no controle para SH, diminui frequência com o aumento da dose de DLS.

As variáveis abundância de organismos e riqueza de grupos, de cada uma das áreas, foram submetidas a ANOVA com comparação por teste de Dunnett, os resultados da área CH não apresentaram diferenças com o aumento da dose de DLS, no entanto os resultados de SH foram diferentes para a dose de 150 m^3 ha^{-1} nas duas variáveis (Figura 7.3). A abundância de organismos e riqueza de grupos tem sido relata por sofrer aumento com o uso de DLS (Ponce et al., 2011; Bosch-Serra et al., 2014), no entanto para SH ocorreu redução destes parâmetros. Alguns trabalhos também relatam redução na riqueza de grupos após o uso de dejeto de suínos (Decaëns et al., 1999; Baretta et al., 2007).

As demais variáveis avaliadas nesse experimento foram utilizadas para obter a diferença numérica entre o controle e os tratamentos com dose (Ver item Análise estatística) e as diferenças entre as áreas foram comparadas por teste *t*. Apenas as variáveis que apresentaram diferença estatística (P<0,05) serão apresentadas a seguir.

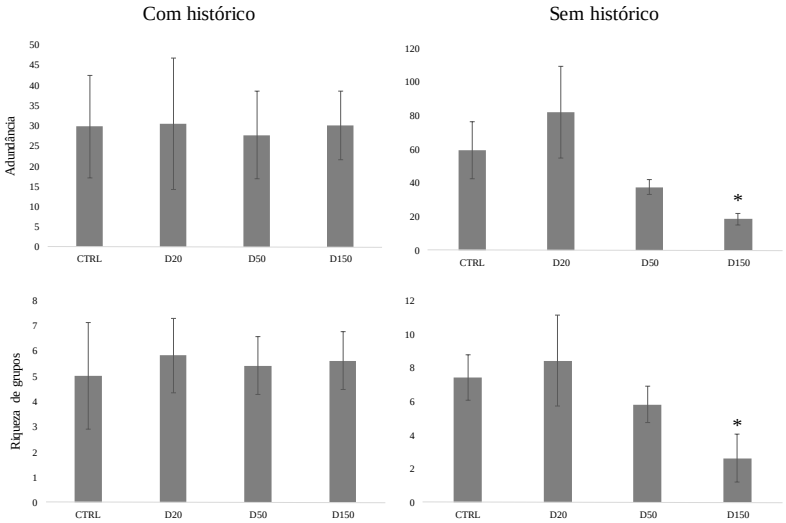

Figura 7.3– Análise ANOVA, P<0,05 pelo teste de Dunnett, para Nitossolo Vermelho distrófico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1} (D150). Com histórico (■). Sem histórico (■). (┬) Desvio padrão (n= 5).Variáveis significativas (*).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

Atividade da fosfatase ácida e carbono microbiano apresentaram diferença entre as áreas para as três doses avaliadas (Figura 7.4). Ambas as varáveis foram menores para a área SH do que para a CH, evidenciando que a primeira aplicação de DLS causa impactos maiores do que o uso histórico. A atividade da fosfatase ácida foi menor para os tratamentos com DLS do que no controle, na área SH, o que ocorre devido ao grande aporte de P no sistema (Figura 7.4). Redução na atividade da fosfatase é um indicador de redução na atividade microbiana (NANNIPIERI et al., 2002), uma vez que micro-organismos presentes no solo são os principais responsáveis pela presença desta enzima. Por outro lado, o Cmic teve aumento com aumento da dose de DLS, esse resultado é resposta da presença de material orgânico de fácil decomposição que foi aplicado via DLS e que estimula a atividade biológica (OLIVEIRA et al., 2009; QUADRO et al., 2011; YADA et al., 2015).

Os resultados da comunidade edáfica para a área SH evidenciaram que a utilização do DLS como fertilizante agrícola ao longo de anos causou maior resistência dos grupos as aplicações do resíduo, conforme mostra a variável riqueza

de grupos (Figura 7.3 – Com histórico) o que deve ser atentamente considerado no momento de realizar aplicações sucessivas de DLS, mesmo que a abundância de grupos não tenha apresentado diferenças entre as áreas (P>0,05 no teste *t*).

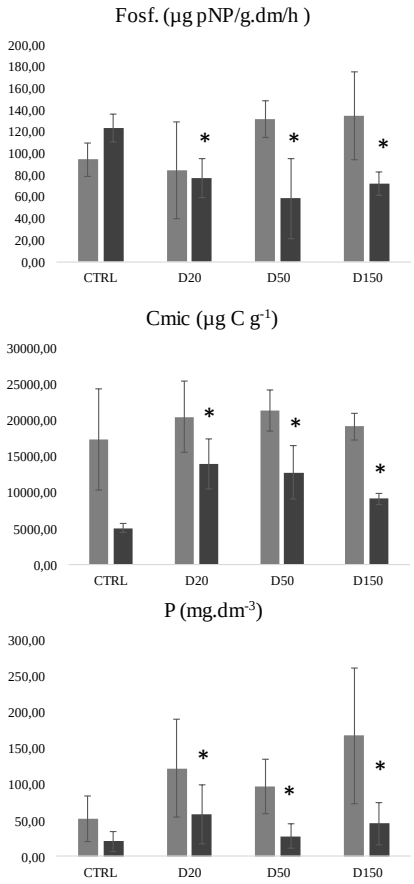

Figura 7.4– Variáveis significativas (*) de acordo com teste *t student* (P<0,05) para Nitossolo Vermelho distrófico. Controle (CTRL), 20 m^3 ha^{-1} (D20), 50 m^3 ha^{-1} (D50) e 150 m^3 ha^{-1}

(D150). Com histórico (■). Sem histórico (■). (┬) Desvio padrão (n= 5).Fonte: produção do próprio autor, 2016.

7.4 CONCLUSÕES

Aplicação de dejeto líquido de suínos em áreas sem histórico de uso causam alterações na composição da comunidade edáfica.

A área de estudo, com histórico de uso de dejeto líquido de suínos ao longo de 20 anos, foi pouco afetada pela realização de uma aplicação deste resíduo.

O uso de dejeto líquido de suínos ao longo de 20 anos proporcionou a presença de uma comunidade edáfica mais adaptada a fertilização com esse resíduo.

Referências

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

ALVES, V. M. **Fauna do solo influenciada pelo uso de fertilizantes minerais e dejetos suínos na sucessão aveia milho, sob semeadura direta**. 2007. 46 f. Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2007.

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

BARETTA, D.; BROWN, G. G.; JAMES, S. W.; CARDOSO, E. J. B. N. Earthworms populations sampled using collection methods in Atlantic Forests with *Araucaria angustofolia.***Scientia Agricola**, sl., v. 64, p. 384-392, 2007.

BARETTA, D.; SANTOS, J.C.P.; MAFRA, A. L.; WILDNER, L. do P.; MIQUELUTI, D. J. Fauna edáfica avaliada por armadilhas de catação manual afetada pelo manejo do solo na região oeste catarinense. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages v.2, p.97-106, 2003.

BASSO, C. J.; CERETTA, C. A.; FLORES, E. M. M.; GIROTTO, E. Teores totais de metais pesados no solo após aplicação de dejeto líquido de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, p. 653-659, 2012.

BOSCH-SERRA, A. D.; PADRÓ, R.; BOIXADERA-BOSCH, R. R.; OROBITG, J.; YAGÜE, M. R. Tillage and slurry over-fertilization affect oribatid mite communities in a semiarid

Mediterranean environment. **Applied Soil Ecology**, Barcelona, v. 84, p. 124-139, 2014.

CARVALHO, F. C. **Efeito de diferentes tipos de gestão em olivais nos microatrópodes de solo usando uma abordagem funcional**. 2012. 56f. Dissertação de Mestrado- Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012. 56f.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. **Software PRIMER v5**. Plymouth. PRIMER-E, UK, 2001.

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

DECAËNS, T.; JIMÉNEZ, J.J.; LAVELLE, P. Effect of exclusion of the anecic earthworm *Martiodrilus carimaguensis* Jimésez and Moreno on soil properties and plant growth in grasslands of the eastern plains of Colombia. **Pedobiologia**, Jena, v.43, p.853-841, 1999.

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

FEDERAL ENVIRONMENTAL AGENCY. **Sustainable development in Germany**: progress and prospecrs. Berlin: Erich Schimidt, 1998. 344p.

GIROTTO, E.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; SANTOS, D. R.; SILVA, L. S.; LOURENZI, C. R.; LORENSINI, F.; VIEIRA, R. C. B.; SCHMATZ, R. Acúmulo e formas de cobre e zinco no solo após aplicações sucessivas de dejeto líquido de

suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, p.955-965, 2010.

KEMPER, W. D.; CHEPIL, W. S. Size distribution of aggregation. In: BLACK, C. A. **Methods of soil analysis**. Madison: American Society Agronomy, p. 499-510, 1965.

KETELAARS, J. J. M. H.; MEER, H. G. Perspective for improving efficiency of nutrient use in livestock production in the Netherlands. In: MATSUNAKA, T. (Ed.) **Environmental friendly management of farm animal waste**. Sapporo: Kikashi Insatsu, 1998. P. 159-164.

MATTIAS, J.L.; CERETTA, C.A.; NESI, C.N.; GIROTTO, E.; TRENTIN, E.E.; LOURENZI, C.R.; VIEIRA, R.C. Copper, zinc and manganese in soil of two watersheds in Santa Catarina with intensive use of pig slurry. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Lavras, n. 54, p. 1445-1454, 2010.

NANNIPIERI, P.; KANDELER, E.; RUGGIERO, P. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: BURNS, R. G.; DICK, R. (Eds.) **Enzymes in the environmental**. New York: Marcel Dekker, p. 1 – 33. 2002.

OLIVEIRA, M.; MARIA, V. L.; AHMAD, I.; SERAFIM, A.; BEBIANNO, M. J.; PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Contamination assessment of a coastal lagoon (Rio de Aveiro, Portugal) using defence and damage biochemical indicators in gill of *Liza aurata* – an integrated biomarker approach. **Environmental Pollution**, Londres, v. 157, p. 959-967, 2009.

PAIVA, D. P. **Controle de moscase borrachudos baseado no manejo de dejetos em criações de suínos.** Concórdia, Embrapa Suínos e Aves, 1994. 3p. (Comunicado Técnico, 208).

PARR, C. L.; ANDERSEN, A. N.; CHASTAGNOL, A.; DUFFAUD, C. Savanna fires increase rates and distances of

seed dispersal by ants. **Oecologia**, Berlim, v. 151, p. 33-41, 2007.

PONCE, C.; BRAVO, C.; GARCÍA DE LEÓN, D.; MAGAÑA, M.; ALONSO-LÓPEZ, J. C. Effects of organic farming on plant and arthropod communities: a case study in Mediterranean dryland cereal. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdan, v. 141, p. 193-201, 2011.

QUADRO, M. S.; CASTILHOS, D. D.; CASTILHOS, R. M. V.; VIVIAN, G. Biomassa e atividade microbiana em solos acrescidos de dejeto suíno. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v. 17, p. 85-93, 2011.

SCHERER, E. E.; BALDISSERA, I. T.; NESI, C. N. Propriedades químicas de um Latossolo Vermelho sob plantio direto e adubação com esterco de suínos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 31, p. 123-131, 2007.

SEGANFREDO, M. A.; SOARES, I. J.; KLEIN, C. S. **Potencial fertilizante e poluente dos dejetos de suínos no contexto das pequenas propriedades do Oeste de SC**. Concórdia, Embrapa Suínos e Aves, 2003. 4p. (Comunicado Técnico, 342).

SPARLING, G.P.; WEST, A.W. A direct extraction method to estimate soil microbial - C - calibration in situ using microbial respiration an 14Clabeled cells. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, n.3, 20:337-343, 1988.

STATSOFT. **STATISTICA 7.0 (data analysis software system)**. [s.l]. 2004. Disponível em: <http//:www.statsoft.com> Acesso em: 15 dez. 2015.

TABATABAI, M. A.; BREMMER, J.M. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 1, p. 301-307, 1969.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** 2 ed.Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147 p.

TER BRAAK, C. J. F.; SMILAUER, P. **CANOCO**. Reference manual and CanoDraw for Windows user´s guide: Software for Canonical Comunitiy Ordination, version 4.5. Microcomputer Power, Ithaca, 2002.

VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**, Campinas: Instituto Agronômica, 2001. 400p.

VANCE, E.D.; BROOKS, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 19:703-707, 1987.

VLASSAK, K. Animal manure: environmental problems, current recommendations and regulations in Flanders (Belgium). In: HAL, J. E. (Ed.). **Animal waste management**. Rome: FAO, 1994. P.13-23.

VELTHORST, E. J. **Manual for Chemical Water Analysis**. Wageningen: Agricultural University. 1993.

YADA, M. M.; MELO, W. J.; MINGOTTE, F. L. C.; MELO, V. P.; MELO, G. M. P. Chemical and biochemical properties of oxisols after sewage sludge application for 16 years. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, p. 1302-1310, 2015.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Descartar o dejeto líquido de suínos no solo pode ser uma econômica e lucrativa alternativa, mas pode também ser uma importante prática causadora de problemas ambientais. A legislação ambiental do Estado de Santa Catarina, através da FATMA, recomenda a utilização de no máximo 50 m^3 ha^{-1} por ano, mas não orienta sobre a origem do resíduo, concentração de nutrientes e teor de matéria seca, tipo de solo a serem utilizados como parâmetros para a definição da dose máxima. Com os resultados obtidos nesse trabalho foi possível entender que o comportamento deste resíduo no ambiente é diferente para os grupos da fauna, para o tipo de solo e tem efeito de dose, mesmo em doses menores que as recomendadas pela legislação. Sendo assim entende-se que existe urgência na condução de pesquisas mais aprofundadas para avaliações, especialmente, na biota do solo em diferentes condições ambientais e doses. Ainda, é importante, que sejam conduzidos experimentos de longa duração que permitam avaliar a médio e longo prazo os efeitos do acúmulo de nutrientes no solo e a contaminação de águas.

Com os resultados obtidos nesse projeto que houve uma contribuição em entender os efeitos causados pela adubação orgânica com dejeto líquido de suínos na fauna do solo, por meio do entendimento da integração entre diferentes grupos da biota do solo e efeito da aplicação continuada de dejeto líquido de suínos, e como isto afeta o comportamento da fauna no solo em ecossistemas agrícolas.

Dentro do âmbito de qualificação pessoal está prevista a publicação dos resultados sob a forma de artigos científicos em revistas indexadas nos principais bancos de dados; e foi realizado um intercâmbio de conhecimentos e consolidação de parcerias de pesquisa e formação acadêmica entre a Universidade do Estado de Santa Catarina e a Universidade de Coimbra.