

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

GUSTAVO GOMES PANIAGO

ECOTOXICOLOGIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA TENDO
MINHOCAS COMO BIOINDICADORAS

CASCADEL-PR

Agosto/2014

GUSTAVO GOMES PANIAGO

ECOTOXICOLOGIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA TENDO
MINHOCAS COMO BIOINDICADORAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientador: Prof. Dr. Silvio César Sampaio

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Dinéia Tessaro

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Luciana Pagliosa
Carvalho Guedes

CASCADEL-PR

Agosto/2014

FOLHA DE APROVAÇÃO

GUSTAVO GOMES PANIAGO

ECOTOXICOLOGIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DA SUINOCULTURA TENDO
MINHOCAS COMO BIOINDICADORAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:

Prof. Dr. Silvio César Sampaio

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

Prof. Dr. Ralphe Rinaldo dos Reis
Universidade Estadual do Oeste do
Paraná

Prof. Dr.^a Dinéia Tessaro
Universidade Tecnológica Federal do
Paraná

Dr.^a Danielle Medina Rosa
Universidade Estadual do Oeste do
Paraná

Aprovado em 20 de agosto de 2014.

Local da defesa: Unioeste, Prédio de Salas de Aula, sala 56, Cascavel-PR.

Dedicatória

Dedico esta obra aos meus pais, Aloízio (*in memoriam*) e Olinda, que sempre se esforçaram tanto para ver o sucesso dos filhos. Obrigado! A cada dia venço mais uma etapa!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que me deu forças para continuar mesmo diante dos obstáculos e também por ter posto tantas pessoas incríveis em meu caminho.

Agradeço à minha família. Minha mãe, Olinda, que mesmo doente esteve sempre a meu lado, me apoiando emocionalmente e financeiramente. Minhas irmãs Dálím e Lívia e meu cunhado Márcio, que sempre me auxiliaram a tornar o fardo menos pesado.

Agradeço ao professor Silvio, que me deu a oportunidade de ser seu orientado e por tamanha compreensão com minhas dificuldades.

Agradeço à minha co-orientadora, professora Dinéia Tessaro, pelo auxílio com várias boas sugestões e por sua amizade.

Agradeço ao professor Dilmar Baretta e suas orientadas, Ana Maccari, Júlia Segat e Talyta Zortéa, por tão boa acolhida em Chapecó-SC e pelo auxílio em tantas dúvidas.

Agradeço ao professor Alfredo Richart e à Pontifícia Universidade Católica de Toledo-PR (PUC-Toledo) por terem me cedido solo para meus experimentos.

Agradeço aos colegas e amigos, Danielle Medina, Marcelo Remor, Pâmela Maldaner, Kathleen Model, Matheus Menezes, Vinícius Pereira e Arthur Dall Gnoi, por fazerem parte da minha vida e por terem contribuído para o sucesso deste trabalho. O êxito deste trabalho também é de vocês!

Agradeço à professora Norma Bueno e à secretária do programa de mestrado, Márcia Cruz, por tanto auxílio prestado em um momento tão difícil da minha vida.

Por último, agradeço à Unioeste-Campus de Cascavel, por ceder-me sua estrutura, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por ceder-me a bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO	7
SUMMARY	7
INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E MÉTODOS	10
Teste de letalidade.....	13
Teste de fuga	14
Teste de reprodução.....	15
Critérios de análise dos testes de letalidade, fuga e reprodução.....	16
Análise dos dados.....	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
Teste de letalidade.....	17
Teste de fuga	17
Teste de reprodução.....	19
CONCLUSÃO	22
LITERATURA CITADA	22
ANEXO I - REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO - INSTRUÇÕES AOS AUTORES	27
ANEXO II – ATESTADO DE ESPÉCIE UTILIZADA NOS EXPERIMENTOS ..	31

Este artigo está de acordo com as normas da Revista Brasileira de Ciência do Solo. Disponível em: <http://www.sbcs.org.br/revista/instrucoes-aos-autores/>

ECOTOXICOLOGIA DA ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA USANDO MINHOCAS COMO BIOINDICADORAS

RESUMO

Os resíduos gerados pela suinocultura possuem alto potencial poluidor, porém, devido à grande carga orgânica, apresenta-se como boa opção na fertilização de culturas, contudo pouco se conhece a respeito dos efeitos sobre a fauna edáfica. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos ambientais decorrentes do uso de águas residuárias da suinocultura usando-se como bioindicadores minhocas da espécie *Eisenia andrei*, por meio dos parâmetros de letalidade, fuga e reprodução. Estudou-se a aplicação de água residuária de esterqueira e biodigestor em quatro doses (0, 100, 200 e 300 m³ ha⁻¹) em três solos (Latossolo Vermelho Distroférico típico, Nitossolo Vermelho Eutroférico, Solo Artificial Tropical). Os experimentos foram desenvolvidos no período de 17/01/2014 a 07/06/2014. Os dados foram analisados utilizando-se Análise de Variância Unifatorial, Teste de Tukey e matrizes de correlação de Pearson. Não ocorreram mortes no teste de letalidade e não ocorreu fuga no teste de fuga. O teste de reprodução apresentou relação positiva entre a quantidade de água residuária aplicada e a quantidade de juvenis eclodidos para a maioria dos experimentos. Conclui-se que a aplicação de água residuária de esterqueira e biodigestor até a dose de 300 m³ ha⁻¹ não traz malefícios para as populações de minhocas nos três solos analisados.

Termos de indexação: solos, efluente, *Eisenia andrei*, Latossolo, Nitossolo

SUMMARY: ECOTOXICOLOGY OF SWINE WASTEWATER USING EARTHWORMS AS BIOINDICATORS

The waste generated by the swine have high pollution potential, however, due to high organic load, is presented as a good option in the fertilization of crops, nevertheless few is known about the effects on soil fauna. The aim of this work was to study the environmental effects arising from the use of swine wastewater using as bioindicators earthworms of the species *Eisenia andrei* through the parameters of lethality, reproduction and escape. We studied the application of biodigester wastewater and manure storage tanks wastewater in four doses (0, 100, 200 and 300 m³ ha⁻¹) in three soils (Oxisol, Kandiodox and Artificial Tropical Soil). The experiments were conducted in the period from 01/17/2014 to 06/07/2014. Data were analyzed using ANOVA one-way, Tukey test and Pearson correlation matrices. No deaths occurred in the mortality test and there was no escape in escape test. The reproduction test showed positive relationship between the amount of wastewater applied and the number of hatched juveniles to most treatments. It is concluded that the application of biodigester wastewater and manure storage tanks wastewater to the dose of 300 m³ ha⁻¹ does not bring harm to earthworm populations in the three soils analyzed.

Index terms: soils, effluent, *Eisenia andrei*, Oxisol, Kandiodox

INTRODUÇÃO

45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78

A humanidade tem requerido cada vez mais recursos no seu processo de desenvolvimento e gerado quantidades crescentes de resíduos oriundos de vários segmentos produtivos. A necessidade, portanto, de buscar métodos de desenvolvimento sustentável é gradativamente mais urgente (Breffle et al., 2013; Day et al., 2014). Neste sentido, é natural o desenvolvimento de métodos de reaproveitamento de resíduos visando agregação de valores. Concomitantemente, o monitoramento ambiental é fator obrigatório, pois sempre é inerente ao próprio uso de qualquer resíduo (Schilling & Chiang, 2011).

Os resíduos oriundos da criação de animais, como de suinocultura (Caovilla et al., 2010; Sampaio et al., 2010), bovinocultura (Ayuke et al., 2011), por serem ricos em nutrientes, são usados como biofertilizantes na agricultura. O uso destes resíduos na forma líquida induz maior eficiência na disposição na superfície do solo. Além de se caracterizar como uma fertirrigação, suprindo, portanto, água e nutrientes à agricultura (Caovilla et al., 2010; Sampaio et al., 2010). Entretanto, esta forma de estado da água induz também estudos mais amplos e também com maior profundidade, pois induz a poluição difusa, de difícil detecção e controle, quando comparada com a poluição pontual. Neste sentido, os principais efeitos negativos apontados estão relacionados à contaminação de águas por nitrogênio e fósforo (Smanhotto et al., 2010) e acúmulo de cobre e zinco na superfície do solo (Dal Bosco et al., 2008 a; Lucas et al., 2013). Efeitos positivos relatados estão relacionados ao aumento da matéria orgânica e nutrientes do solo (Assmann et al., 2007; Dal Bosco et al., 2008 b). Ainda há preocupação com o uso de agentes antimicrobianos em larga escala e de forma indiscriminada, que encontrados nos dejetos, podem levar à resistência genética de microrganismos e se tornarem contaminantes ambientais (Munir et al., 2011; Liu et al., 2013). Na procura de detectar estes efeitos positivos ou negativos, os trabalhos devem relacionar-se ao solo (Sampaio et al., 2010), ao lixiviado (Prior et al., 2009; Maggi et al., 2011), ao escoado (Dal Bosco et al., 2008 a; Doblinski et al., 2010; Wang et al., 2013) e culturas agrícolas (Kessler et al., 2013 a; Kessler et al., 2013 b). Outros poucos estudos, além dos parâmetros físicos e químicos citados anteriormente, também se direcionam ao estudo da biota edáfica (Tessaro et al., 2013; Brooks et al., 2014).

Neste contexto, a Ecotoxicologia (Truhaut, 1977) apresenta-se como importante ferramenta de análise dos efeitos tóxicos de diversas substâncias sobre os seres vivos, de maneira geral, dado que somente o estudo físico-químico de diversas substâncias não é suficiente para fornecer informações sobre o efeito das mesmas nos seres vivos. A Ecotoxicologia faz uso de uma variedade de organismos como plantas, animais e microrganismos, sendo estes denominados bioindicadores. A Ecotoxicologia terrestre, ramo da Ecotoxicologia que se ocupa de estudos ecotoxicológicos no

79 ambiente edáfico, geralmente possui como animais bioindicadores as minhocas, colêmbolos e
80 enquitreídeos.

81 As minhocas são animais quase sempre presentes nos solos e devido ao seu modo de alimentação
82 detritívoro e sua pele fina e úmida estão sempre em contato com os materiais presentes nos solos.
83 Isto as tornam organismos ideais para testes ecotoxicológicos. Assim, em virtude destas
84 características qualquer substância tóxica presente no solo poderá afetar de algum modo as
85 populações de minhocas. Também ressalta o fato de serem seres de fácil criação e reprodução. As
86 espécies *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* são representantes deste grupo de organismos e são usadas
87 internacionalmente como espécies bioindicadoras em diversos tipos de análises ecotoxicológicas do
88 solo (Andréa, 2010). Estas espécies são usadas como bioindicadoras ambientais em solos
89 contaminados por poluentes orgânicos permanentes como fungicidas (García-Santos & Keller-
90 Forrer, 2011), inseticidas (Stepić, et al., 2013), herbicidas (Zhou et al., 2013) e metais pesados (Li et
91 al., 2010), como cobre (Li et al., 2010; Natal-da-Luz et al., 2011; Santorufo et al., 2012) e zinco (Li
92 et al., 2010; Natal-da-Luz et al., 2011; Santorufo et al., 2012), presença de destaque nas águas
93 residuárias da suinocultura. Em contaminações de menor risco, as minhocas também são usadas
94 como bioindicadores ambientais, como o uso de resíduos orgânicos na agricultura como oriundos
95 do meio urbano (Kinney, 2012), da indústria (Natal-da-Luz et al., 2011; Singh, 2011), resíduos
96 animais de ovinos (Coulibaly & Zoro Bi, 2010), bovinos (Dominguez et al., 2001; Coulibaly &
97 Zoro Bi, 2010;), suínos (Coulibaly & Zoro Bi, 2010; Luth et al., 2011; Segat, 2012;) e resíduos
98 vegetais como serragem (Dominguez et al., 2000), papel e celulose e poda de árvore (Dominguez et
99 al., 2000; Suszek et al., 2005).

100 O estado da arte apresentado anteriormente nos trabalhos não aborda especificamente o uso de
101 minhocas como bioindicadores ambientais associadas ao uso de água residuária da suinocultura na
102 agricultura, exceção feita ao trabalho de Segat (2012). Porém, este trabalho aborda apenas o
103 efluente bruto e a faixa de estudo limita-se à dose de $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ nos solos classificados como
104 Argissolo Vermelho Eutrófico, Latossolo Vermelho Distrófico, Neossolo Quartzarênico e Solo
105 Artificial Tropical. O trabalho aqui proposto complementa o estudo de Segat (2012) ampliando a
106 faixa de 0 a $300 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, em solos característicos da região oeste do Paraná (Nitossolo e Latossolo)
107 e duas qualidades de água residuária da suinocultura, bruta (esterqueira) e tratada (biodigestor).
108 Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos ambientais decorrentes do uso de
109 águas residuárias da suinocultura tendo como bioindicadoras minhocas da espécie *Eisenia andrei*,
110 por meio dos parâmetros de letalidade, fuga e reprodução.

111

MATERIAL E MÉTODOS

112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biosistemas Agrícolas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no período de 17/01/2014 a 07/06/2014.

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado (DIC), tendo como tratamento a água residuária de suinocultura (ARS), nas doses 0, 100, 200 e 300 m³ ha⁻¹, e três repetições, nos testes de letalidade e de fuga, e cinco repetições no teste de reprodução. Todos os testes foram realizados utilizando três tipos de solo (Solo Artificial Tropical (SAT) (Garcia, 2004); Latossolo Vermelho Distroférico típico (LAT) e Nitossolo Vermelho Eutroférico (NIT) (EMBRAPA, 2006)) e duas fontes diferentes de ARS, oriunda de Esterqueira (sem tratamento) e Biodigestor (com tratamento). Totalizando, portanto, seis experimentos (Quadro 1). A espécie de minhoca utilizada como bioindicadora ambiental nos solos contaminados por ARS foi a *Eisenia andrei*.

Quadro 1. Descrição dos experimentos realizados e composição dos tratamentos

EXPERIMENTOS	SOLO	DEJETO	DOSE (m ³ ha ⁻¹)	SIGLA
1 LAT/BIO	Latossolo	Biodigestor	0	LAT/BIO/0
	Latossolo	Biodigestor	100	LAT/BIO/100
	Latossolo	Biodigestor	200	LAT/BIO/200
	Latossolo	Biodigestor	300	LAT/BIO/300
2 LAT/EST	Latossolo	Esterqueira	0	LAT/EST/0
	Latossolo	Esterqueira	100	LAT/EST/100
	Latossolo	Esterqueira	200	LAT/EST/200
	Latossolo	Esterqueira	300	LAT/EST/300
3 NIT/BIO	Nitossolo	Biodigestor	0	NIT/BIO/0
	Nitossolo	Biodigestor	100	NIT/BIO/100
	Nitossolo	Biodigestor	200	NIT/BIO/200
	Nitossolo	Biodigestor	300	NIT/BIO/300
4 NIT/EST	Nitossolo	Esterqueira	0	NIT/EST/0
	Nitossolo	Esterqueira	100	NIT/EST/100
	Nitossolo	Esterqueira	200	NIT/EST/200
	Nitossolo	Esterqueira	300	NIT/EST/300
5 SAT/BIO	Solo Artificial Tropical	Biodigestor	0	SAT/BIO/0
	Solo Artificial Tropical	Biodigestor	100	SAT/BIO/100
	Solo Artificial Tropical	Biodigestor	200	SAT/BIO/200
	Solo Artificial Tropical	Biodigestor	300	SAT/BIO/300
6 SAT/EST	Solo Artificial Tropical	Esterqueira	0	SAT/EST/0
	Solo Artificial Tropical	Esterqueira	100	SAT/EST/100
	Solo Artificial Tropical	Esterqueira	200	SAT/EST/200
	Solo Artificial Tropical	Esterqueira	300	SAT/EST/300

126

127 Os substratos para realização dos experimentos foram constituídos de dois solos típicos da região
 128 Oeste do Paraná, Latossolo Vermelho Distroférico típico e Nitossolo Vermelho Eutroférico
 129 (EMBRAPA, 2006) e também Solo Artificial Tropical (SAT) (Garcia, 2004). O SAT foi utilizado
 130 como substrato padrão, constituído de 70% de areia industrial (50-200 μm), 20% de argila
 131 caulínica e 10% de pó de fibra de coco, adaptado do proposto por OECD (1984).

132 Os solos naturais foram coletados em áreas agricultadas, na camada de 0-20 cm, visando
 133 reproduzir as condições reais em áreas de plantio direto. A caracterização físico-química destes
 134 solos naturais encontra-se no Quadro 2.

135

136 **Quadro 2. Caracterização físico-química de Latossolo, Nitossolo e Solo Artificial Tropical**

PARÂMETROS	NIT	LAT	SAT
pH (CaCl ₂)*	6,00	7,10	6,10
MO (g dm ⁻³)	29,00	34,00	39,00
P (mg dm ⁻³)	14,90	344,90	208,50
S (mg dm ⁻³)	5,00	2,00	11,00
Al (mmolc dm ⁻³)	0,00	0,00	0,00
H+Al (mmolc dm ⁻³)	59,00	28,00	15,00
Ca (mmolc dm ⁻³)	59,00	88,00	22,00
Mg (mmolc dm ⁻³)	21,00	27,00	9,00
K (mmolc dm ⁻³)	3,70	4,80	3,80
Na (mmolc dm ⁻³)	0,10	0,40	1,30
SB (mmolc dm ⁻³)	84,00	121,00	36,00
CTC (mmolc dm ⁻³)	143,00	149,00	51,00
V (g dm ⁻³)	590,00	810,00	710,00
m (g dm ⁻³)	0,00	0,00	0,00
Mn (mg dm ⁻³)	84,20	80,80	19,20
Cu (mg dm ⁻³)	4,40	4,90	2,40
Fe (mg dm ⁻³)	12,00	7,00	118,00
Zn (mg dm ⁻³)	9,10	12,30	4,10
B (mg dm ⁻³)	0,38	0,34	0,78
N (total) (mg dm ⁻³)	2590,00	2590,00	490,00
NH ₄ ⁺ (mg dm ⁻³)	21,00	18,00	102,00
NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻ (mg dm ⁻³)	11,00	7,00	102,00
N(inorgânico) (mg dm ⁻³)	32,00	25,00	203,00
N(orgânico) (mg dm ⁻³)	2559,00	2566,00	287,00

137

138

139

140

141

142

143

Procedimentos de análises de Malavolta et al. (1997).

MO: Matéria orgânica; P: Fósforo; S: Enxofre; Al: Alumínio; H+Al: Acidez potencial; Ca: Cálcio; Mg: Magnésio; K: Potássio; Na: Sódio; SB: Soma de bases trocáveis; CTC: Capacidade de troca de cátions; V: Saturação por bases; m: Saturação por Alumínio; Mn: Manganês; Cu: Cobre; Fe: Ferro; Zn: Zinco; B: Boro; N(total): Nitrogênio total; NH₄⁺: Amônio; NO₃⁻+NO₂⁻: Nitrato e Nitrito; N(inorgânico): Nitrogênio inorgânico; N(orgânico): Nitrogênio orgânico.

Unidades: *Adimensional.

144 Os solos foram secados à sombra e em temperatura ambiente. Para tamisação utilizou-se malha
 145 de 2 mm a fim de separar detritos orgânicos, agregados de solo e rochas. O pH dos solos não foi
 146 corrigido. Determinou-se a capacidade máxima de retenção hídrica de cada solo utilizando-se

147 metodologia proposta por Luchese et al. (2002). Deste modo, a umidade do solo foi mantida nos
148 níveis de 40 a 50% da capacidade máxima de retenção hídrica (ISO, 2003).

149 A fim de assegurar a existência somente da espécie desejada de minhoca nos solos, estes foram
150 submetidos a um processo chamado “desfaunagem”. Todas as amostras de solo que constituíram as
151 parcelas experimentais foram congeladas por um período de 48 horas e mantidas por mais 48 horas
152 em temperatura ambiente, repetindo-se este processo de congelamento e descongelamento três
153 vezes, durante 12 dias (Pesaro et al., 2003).

154 A fim de obter-se quantidade suficiente de minhocas para a realização dos experimentos e
155 também garantir-se que os indivíduos a serem utilizados pertenceriam à espécie *Eisenia andrei*
156 optou-se pela aquisição de minhocas matrizes de fornecedor comercial, solicitando-se certificação
157 da espécie das minhocas (Anexo II).

158 A criação das minhocas foi realizada em caixas plásticas de 28 L, adicionando como substrato de
159 criação, uma mistura constituída de duas partes de esterco equino curtido, seco e peneirado (2 mm),
160 uma parte de pó de fibra de coco e 10% do peso dos dois primeiros de areia fina (50-200 µm). O
161 substrato de criação, assim como os solos utilizados nos testes, foi submetido ao processo de
162 desfaunagem, descrito anteriormente. O substrato desfaunado foi adicionado às caixas de criação,
163 onde adicionou-se água destilada. Posteriormente, fez-se homogeneização da umidade no substrato,
164 até atingir consistência semelhante ao húmus. Após o término do preparo do substrato foram
165 adicionados os indivíduos da espécie bioindicadora, onde foram alimentados semanalmente com
166 mistura de aveia em flocos finos e água deionizada na proporção 2:1. O ambiente de criação das
167 minhocas foi mantido em temperatura controlada de 20 ± 2 °C com fotoperíodo de 12h.

168 A água residuária de suinocultura (ARS) foi coletada em esterqueira (bruta) e na saída de
169 biodigestor (tratada) em propriedade rural que dispõe de sistema biointegrado de tratamento de
170 efluentes líquidos da suinocultura (24° 40' 57,5" S e 53° 49' 26,8" W), no distrito de Três Bocas,
171 Toledo-PR. O sistema de criação de suínos adotado visa a produção de leitões. A ARS utilizada nos
172 experimentos não foi a mesma em função das épocas diferentes em que se realizaram os testes de
173 letalidade, fuga e reprodução nos seis experimentos. No Quadro 3 encontra-se a caracterização
174 destas ARS.

175

176

177

178

179

180

181 **Quadro 3. Caracterização físico-química de águas residuárias de suinocultura utilizadas nos**
 182 **seis experimentos, respectivas aos testes de letalidade, fuga e reprodução**

PARÂMETROS	LETALIDADE		FUGA		REPRODUÇÃO	
	EST	BIO	EST	BIO	EST	BIO
pH (CaCl ₂)*	7,10	7,70	7,40	7,70	7,20	7,40
CE (μS m ⁻¹)	3940,00	4280,00	3260,00	4560,00	9871,20	9123,20
COT (mg L ⁻¹)	3446,00	1325,00	3976,00	1326,00	1988,00	3314,00
N TOTAL (mg L ⁻¹)	105,00	651,00	567,00	630,00	833,00	693,00
NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	2,10	27,30	1,40	1,40	1,40	1,40
N- NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	25,90	2,10	22,40	30,80	25,90	25,20
P (mg L ⁻¹)	202,00	83,00	139,00	57,00	214,00	124,00
K (mg L ⁻¹)	445,00	484,00	307,00	365,00	432,00	375,00
Ca (mg L ⁻¹)	350,00	203,00	337,00	210,00	382,00	290,00
Mg (mg L ⁻¹)	108,00	57,00	67,00	55,00	90,00	75,00
S (mg L ⁻¹)	54,00	24,00	54,00	17,00	42,00	45,00
Na (mg L ⁻¹)	20,00	21,00	15,00	18,00	17,00	22,00
Cu (mg L ⁻¹)	5,70	1,20	3,50	1,30	3,10	3,50
Mn (mg L ⁻¹)	4,40	1,40	3,90	1,30	4,20	2,20
Zn (mg L ⁻¹)	5,60	4,90	5,50	5,10	5,10	5,00
Fe (mg L ⁻¹)	23,40	6,50	24,80	7,70	6,20	4,10
DQO (mg L ⁻¹)	11747,00	8700,00	10800,00	3652,00	9509,00	3388,00
Turbidez (UNT)**	2921,00	1026,00	4872,00	790,00	1550,00	1314,00
ST (mg L ⁻¹)	9700,00	4400,00	10400,00	4000,00	9100,00	6000,00
SF (mg L ⁻¹)	2900,00	1800,00	3200,00	1900,00	2300,00	1900,00
SV (mg L ⁻¹)	6800,00	2600,00	7200,00	2100,00	6800,00	4100,00
STD (mg L ⁻¹)	3000,00	2727,00	2100,00	1800,00	3733,00	2579,00
SFD (mg L ⁻¹)	1000,00	1111,00	600,00	900,00	1427,00	1032,00
SVD (mg L ⁻¹)	2000,00	1616,00	1500,00	900,00	2306,00	1548,00

183 Procedimentos de análises de Malavolta et al. (1997).

184 EST: Esterqueira; BIO: Biodigestor; CE: Condutividade Elétrica; COT: Carbono Orgânico Total; N(total): Nitrogênio Total; NO₃⁻
 185 +NO₂⁻: Nitrato e Nitrito; NH₄⁺: Amônio; P: Fósforo; K: Potássio; Ca: Cálcio; Mg: Magnésio; S: Enxofre; Na: Sódio; Cu: Cobre; Mn:
 186 Manganês; Zn: Zinco; Fe: Ferro; DQO: Demanda Química de Oxigênio; ST: Sólidos Totais; SF: Sólidos Fixos; SV: Sólidos
 187 Voláteis; STD: Sólidos Totais Dissolvidos; SFD: Sólidos Fixos Dissolvidos; SVD: Sólidos Voláteis Dissolvidos.

188 Unidades: *Adimensional, **Unidades Nefelométricas de Turbidez(UNT).

189

190 Três testes de ecotoxicidade visando avaliar a minhoca como bioindicadora ambiental, quando a
 191 água residuária da suinocultura é utilizada em solos agrícolas, foram realizados, sendo: letalidade,
 192 fuga e de reprodução.

193

194 **Teste de letalidade**

195 O teste de letalidade (toxicidade aguda) foi executado conforme metodologia proposta por
 196 OECD n° 207 (OECD, 1984) utilizando 72 recipientes plásticos circulares de 1 L como parcelas
 197 experimentais (quatro doses de ARS; três repetições; seis experimentos). Em cada recipiente
 198 adicionou-se 650 g de solo seco, juntamente com a respectiva dose de ARS, homogeneizada com

199 água destilada, visando atingir a umidade em torno de 40% da capacidade máxima de retenção
200 hídrica do solo.

201 Os seis experimentos, referentes ao teste de letalidade, foram realizados simultaneamente em
202 ambiente com temperaturas na faixa de 20 ± 2 °C e luminosidade em tempo integral, a fim de inibir
203 a fuga dos organismos em teste. Diferentemente do sugerido pela norma OECD nº 207 (OECD,
204 1984), a intensidade luminosa não foi regulada entre 400 a 800 lux, pois a ARS não é um extrato
205 fotossensível.

206 Após sete dias, a partir da introdução de 10 minhocas cliteladas nas parcelas experimentais,
207 avaliou-se a letalidade e, ao final do teste, aos 14 dias, realizou-se nova avaliação. A diferença entre
208 indivíduos inseridos e retirados vivos após o período do teste indicou o nível de letalidade. Durante
209 a realização deste teste não foi fornecida alimentação aos animais.

210

211 **Teste de fuga**

212 O teste de fuga (comportamento) foi realizado de acordo com a metodologia proposta pela ISO
213 17512-1 (ISO, 2008), em que foram utilizados 72 recipientes plásticos retangulares com área de 200
214 cm² e volume de 1 L. Estes recipientes constituíram as parcelas experimentais dos seis experimentos
215 (três tipos de solo e dois tipos de ARS), em que foram utilizados os quatro níveis de ARS com três
216 repetições.

217 No centro de cada parcela experimental foi inserida uma divisória plástica, dividindo-a
218 transversalmente em duas partes iguais, onde se inseriu 500 g de solo seco a cada lado, suficiente
219 para alcançar entre 5 a 6 cm. Tendo como objetivo manter 40% da capacidade máxima de retenção
220 hídrica do solo, um dos lados do pote recebeu somente água destilada. Enquanto que, o outro lado
221 recebeu o tratamento com respectiva dose de ARS de cada tratamento e água destilada necessária a
222 fim de atingir a condição apropriada de umidade.

223 Posteriormente, após atingida a umidade desejada em ambos os lados, retirou-se a divisória
224 gerando um espaço vazio no solo onde foram adicionados 10 indivíduos com peso entre 250 e 600
225 mg.

226 Os recipientes do teste foram cobertos com tampa perfurada, para permitir aeração, e colocadas
227 em ambiente sem luminosidade, a fim de evitar interferências nos dados de fuga, dado que as
228 minhocas são seres fotofóbicos. Os recipientes permaneceram em ambiente controlado, com
229 temperatura de 20 ± 2 °C.

230 A duração do teste foi de 48 horas e os indivíduos permaneceram sem alimentação. Após o teste
231 a divisória foi recolocada no meio da caixa e contaram-se os indivíduos em cada lado. Quando da

232 existência de indivíduos no mesmo local da divisória considerou-se meio indivíduo para cada lado,
233 independentemente da porção do corpo que tenha ficado para cada lado. Os resultados foram
234 expressos em porcentagem de fuga, em que foi calculada a porcentagem de indivíduos que evitaram
235 o solo contaminado pela ARS.

236 O cálculo para obtenção da porcentagem de fuga foi realizado em cada recipiente do teste de
237 acordo com equação 1, a seguir:

238

$$239 \quad F = \frac{C - T}{N} \times 100 \quad (1)$$

240

241 em que,

242 F- porcentagem de fuga;

243 C- número de indivíduos encontrados no lado controle;

244 T- número de indivíduos encontrados no lado tratado;

245 N- número total de indivíduos colocados no recipiente do teste.

246

247 **Teste de reprodução**

248 Semelhante aos testes de letalidade e fuga, para o teste de reprodução (toxicidade crônica) o
249 ambiente foi mantido em temperatura e luminosidade controladas, na faixa de 20 ± 2 °C e com
250 fotoperíodo de 12h, seguindo protocolo de OECD nº 222 (OECD, 2004).

251 Nos seis experimentos (três tipos de solos e dois tipos de ARS) foram utilizados 120 recipientes
252 plásticos circulares com volume de 1 L, 200 cm² de área, e tampas perfuradas para fins de aeração
253 em todas as parcelas experimentais. Tendo como tratamento os quatro níveis de ARS e cinco
254 repetições.

255 Em cada recipiente foram adicionados 650 g de solo desfaunado, dose adequada de ARS e água
256 destilada, formando camada de 5 a 7 cm e com umidade a 50% da capacidade máxima de retenção
257 hídrica do solo.

258 A técnica de homogeneização do substrato (solo + ARS + água) foi feita em sacos plásticos por
259 meio de agitação manual do substrato no interior dos sacos para posterior introdução nas parcelas
260 experimentais. Este procedimento reduziu a densidade do solo e evitou interferências no processo
261 reprodutivo das minhocas.

262 Após constituição da parcela experimental, introduziu-se 10 indivíduos adultos clitelados, com
263 quatro meses de idade e com 250 a 600 mg de peso. Após 28 dias de permanência os indivíduos

264 adultos foram retirados, permanecendo apenas os casulos. Considerando apenas os casulos, o teste
265 durou mais 28 dias visando a contagem dos indivíduos juvenis existentes em cada recipiente. Deste
266 modo, foi possível determinar o êxito reprodutivo.

267 O método de contagem dos juvenis eclodidos deu-se através de catação manual, a qual foi
268 realizada colocando-se o solo em uma bandeja e com o auxílio de uma pinça inspecionou-se
269 cuidadosamente o mesmo retirando-se os indivíduos encontrados.

270 Devido à longa duração deste teste manteve-se a alimentação dos organismos adultos utilizados
271 com o fornecimento semanal de aveia na quantidade de 3 g por recipiente. Esta mesma quantidade
272 de alimento foi disposta para eclosão e manutenção dos juvenis. Em função da duração de 56 dias
273 de teste, a umidade do solo foi corrigida semanalmente usando o método gravimétrico, monitorando
274 o peso de cada recipiente.

275

276 **Critérios de análise dos testes de letalidade, fuga e reprodução**

277 A análise dos três testes (letalidade, fuga e reprodução) utilizados nos seis experimentos seguiu
278 normas estabelecidas por OECD (1984), OECD (2004) e ISO (2008).

279 Conforme protocolo OECD nº 207 (OECD, 1984), a taxa de mortalidade das minhocas adultas
280 nos testes de letalidade não deve exceder 10% do total de indivíduos nas parcelas experimentais
281 tidas como controle ou testemunha ($ARS = 0 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$). O mesmo critério é válido para a ISO 17512-
282 1 (ISO, 2008) com relação ao teste de fuga e OECD nº 222 (OECD, 2004) com relação ao teste de
283 toxicidade crônica (reprodução). Além disso, segundo OECD (2004), o número de juvenis nas
284 parcelas de controle deve ser maior que 30, e o coeficiente de variação (CV) dos testes menores que
285 30%.

286 De acordo com o protocolo ISO 17512-1 (ISO, 2008) a distribuição dos organismos nas parcelas
287 de controle deve estar entre 40 a 60%, comprovando ausência de preferência significativa por um
288 dos lados do recipiente do teste.

289

290 **Análise dos dados**

291 Os dados obtidos nos testes de letalidade, fuga e reprodução foram submetidos ao teste de
292 normalidade (Teste de Shapiro-Wilk com $p > 0,05$) e homogeneidade de variância (Teste de Levene
293 com $p > 0,05$). Posteriormente, aplicou-se a Análise de Variância Unifatorial (ANOVA one-way) e
294 teste post-hoc de Tukey. Matrizes de correlação de Pearson foram utilizadas para avaliar a

295 influência das características ambientais, provocadas pelos tipos de solo e níveis e tipos de ARS nos
296 testes de letalidade, fuga e reprodução.

297

298

RESULTADOS E DISCUSSÃO

299

300 **Teste de letalidade**

301 O teste de letalidade não obteve resultados estatisticamente significativos. Ocorreu, em todo o
302 teste, apenas a morte de um indivíduo, aos 14 dias, no tratamento NIT/BIO/200.

303 De acordo com Abdul Rida & Bouché (1997), os testes de toxicidade aguda compreendem uma
304 parte muito curta do período de vida de animais bioindicadores ambientais. Deste modo, a
305 sensibilidade inerente ao teste é baixa, ou seja, mortes irão ocorrer somente com uso de substâncias
306 de alta toxicidade. Por outro lado, as substâncias de baixa toxicidade em altas concentrações podem
307 induzir também a morte de minhocas. Observou-se nos seis experimentos que a ARS, mesmo na
308 maior concentração ($300 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$), não apresentou letalidade às minhocas. Logo, este resultado
309 induz a concluir que a aplicação de ARS em solos agrícolas, até o limite de $300 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, não
310 apresenta impacto ambiental negativo, quando se usa minhocas como bioindicadoras ambientais.
311 Este resultado isolado, porém, pode não refletir com exatidão a toxidez de determinada substância.
312 O teste de letalidade por ser uma ferramenta de análise inicial, em análises ecotoxicológicas, carece
313 de complementação, por meio de testes de maior sensibilidade, como de fuga e de reprodução.

314 Trabalhos de De Silva & Van Gestel (2009); Segat (2012) e Dores-Silva et al. (2013) também
315 corroboram a afirmação de Abdul Rida & Bouché (1997).

316 Em seu trabalho, Segat (2012), a qual desenvolveu experimentos bastante semelhantes aos
317 apresentados neste trabalho, obteve mortalidade significativa em apenas um dos quatro solos
318 testados, tendo ocorrido estas mortes somente em Neossolo Quartzarênico nas três maiores doses
319 testadas, 60, 75 e $100 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$. A autora justifica que isto pode ter ocorrido devido ao fato do
320 Neossolo Quartzarênico possuir um baixo teor de matéria orgânica e grande quantidade de areia, o
321 que tornaria os contaminantes mais disponíveis no ambiente.

322 **Teste de fuga**

323 O critério de validação dos resultados estabelece que, para não haver fuga, ou atração
324 significativa na fração da parcela experimental contaminada pela ARS, a distribuição dos
325 organismos na parcela experimental deve-se encontrar na faixa entre 40 a 60% (ISO, 2008). Os
326 resultados deste teste de fuga, apresentados no Quadro 4, indicam, portanto, que não houve fuga, ou
327 atração, dos solos contaminados pela ARS. Porém, percebe-se nos resultados uma tendência das

328 minhocas terem uma atração pela ARS. Comportamento semelhante de atração foi encontrado em
 329 três dos quatro solos com aplicação de dejetos suíno estudados por Segat (2012), havendo ocorrido
 330 comportamento de fuga somente no Neossolo Quartzarênico. No presente trabalho, apesar de não
 331 atingir os limites de validação do teste (40 a 60%), números negativos mais próximos ao limite
 332 superior de 60% são encontrados nos solos contaminados com ARS, exceto para o experimento
 333 SAT/BIO.

334

335 **Quadro 4. Médias de porcentagem de fuga nos seis experimentos**

DOSE (m ³ ha ⁻¹)	LAT		NIT		SAT		C.V.
	BIO	EST	BIO	EST	BIO	EST	
0	0,00	20,00	36,67	13,33	-56,67	20,00	682,56
100	6,67	46,67	-33,33	0,00	26,67	-3,33	626,11
200	-20,00	13,33	26,67	40,00	46,67	-20,00	367,27
300	20,00	-13,33	-53,33	-50,00	60,00	-46,67	-372,19

336 LAT: Latossolo; NIT: Nitossolo; SAT: Solo Artificial Tropical; BIO: Biodigestor; EST.: Esterqueira; C.V.: Coeficiente de Variação.
 337 Valores de média positivos indicam fuga e valores negativos indicam atração pelo tratamento.

338

339 Neste teste a ausência de fuga, ou talvez uma tendência à atração, das minhocas por substâncias
 340 orgânicas, como a ARS, é devido à espécie *Eisenia andrei* ser epigéica e possuir preferência por
 341 solos com alta quantidade de matéria orgânica, como afirmam De Silva & Van Gestel (2009).

342 Substâncias oriundas do manejo da suinocultura, como os metais cobre e zinco, usados na
 343 alimentação dos animais para maior conversão alimentar (Marcato & Lima, 2005), podem ser
 344 detectadas em ARS, na forma de constituintes de substâncias mais complexas, como poluentes
 345 orgânicos permanentes (POP's). Fármacos veterinários como Cloranfenicol, Fluoroquinolona,
 346 Sulfonamidas, Tetraciclina, Tiamulin e Tilosina também foram detectados em ARS nos trabalhos
 347 de Angenent et al. (2008), Tong et al. (2009) e Pan et al. (2011). Na propriedade onde foi coletada a
 348 ARS usada neste experimento, encontrou-se traços dos antimicrobianos Doxiciclina, Enrofloxacin,
 349 Espiramicina, Sulfametazina, Lincomicina, Norfloxacin, Penicilina G e Tetraciclina. Apesar destas
 350 substâncias mais complexas serem frequentemente encontradas em ARS, geralmente não possuem
 351 efeito relevante sobre esses animais, como observado por Jensen et al. (2003) e Amorim et al.
 352 (2010).

353 A correlação de Pearson realizada entre os parâmetros de fuga e os físico-químicos do solo e da
 354 ARS não foi significativa. Corroborando, portanto, com os resultados de porcentagem de fuga
 355 encontrados no teste, os quais não foram significativos.

356 Teste de reprodução

357 Segundo o protocolo de OECD nº 222 (OECD, 2004) o teste de reprodução foi considerado
 358 válido, pois as mortes de indivíduos adultos foram menores que 10% por tratamento, ocorrendo
 359 apenas seis mortes de adultos nos seis experimentos. As ocorrências de mortes foram: duas no
 360 tratamento LAT/EST/300, duas no tratamento NIT/BIO/300 e duas no tratamento NIT/EST/300.
 361 Todas ocorridas nos tratamentos com dose de 300 m³ ha⁻¹. Indicando, portanto, possível efeito
 362 deletério ambiental em longo prazo desta dose, ou superior, em solos agrícolas onde existe contínua
 363 aplicação de ARS. Outro fato importante a ser considerado é que a maioria das mortes ocorreu no
 364 Nitossolo, evidenciando, desta maneira, que este tipo de solo pode proporcionar efeito deletério
 365 ambiental da aplicação de ARS mais pronunciado do que em outros solos.

366 O teste é considerado válido também quanto ao número de juvenis eclodidos, tendo ocorrido
 367 número maior do que 30 indivíduos nos controles. Somente no controle do experimento NIT/EST o
 368 critério não foi alcançado.

369 O critério quanto ao coeficiente de variação não foi alcançado, tendo ocorrido coeficientes de
 370 variação maiores do que 30%.

371 A ANOVA indicou resultados estatisticamente significativos somente nos experimentos
 372 LAT/BIO e NIT/EST (Quadro 5).

373

374 Quadro 5. Análise de variância (ANOVA One-way) e teste de médias para reprodução 375 (número de juvenis de *Eisenia andrei*) nos seis experimentos

DOSE (m ³ ha ⁻¹)	LAT		NIT		SAT		SOMA	C.V.
	BIO	EST	BIO	EST	BIO	EST		
0	68,20 b	93,80 a	51,00 a	25,40 b	98,40 a	98,40 a	435,20	55,68
100	125,40 a	100,20 a	42,40 a	92,80 a	122,60 a	83,60 a	567,00	41,33
200	132,80 a	98,40 a	55,00 a	56,80 ab	137,80 a	100,80 a	581,60	45,94
300	116,60 a	96,80 a	78,80 a	63,80 ab	118,60 a	127,00 a	601,60	36,58
SOMA	443,00	389,20	227,20	238,80	477,40	409,80	2185,40	
ANOVA (p-valor)	0,001 *	0,982 ^{ns}	0,448 ^{ns}	0,034 *	0,350 ^{ns}	0,340 ^{ns}		

376

377

378

379

* Significativo a 5% de probabilidade; "ns": não significativo; LAT: Latossolo; NIT: Nitossolo; SAT: Solo Artificial Tropical; BIO: Biodigestor; EST: Esterqueira; C.V.: Coeficiente de Variação. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna não diferem ao teste de Tukey a 5% de significância para número de juvenis de *Eisenia andrei*.

380 O teste de Tukey (Quadro 5) evidencia que no experimento LAT/BIO os tratamentos com
 381 aplicação de ARS diferiram do tratamento controle. Todos os tratamentos com doses de ARS foram
 382 estatisticamente iguais entre si e apresentaram maiores taxas de reprodução que o tratamento
 383 controle.

384 O tratamento NIT/EST/100 teve a maior taxa reprodutiva, diferindo-se dos demais tratamentos
385 deste experimento. Os tratamentos NIT/EST/200 e NIT/EST/300 apresentaram-se estatisticamente
386 iguais entre si.

387 A soma das médias dos tratamentos revelou que os NIT/EST E NIT/BIO obtiveram as menores
388 taxas reprodutivas e muito próximas entre si. Por outro lado, a soma das médias dos experimentos
389 LAT/BIO, LAT/EST, SAT/BIO e SAT/EST, apesar de maiores que NIT/EST e NIT/BIO, também
390 foram semelhantes entre si. Este resultado pode indicar que não haja grande influência na diferença
391 entre o uso de ARS de esterqueira e de biodigestor, pois se observa que a ocorrência de diferença
392 mais significativa entre os valores deu-se entre os solos, porém, considerando-se cada um dos solos,
393 não houve diferença relevante entre o uso de ARS de esterqueira ou biodigestor.

394 Considerando-se os totais de cada tratamento, nos seis experimentos, observa-se que todos os
395 tratamentos com ARS induziram taxa reprodutiva maior que a soma dos tratamentos controle. Este
396 fato pode indicar que a aplicação de ARS confira uma vantagem reprodutiva para a espécie *Eisenia*
397 *andrei*. Tessaro et al. (2013), estudando o efeito da aplicação de ARS e adubação mineral sobre a
398 macrofauna em cultura de minimilho, encontraram efeitos positivos sobre as populações dos grupos
399 Hymenoptera e Coleoptera até a dose de $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, e efeitos negativos superiores a esta dose, o
400 que pode sugerir que a ARS, pelo menos até a dose de $200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, traga efeitos benéficos não
401 somente às minhocas como também a outros animais pertencentes à macrofauna de solo.

402 A partir da análise de Pearson, entre o número de indivíduos juvenis e parâmetros físico-
403 químicos do solo, encontrou-se apenas uma correlação significativa e positiva, sendo com a
404 quantidade de NO_3^- e NO_2^- (Quadro 6).

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416 **Quadro 6. Correlação de Pearson entre reprodução (número médio de juvenis) e fatores**
 417 **ambientais (parâmetros físico-químicos de ARS e do solo)**

	Nº DE JUVENIS	P	S	Mn	Cu	Fe	Zn	N(total)	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	K
Nº DE JUVENIS	1,00										
P	0,23	1,00									
S	0,33	0,89*	1,00								
Mn	0,17	1,00*	0,86*	1,00							
Cu	0,34	0,87*	1,00*	0,83*	1,00						
Fe	0,28	0,99*	0,92*	0,98*	0,91*	1,00					
Zn	0,32	0,92*	1,00*	0,89*	0,99*	0,95*	1,00				
N(total)	0,29	0,96*	0,98*	0,94*	0,97*	0,98*	0,99*	1,00			
NH ₄ ⁺	0,32	0,92*	1,00*	0,89*	0,99*	0,95*	1,00*	0,99*	1,00		
NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	<u>0,43*</u>	0,88*	0,96*	0,83*	0,96*	0,93*	0,96*	0,95*	0,97*	1,00	
K	0,30	0,95*	0,98*	0,93*	0,98*	0,97*	0,99*	1,00*	1,00*	0,96*	1,00

418 * significativo pelo teste de Pearson a 5% de significância. P: Fósforo; S: Enxofre; Mn: Manganês; Cu: Cobre; Fe: Ferro; Zn: Zinco;
 419 N(total): Nitrogênio total; NH₄⁺: Amônio; NO₃⁻+NO₂⁻: Nitrato e Nitrito; K: Potássio;
 420

421 Xu et al. (2007) utilizaram deposição de nitrogênio no solo na forma de NH₄NO₃ nas doses de 0,
 422 5, 10, 15 e 30 gN m², encontrando indícios de saturação por nitrogênio no solo na dose de 30 gN
 423 m². Estes autores verificaram que a aplicação de nitrogênio ao solo pode apresentar efeitos
 424 benéficos sobre o crescimento e reprodução da fauna até que o nível de saturação de nitrogênio no
 425 solo seja alcançado, porém, após a extrapolação deste nível os efeitos sobre a fauna edáfica
 426 demonstram-se negativos, especialmente quanto ao nitrogênio na forma de NO₃⁻. Isto pode ocorrer
 427 devido ao fato de que alcançada a saturação de nitrogênio no solo, este se torna mais disponível no
 428 solo, acarretando danos à fauna. Aliado a isto, uma concentração maior de nitrogênio resulta em
 429 acidificação do solo, o que também leva a prejuízos à fauna.

430 No presente trabalho, analisando-se a concentração de nitrogênio total em ARS na dose
 431 máxima utilizada (300 m³ ha⁻¹) no teste de reprodução, encontrou-se a concentração de 1,33 gN m²
 432 na ARS de esterqueira e 1,10 gN m² na ARS de biodigestor. Estes valores encontram-se bem abaixo
 433 da concentração de saturação encontrada por Xu et al. (2007), o que corrobora os resultados
 434 positivos encontrados no presente trabalho.

435 Considerando-se o conjunto dos três testes realizados percebe-se que a espécie de minhoca
 436 utilizada pode ser usada como um bioindicador ambiental em áreas em que existe a aplicação de
 437 ARS como técnica de produção de agrícola. Neste sentido, em curto prazo, o uso de ARS, bruta ou
 438 tratada, em áreas agrícolas pode ser realizado até o limite de 300 m³ ha⁻¹ em Latossolo Vermelho
 439 Distroférico. Nas mesmas condições citadas anteriormente, caso o solo seja o Nitossolo Vermelho
 440 Eutroférico, sugere-se aplicações em doses menores e um monitoramento mais frequente do
 441 comportamento das minhocas, principalmente, quanto à sua reprodução na área. Outro

442 monitoramento importante são os níveis de concentração de N, principalmente, nas formas de
443 nitrito e nitrato.

444

445

CONCLUSÃO

446

447

1. Considerando as minhocas como bioindicadoras ambientais, conclui-se que a água
448 residuária da suinocultura não só não induz um impacto ambiental negativo em curto prazo,
449 como dá indícios de efeitos positivos sobre a fauna do solo, pelo menos em curto prazo.

450

451

452

453

2. Recomenda-se, portanto, a aplicação de até 300 m³ ha⁻¹, para água residuária da
454 suinocultura oriundas da esterqueira e do biodigestor, caso o solo seja Latossolo Vermelho
455 Distroférico. Em Nitossolo Vermelho Eutroférico recomendam-se doses menores que 200
456 m³ ha⁻¹ e monitoramento da reprodução das minhocas.

454

455

LITERATURA CITADA

456

457

ABDUL RIDA, A. M. M.; BOUCHÉ, M. B. Earthworm toxicology: From acute to chronic tests.
458 *Soil Biol. Biochem.*, 29: 699–703, 1997.

459

460

461

462

AMORIM, M. J. B.; OLIVEIRA, E.; SOARES, A. M. V. M.; SCOTT-FORDSMAND, J. J.
463 Predicted no effect concentration (PNEC) for triclosan to terrestrial species (invertebrates
464 and plants). *Environ. Int.*, 36: 338–343, 2010.

463

464

465

ANDRÉA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. *Acta*
466 *Zoológica Mex.*, n.s.: 95-107, 2010.

466

467

468

469

ANGENENT, L. T.; MAU, M.; GEORGE, U.; ZAHN, J. A.; RASKIN, L. Effect of the presence
470 of the antimicrobial tylosin in swine waste on anaerobic treatment. *Water Res.*, 42: 2377–
471 2384, 2008.

470

471

472

473

474

ASSMANN, T. S.; ASSMANN, J. M.; CASSOL, L. C.; DIEHL, R. C.; MANTELI, C.;
475 MAGIERO, E. C. Desempenho da mistura forrageira de aveia-preta mais azevém e atributos
476 químicos do solo em função da aplicação de esterco líquido de suínos. *Rev. Bras. Ciência do*
477 *Solo*, 31: 1515–1523, 2007.

474

475

476

477

478

AYUKE, F.O.; BRUSSAARD, L.; VANLAUWE, B.; SIX, J.; LELEI, D.K.; KIBUNJA, C.N.;
479 PULLEMAN, M.M. Soil fertility management: Impacts on soil macrofauna, soil
480 aggregation and soil organic matter allocation. *Appl. Soil Ecol.*, 48: 53–62, 2011.

479

480

481

482

483

BREFFLE, W. S; MURALIDHARAN, D.; DONOVAN, R. P.; LIU, F.; MUKHERJEE, A. ; JIN,
484 Y. Socioeconomic evaluation of the impact of natural resource stressors on human-use
services in the Great Lakes environment : A Lake Michigan case study. *Resour. Policy*, 38:
152–161, 2013.

- 485 BROOKS, J. P.; ADELI, A.; MCLAUGHLIN, M. R. Microbial ecology, bacterial pathogens, and
486 antibiotic resistant genes in swine manure wastewater as influenced by three swine
487 management systems. *Water Res.*, 57: 96-103, 2014.
488
- 489 CAO VILLA, F. A.; SAMPAIO, S. C.; SMANHOTTO, A.; NÓBREGA, L. H.P.; QUEIROZ, M.
490 M. F.; GOMES, B. M. Características químicas de solo cultivado com soja e irrigado com
491 água residuária da suinocultura. *Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.*, 14: 692–697, 2010.
492
- 493 COULIBALY, S.S.; ZORO BI, I. A. Influence of animal wastes on growth and reproduction of
494 the african earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). *Eur. J. Soil Biol.*, 46: 225–
495 229, 2010.
496
- 497 DAL BOSCO, T. C.; SAMPAIO, S. C.; OPAZO, M. A. U.; GOMES, S. D.; NÓBREGA, L. H. P.
498 Aplicação de água residuária de suinocultura em solo cultivado com soja: Cobre e zinco no
499 material escoado e no solo. *Eng. Agrícola*, 28: 699–709, 2008 a.
500
- 501 DAL BOSCO, T. C.; IOST, C.; SILVA, L. N. DA; CARNELLOSI, C. F.; EBERT, D. C.;
502 SCHREINER, J. S.; SAMPAIO, S. C. Utilização de Água Residuária de Suinocultura em
503 Propriedade Agrícola- Estudo de Caso. *Irriga*, 13: 139–144, 2008 b.
- 504 DAY, J. W.; MOERSCHBAECHER, M.; PIMENTEL, D.; HALL, C.; YÁÑEZ-ARANCIBIA, A.
505 Sustainability and place : How emerging mega-trends of the 21st century will affect humans
506 and nature at the landscape level. *Ecol. Eng.*, 65: 33–48, 2014.
507
- 508 DE SILVA, P. M. C. S.; VAN GESTEL, C. A. M. Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and
509 *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics.
510 *Chemosphere*, 77: 1609–1613, 2009.
511
- 512 DOBLINSKI, A. F.; SAMPAIO, S. C.; SILVA, V. R. DA; NÓBREGA, L. H. P., GOMES, S. D.,
513 DAL BOSCO, T.C. Nonpoint source pollution by swine farming wastewater in bean crop.
514 *Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.*, 14: 87–93, 2010.
515
- 516 DOMINGUEZ, J.; EDWARDS, C. A.; WEBSTER, M. Vermicomposting of sewage sludge:
517 Effect of bulking materials on the growth and reproduction of the earthworm *Eisenia andrei*.
518 *Pedobiologia*, 44: 24–32, 2000.
519
- 520 DOMINGUEZ, J.; EDWARDS, C. A.; ASHBY, J. The biology and population dynamics of
521 *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) (Oligochaeta) in cattle waste solids. *Pedobiologia*, 45: 341–
522 353, 2001.
523
- 524 DORES-SILVA, P.R.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Bioensaios para avaliação da
525 toxicidade aguda, reprodução e ganho de biomassa de minhocas (*Eisenia fetida*)
526 ambientadas em lodo de esgoto doméstico. *J. Brazilian Soc. Ecotoxicol.*, 8: 143–146, 2013.
527
- 528 EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema brasileiro
529 de classificação de solos. 2ª ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006. 306 p.
530
- 531 GARCIA, M.V. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicological test methods
532 for tropical regions. Ecology and Development Series No. 19, Germany, University of Bonn,
533 2004. 281 p.
534

- 535 GARCÍA-SANTOS, G.; KELLER-FORRER, K. Avoidance behaviour of *Eisenia fetida* to
536 carbofuran, chlorpyrifos, mancozeb and metamidophos in natural soils from the highlands of
537 Colombia. *Chemosphere*, 84: 651–656, 2011.
538
- 539 ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 15799: Soil
540 quality-Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials.
541 Genève, Switzerland, 2003, 33p.
542
- 543 ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 17512-1: Soil
544 quality - Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on
545 behavior - pt 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Genève,
546 Switzerland, 2008. 25p.
547
- 548 JENSEN, J.; KROGH, P. H.; SVERDRUP, L. E. Effects of the antibacterial agents tiamulin ,
549 olanquinox and metronidazole and the anthelmintic ivermectin on the soil invertebrate
550 species *Folsomia fimetaria* (*Collembola*) and *Enchytraeus crypticus* (*Enchytraeidae*).
551 *Chemosphere*, 50: 437–443, 2003.
552
- 553 KESSLER, N. C. H.; SAMPAIO, S. C.; SORACE, M.; PRADO, N.V.; PALMA, D.; CUNHA, E.
554 ; ANDRADE, L.H. Swine wastewater associated with mineral fertilization in blackoat
555 (*Avena sativa*) cultures: 8th production cycle. *J. Food, Agric. Environ.* (Online), 11: 1437-
556 1443, 2013 a.
557
- 558 KESSLER, N. C. H. ; SAMPAIO, S. C. ; LUCAS, S.D.M. ; SORACE, M. ; CITOLIN, A. C.
559 Swine wastewater associated with mineral fertilization in soybean (*Glycine max* L.)
560 Cultures: 9th production cycle. *J. Food, Agric. Environ.* (Online), 11: 936-942, 2013 b.
561
- 562 KINNEY, C.A.; CAMPBELL, B. R.; THOMPSON, R.; FURLONG, E. T.; KOLPIN, D. W.;
563 BURKHARDT, M. R.; ZAUGG, S. D. ; WERNER, S. L. ; HAY, A. G. Earthworm
564 bioassays and seedling emergence for monitoring toxicity, aging and bioaccumulation of
565 anthropogenic waste indicator compounds in biosolids-amended soil. *Sci. Total Environ.*,
566 433: 507–15, 2012.
567
- 568 LI, L.; XU, Z.; WU, J.; TIAN, G. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia*
569 *fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresour. Technol.*,
570 101: 3430–3436, 2010.
571
- 572 LIU, L.; LIU, C.; ZHENG, J.; HUANG, X.; WANG, Y; LIU, Y.; ZHU, G. Elimination of
573 veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes from swine wastewater in the vertical
574 flow constructed wetlands. *Chemosphere*, 91: 1088–1093, 2013.
575
- 576 LUCAS, S.D.M.; SAMPAIO, S. C.; OPAZO, M. A. U. ; GOMES, S. D. ; KESSLER, N. ;
577 PRADO, N. V. Long-term behavior of Cu and Zn in soil and leachate of an intensive no-
578 tillage system under swine wastewater and mineral fertilization. *African J. Agric. Res.*, 8:
579 639-647, 2013.
580
- 581 LUCHESE, E.B.; FAVERO, L.O.B.; LENZI, E. Fundamentos da química do solo: Teoria e
582 prática. 2. ed. Rio de Janeiro, Freitas Bastos Editora, 2002. 159p.
583

- 584 MAGGI, C. F.; FREITAS, P. S. L. DE; SAMPAIO, S. C.; DIETER, J. Lixiviação de nutrientes
585 em solo cultivado com aplicação de água residuária de suinocultura. Rev. Bras. Eng.
586 Agrícola e Ambient., 15: 170–177, 2011.
587
- 588 MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. Avaliação do estado nutricional
589 das plantas. 2. ed. Piracicaba, Potafós, 1997. 319p.
590
- 591 MARCATO, S.M.; LIMA, G.J.M.M. Efeito da restrição alimentar como redutor do poder
592 poluente dos dejetos suínos. R. Bras. Zootec., 34: 855-63, 2005.
593
- 594 MUNIR, M.; XAGORARAKI, I. Levels of antibiotic resistance genes in manure, biosolids, and
595 fertilized soil. J. Environ. Qual., 40: 248-255, 2011.
596
- 597 NATAL-DA-LUZ, T; OJEDA, G; PRATAS, J; VAN GESTEL, C. A. M.; SOUSA, J. P. Toxicity
598 to *Eisenia andrei* and *Folsomia candida* of a metal mixture applied to soil directly or via an
599 organic matrix. Ecotoxicol. Environ. Saf., 74: 1715–1720, 2011.
600
- 601 OECD – ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT.
602 OECD – Earthworm, acute toxicity tests (Guideline for testing of chemicals, 207). Paris,
603 1984. 9 p.
604
- 605 OECD - ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT.
606 OECD - Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*) (Guideline for the
607 testing of chemicals, 222). Paris, 2004. 18 p.
608
- 609 PAN, X.; QIANG, Z.; BEN, W.; CHEN, M. Simultaneous determination of three classes of
610 antibiotics in the suspended solids of swine wastewater by ultrasonic extraction, solid-phase
611 extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. J. Environ. Sci., 23: 1729–1737,
612 2011.
613
- 614 PESARO, M.; WIDMER, F.; NICOLLIER, G.; ZEYER, J. Effects of freeze – thaw stress during
615 soil storage on microbial communities and methidathion degradation. Soil Biol. Biochem.,
616 35: 1049 – 1061, 2003.
617
- 618 PRIOR, M.; SMANHOTTO, A.; SAMPAIO, S. C.; NÓBREGA, L. H. P.; OPAZO, M. A. U.;
619 DIETER, J. Acúmulo e percolação de fósforo no solo devido à aplicação de água residuária
620 da suinocultura na cultura do milho (*Zea mays* L.). Pesqui. Apl. Agrotecnologia, 2: 89-96,
621 2009.
622
- 623 SAMPAIO, S. C.; FIORI, M. G. S.; OPAZO, M. A. U.; NÓBREGA, L. H. P. Comportamento das
624 formas de nitrogênio em solo cultivado com milho irrigado com água residuária da
625 suinocultura. Eng. Agrícola, 30: 138–149, 2010.
626
- 627 SANTORUFO, L.; VAN GESTEL, C. A. M.; MAISTO, G. Ecotoxicological assessment of metal-
628 polluted urban soils using bioassays with three soil invertebrates. Chemosphere, 88: 418–
629 425, 2012.
630
- 631 SCHILLING, M.; CHIANG, L. The effect of natural resources on a sustainable development
632 policy : The approach of non-sustainable externalities. Energy Policy, 39: 990–998, 2011.
633

- 634 SEGAT, J. C. Avaliação ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina.
635 Piracicaba, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”,
636 2012. 129 p. (Tese de Mestrado)
637
- 638 SINGH, R. P.; EMBRANDIRI, A.; IBRAHIM, M.H.; ESA, N. Management of biomass residues
639 generated from palm oil mill: Vermicomposting a sustainable option. *Resour. Conserv.*
640 *Recycl.*, 55: 423–434, 2011.
641
- 642 SMANHOTTO, A.; SOUSA, A. P.; SAMPAIO, S. C.; NÓBREGA, L. H. P.; PRIOR, M. Cobre e
643 zinco no material percolado e no solo com a aplicação de água residuária de suinocultura em
644 solo cultivado com soja. *Eng. Agrícola*, 30: 346–357, 2010.
645
- 646 STEPIĆ, S.; HACKENBERGER, B. K.; VELKI, M. ; LONČARIĆ, Z.; HACKENBERGER, D.
647 K. Effects of individual and binary-combined commercial insecticides endosulfan,
648 temephos, malathion and pirimiphos-methyl on biomarker responses in earthworm *Eisenia*
649 *andrei*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 36: 715–723, 2013.
650
- 651 TESSARO, D.; SAMPAIO, S. C.; ALVES, L. F. A.; DIETER, J.; CORDOVIL, C. M. D. S.;
652 VARENNES, A. Macrofauna of soil treated with swine wastewater combined with chemical
653 fertilization. *African J. Agric. Res.*, 8: 86–92, 2013.
654
- 655 TONG, L.; LI, P.; WANG, Y.; ZHU, K. Analysis of veterinary antibiotic residues in swine
656 wastewater and environmental water samples using optimized SPE-LC / MS / MS.
657 *Chemosphere*, 74: 1090–1097, 2009.
658
- 659 TRUHAUT, R. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*,
660 1: 151-173, 1977.
661
- 662 WANG, W.; LIANG, T.; WANG, L.; LIU, Y.; WANG, Y.; ZHANG, C. The effects of fertilizer
663 applications on runoff loss of phosphorus. *Environ. Earth Sci.*, 68: 1313–1319, 2013.
664
- 665 XU, G.; MO, JIANG-MING; FU, SHENG-LEI; PER, G.; ZHOU, G.; XUE, J. Response of soil
666 fauna to simulated nitrogen deposition: A nursery experiment in subtropical China. *J.*
667 *Environ. Sci.*, 19: 603–609, 2007.
668
- 669 ZHOU, C.; WANG, Y.; LI, C.; SUN, R.; YU, Y.; ZHOU, D. Subacute toxicity of copper and
670 glyphosate and their interaction to earthworm (*Eisenia fetida*). *Environ. Pollut.*, 180: 71–77,
671 2013.
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682

683 **ANEXO I - REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO - INSTRUÇÕES**
684 **AOS AUTORES**
685

686 A Revista Brasileira de Ciência do Solo é um periódico de divulgação científica publicado
687 pela Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS).
688

689 Os trabalhos submetidos à publicação somente poderão ser enviados pelo site
690 www.sbc.org.br, e não mais em papel, e nas seguintes formas:
691

692 Artigos ou notas científicas.

693 Revisões de literatura sobre tema específico.

694 Cartas ao Editor de, no máximo, quatro páginas digitadas em espaço duplo, contendo um
695 dos seguintes temas: (a) Comunicação de matéria diretamente ligada à Ciência do Solo; (b)
696 Comentário crítico de trabalhos publicados na Revista Brasileira de Ciência do Solo. Só serão
697 aceitos trabalhos escritos em português ou inglês, depois de revistos e aprovados pela Comissão
698 Editorial, e que não foram publicados e não submetidos à publicação em outro veículo. Excetuam-
699 se, nesta última limitação, os apresentados em congressos, em forma de resumo. O autor que
700 encaminhar o trabalho deverá se responsabilizar pelos demais autores, quando houver, como co-
701 responsáveis pelo conteúdo científico do trabalho.
702

703 Os trabalhos subdivididos em partes I, II,3, devem ser enviados juntos, pois serão submetidos
704 aos mesmos revisores.
705

706 Solicita-se observar as seguintes instruções para o preparo dos artigos e notas científicas:

707 1. O original deve ser encaminhado completo e revisto.
708

709 2. Deve ser enviado digitado em espaço 1,5, utilizando fonte “Times New
710 Roman 12”, formato A4, com 2,5 cm nas margens superior e inferior e 2,0 cm nas
711 margens direita e esquerda, enumerando-se todas as páginas e as linhas do texto.
712

713
714 3. O trabalho deve ser o mais claro e conciso possível. Somente em casos
715 especiais serão aceitos trabalhos com número de páginas de texto superior a quinze.
716

717 4. Os artigos, notas e revisões deverão ser iniciados com o título do trabalho e,
718 logo abaixo, os nomes completos dos autores. Como chamada de rodapé referente ao
719 título, deve-se usar número-índice que poderá indicar se foi trabalho extraído de tese, ou
720 apresentado em congresso, entidades financiadoras do projeto e, necessariamente, a data
721 (Recebido para publicação em / /) em que o trabalho foi recebido para publicação. O
722 cargo, o local de trabalho dos autores [endereço postal e, se possível, eletrônico (E-
723 mail)], deverão ser inseridos também no rodapé, em numeração consecutiva de chamada
724 de números-índices colocados logo após o nome de cada autor. A condição de bolsista
725 poderá ser incluída.

726
727 5. Os artigos deverão ser divididos, sempre que possível, em seções com
728 cabeçalho, na seguinte ordem: RESUMO, SUMMARY (precedido da tradução do título
729 para o inglês), INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS,
730 DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, AGRADECIMENTOS e LITERATURA CITADA.
731 Não há necessidade dessa subdivisão para os artigos sobre educação, revisões de
732 literatura e notas científicas, embora devam ter, obrigatoriamente, RESUMO e
733 SUMMARY.

734
735 Tais seções devem ser constituídas de:

736 5.1. TÍTULO do trabalho que deve ser conciso e indicar o seu conteúdo.

737 5.2. RESUMO que deve apresentar, objetivamente, uma breve frase introdutória, que
738 justifique o trabalho, o que foi feito e estudado, os mais importantes resultados e conclusões. Será
739 seguido da indicação dos termos de indexação, diferentes daqueles constantes do título. A tradução
740 do RESUMO para o inglês constituirá o SUMMARY.

741 5.3. INTRODUÇÃO que deve ser breve, esclarecendo o tipo de problema abordado ou a(s)
742 hipótese(s) de trabalho, com citação da bibliografia específica e finalizar com a indicação do
743 objetivo do trabalho.

744 5.4. MATERIAL E MÉTODOS em que devem ser reunidas informações necessárias e
745 suficientes que possibilitem a repetição do trabalho por outros pesquisadores.

746 5.5. RESULTADOS que devem conter uma apresentação concisa dos dados obtidos.
747 Quadros ou figuras devem ser preparados sem dados supérfluos.

748 5.6. DISCUSSÃO que deve conter os resultados analisados, levando em conta a literatura,
749 mas sem introdução de novos dados.

750 5.7. CONCLUSÕES que devem basear-se somente nos dados apresentados no trabalho e
751 deverão ser numeradas.

752 5.8. AGRADECIMENTOS devem ser sucintos e não aparecer no texto ou em notas de
753 rodapé.

754 5.9. LITERATURA CITADA, incluindo trabalhos citados no texto, quadro(s) ou figura(s) e
755 inserida em ordem alfabética e da seguinte forma:

756 a. Periódicos: Nome de todos os autores, Título do artigo. Título abreviado do periódico,
757 volume: páginas inicial e final, ano de publicação. Exemplo: FONSECA, J.A. & MEURER, E.J.
758 Inibição da absorção de magnésio pelo potássio em plântulas de milho em solução nutritiva. R.
759 Bras. Ci. Solo, 21:47-50, 1997.

760 b. Livro: Autores. Título da publicação. Número da edição. Local, Editora, ano de
761 publicação. Número de páginas. Exemplo: KONHNKE, H. Soil physics. 2.ed. New York, MacGraw
762 Hill, 1969. 224p.

763 c. Participação em obra coletiva: Autores. Título da parte referenciada seguida de In: Nome
764 do
765 editor. Título da publicação, número da edição. Local de Publicação, Editora, ano. Páginas
766 inicial e final. Exemplos:

767 - Capítulo de livro:

768 JACKSON, M.L. Chemical composition of soil. In: BEAR, F.E., ed. Chemistry of the soil.
769 2.ed. New York, Reinhold, 1964. p.71-141.

770 d. Trabalho em Anais:

771 VETTORI, L. Ferro “livre” por cálculo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA
772 DO SOLO, 15., Campinas, 1975. Anais. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1976.
773 p.127-128.

774 e. CD-ROM:

775 SILVA, M.L.N.; FREITAS, P.L.; BLANCANEUX, P. & CURI, N. Índice de erosividade
776 de chuva da região de Goiânia (GO). In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA
777 DO SOLO. 13., 1996. Anais. Águas de Lindóia, Embrapa, 1996. CD-ROM

778 f. Internet:

779 EL NIÑO and La Niña. Disponível em: < <http://www.stormfax.com/elnino.htm>>. Acesso
780 em 15 out. 2000.

781 As abreviações de nome de revistas devem ser feitas de acordo com as usadas pelos
782 “abstracting journals”, como dos Commonwealth Agricultural Bureaux.

783

784 6. As Referências no texto deverão ser feitas na forma: Silva & Smith (1975) ou
785 (Silva & Smith, 1975). Quando houver mais de dois autores, usar a forma reduzida:
786 (Souza et al., 1975). Referências a dois ou mais artigos do(s) mesmo(s) autor(es), no
787 mesmo ano, serão discriminadas com letras minúsculas (Ex.: Silva, 1975a,b).

788
789 7. Os quadros deverão ser numerados com algarismos arábicos, sempre providos
790 de um título claro e conciso e construídos de modo a serem auto-explicativos. Não usar
791 linhas verticais. As linhas horizontais devem aparecer para separar o título do cabeçalho
792 e este do conteúdo, além de uma ao final do quadro. O quadro deve ser feito por meio de
793 uma tabela (MICROSOFT WORD/TABELA/INSERIR TABELA), no qual cada valor
794 deve ser digitado em células distintas, estando centralizado e alinhado.

795
796 8. Os gráficos deverão ser preparados, utilizando-se “Softwares” compatíveis
797 com “Microsoft Windows” (“Excel”, “Power Point”, “Sigma Plot”, etc.). Para fotos e
798 mapas coloridos utilizar resolução de 150 a 300 DPI. Não serão aceitas figuras que
799 repitam informações de quadros.

800
801 9. Fotos coloridas, quando imprescindíveis, a critério da Comissão Editorial,
802 serão, também, aceitas. Os custos adicionais deverão ser cobertos pelos autores.

803
804 10. Para publicação de artigos na RBCS serão cobrados por página editorada (forma final na
805 Revista): para sócios da SBCS (primeiro autor e, ou, autor correspondente) R\$ 25,00, até oito
806 páginas, e R\$ 50,00 por página adicional, para não-sócios (primeiro autor e, ou, autor
807 correspondente): R\$ 50,00 por página até oito páginas e R\$ 100,00 por página adicional.

808
809
810
811
812
813
814
815
816
817

818

ANEXO II – ATESTADO DE ESPÉCIE UTILIZADA NOS EXPERIMENTOS

819



ATESTADO

Juiz de Fora, M.G. 28 de outubro de 2013.

Atesto para os devidos fins que as matrizes de minhocas produzidas pela empresa Afrânio Augusto Guimarães – ME, Minhobox, fornecidas para Gustavo Gomes Paniago e discriminadas na nota fiscal eletrônica de número 3337, emitida por ela própria, são da espécie *Eisenia andrei*.

Atenciosamente,



Afrânio Augusto Guimarães
zootecnista – Minhobox
CRMV MG0710z