

Ecotoxicidade da água residual de suinocultura usando minhocas *Eisenia andrei* como bioindicador

Ecotoxicity of swine wastewater using the earthworms *Eisenia andrei* as bioindicator

Gustavo G. Paniago^{1,*}, Sílvio C. Sampaio², Danielle M. Rosa², Dinéia Tessaro³, Pâmela A. Maldaner⁴, Kathleen J. Model², Marcus M. Corrêa⁵ e Marcelo B. Remor⁶

¹ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, CEP 85819-110, Cascavel-PR, Brasil;

² Departamento de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, CEP 85819-110, Cascavel-PR, Brasil;

³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, CEP 85660-000, Dois Vizinhos-PR, Brasil.

⁴ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, CEP 85819-110, Cascavel-PR, Brasil;

⁵ Departamento de Tecnologia Rural, Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52171900, Recife-PE, Brasil;

⁶ Departamento de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, CEP 85819-110, Cascavel-PR, Brasil.

(*E-mail: gpaniago2002@gmail.com)

<http://dx.doi.org/10.19084/RCA15067>

Recebido/Received: 2015.05.29

Aceite/Accepted: 2015.12.14

RESUMO

Os resíduos gerados em suinoculturas possuem alto potencial poluidor, porém, devido à grande carga orgânica, apresenta-se como boa opção na fertilização de solos agrícolas. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos ambientais decorrentes do uso de águas residuais de suinocultura em diferentes solos usando como bioindicador minhocas da espécie *Eisenia andrei*, por meio dos parâmetros de letalidade, fuga e reprodução. Estudou-se a aplicação de água residual 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 e Solo Artificial Tropical. Os resíduos estudados não provocaram qualquer letalidade nem fuga. Nos testes de reprodução, na maioria dos experimentos as parcelas com tratamentos obtiveram valores médios de juvenis eclodidos acima das parcelas controle. A aplicação de água residual de esterqueira e biodigestor até a dose de 300 m³ ha⁻¹ não afeta negativamente as populações de minhocas nos três solos analisados.

Palavras-Chave: efluente, *Eisenia andrei*, latossolo, nitossolo.

ABSTRACT

The waste generated by pig farmings has high toxic potential, however, its high organic load, makes them a good product for fertilization of agricultural soils. 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, avoidance and reproduction. 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 different soils (Oxisol, Kandiodox and Artificial Tropical Soil). The studied wastes did not cause any lethality or escape. The reproduction test showed, in most of the experiments that the plots with treated soil had an average number of hatched juveniles above those of control plots. The application of biodigester wastewater and manure storage tanks wastewater up to the dose of 300 m³ ha⁻¹ does not negatively affect earthworm populations in the three soils analyzed.

Keywords: effluent, *Eisenia andrei*, kandiodox, oxisol.

INTRODUÇÃO

A Ecotoxicologia faz uso de uma variedade de organismos, terrestres e aquáticos, como plantas, animais e microrganismos, sendo estes denominados bioindicadores. Na Ecotoxicologia terrestre, ramo da Ecotoxicologia que se ocupa de estudos ecotoxicológicos no ambiente edáfico, muitas vezes são usados como animais bioindicadores as minhocas, colêmbolos e enquitreídeos.

As minhocas são animais quase sempre presentes nos solos e devido ao seu modo de alimentação detritívoro e sua pele fina e úmida estão sempre em contato com os materiais presentes nestes, o que as torna organismos adequados para testes ecotoxicológicos (Andréa, 2010). Além do fato de serem seres de fácil criação e reprodução em laboratório (ISO, 2008). Assim, em virtude destas características qualquer substância tóxica presente no solo poderá afetar de algum modo as populações de minhocas (Andréa, 2010).

As espécies *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* são representantes deste grupo de organismos e são usadas internacionalmente como espécies bioindicadoras em diversos tipos de ensaios ecotoxicológicos do solo (ISO, 2003), tais como os protocolos padronizados pela ISO (*International Organization for Standardization*), ISO 17512-1 (ISO, 2008), e OECD (*Organisation for Economic Co-Operation and Development*), OECD nº 207 (OECD, 1984) e OECD nº 222 (OECD, 2004).

Eisenia andrei e *Eisenia fetida* têm sido usadas como bioindicadoras ambientais em solos contaminados por poluentes orgânicos persistentes (POP) como fungicidas (García-Santos e Keller-Forrer, 2011), inseticidas (Stepić *et al.*, 2013), herbicidas (Zhou *et al.*, 2013) e também por poluentes inorgânicos como metais pesados (Li *et al.*, 2010), tais como cobre (Li *et al.*, 2010; Santorufo *et al.*, 2012) e zinco (Li *et al.*, 2010; Natal-Da-Luz *et al.*, 2011; Santorufo *et al.*, 2012), sendo ambos vulgarmente encontrados em águas residuais de suinoculturas devido à adição destes metais à alimentação dos suínos a fim de auxiliar numa maior conversão alimentar (Marcato e Lima, 2005). Em outros tipos de contaminação orgânica as minhocas também são usadas como bioindicadores ambientais, como o uso de resíduos orgânicos na agricultura oriundos do meio urbano (Kinney, 2012), da indústria (Natal-Da-Luz *et al.*,

2011; Singh, 2011), resíduos animais de ovinos (Coulibaly e Zoro Bi, 2010), bovinos (Coulibaly e Zoro Bi, 2010), suínos (Coulibaly e Zoro Bi, 2010; Luth *et al.*, 2011; Segat, 2012) e resíduos vegetais como papel, celulose e poda de árvore (Suszek *et al.*, 2005).

Os trabalhos citados anteriormente não abordam especificamente o uso de minhocas como bioindicadores ambientais quando é utilizada a água residual da suinocultura na agricultura, exceção feita ao trabalho de Segat (2012). Porém, este trabalho aborda apenas o efluente bruto e a faixa de estudo limita-se à dose de 100 m³ ha⁻¹ nos solos classificados como Argissolo Vermelho Eutrófico, Latossolo Vermelho Distrófico, Neossolo Quartzarênico e Solo Artificial Tropical. O trabalho aqui proposto complementa o estudo de Segat (2012) ampliando a faixa de 0 a 300 m³ ha⁻¹, em solos característicos da região oeste do Paraná (Nitossolo e Latossolo) e duas qualidades de água residual da suinocultura, bruta (esterqueira) e tratada (biodigestor).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos ambientais decorrentes do uso de águas residuais da suinocultura em diferentes solos tendo como bioindicador a minhoca *Eisenia andrei*, por meio dos parâmetros de letalidade, fuga e reprodução.

MATERIAL E MÉTODOS

Os tratamentos incluíram os solos Latossolo Vermelho distroférico típico (EMBRAPA, 2006), Nitossolo Vermelho eutrófico (EMBRAPA, 2006) e Solo Artificial Tropical (Garcia, 2004), dois tipos de água residual de suinocultura (ARS) (esterqueira e biodigestor), e quatro doses 0, 100, 200 e 300 m³ ha⁻¹ (Quadro 1).

A espécie de minhoca utilizada como bioindicador ambiental nos solos contaminados por ARS foi *Eisenia andrei*.

Os solos naturais foram coletados em áreas agrícolas na camada superficial de 0-20 cm, coletando-se o Latossolo em Cascavel (24° 53' 59.22" S e 53° 32' 1.57" W) e o Nitossolo em Toledo (24° 43' 13.59" S e 53° 46' 26.05" W), ambos municípios localizados no Estado do Paraná, Brasil. Todos os solos foram secos à sombra e em temperatura ambiente visando preservar, tanto quanto possível, as características originais.

Quadro 1 - Descrição dos experimentos realizados e composição dos tratamentos

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

Tipos de solos: Latossolo Vermelho distroférrico típico (LAT); Nitossolo Vermelho eutroférrico (NIT); Solo Artificial Tropical (SAT) composto conforme Garcia (2004).

Após tamisação, utilizando malha de 2 mm, determinou-se a capacidade máxima de retenção hídrica de cada solo utilizando-se metodologia proposta por Luchese *et al.* (2002). Deste modo, a umidade do solo foi mantida nos níveis de 40 a 50% da capacidade máxima de retenção hídrica durante o período de execução dos ensaios ecotoxicológicos (ISO, 2003).

A fim de desfaunar convenientemente o solo, as

amostras de solo foram congeladas por um período de 48 horas e mantidas por mais 48 horas em temperatura ambiente, repetindo-se este processo de congelamento e descongelamento três vezes, durante 12 dias antes do início dos ensaios de laboratório (Pesaro *et al.*, 2003).

As minhocas utilizadas nos ensaios de laboratório foram obtidas de fornecedor comercial especializado em minhocas para vermicultura.

A criação das minhocas foi realizada em caixas plásticas de 28 L, adicionando como substrato de criação uma mistura constituída de duas partes de esterco equino curtido, seco e peneirado (2 mm), uma parte de pó de fibra de coco e 10% do peso dos dois primeiros de areia fina (50-200 µm).

O substrato desfaunado foi adicionado às caixas de criação, onde se adicionou água destilada. Posteriormente, fez-se homogeneização da umidade no substrato, até atingir consistência semelhante ao húmus. As minhocas foram alimentadas semanalmente com mistura de aveia em flocos finos e água deionizada na proporção 2:1. O ambiente de criação das minhocas foi mantido em temperatura controlada de 20 + 2 °C com fotoperíodo de 12:12h, luz:escuro.

A ARS utilizada nos experimentos foi coletada em esterqueira (bruta) e na saída de biodigestor numa propriedade rural localizada em Toledo-PR (24° 40' 57,5" S e 53° 49' 26,8" W), a qual visa a produção de leitões e utiliza sistema biointegrado de tratamento de resíduos.

A ARS utilizada nos experimentos não foi a mesma em função de épocas diferentes em que se realizaram os testes de letalidade, fuga e reprodução nos seis experimentos (Quadro 2).

Os testes de letalidade, fuga e reprodução foram executados seguindo os protocolos: OECD nº 207 (OECD, 1984), ISO 17512-1 (ISO, 2008) e OECD nº 222 (OECD, 2004), respectivamente. Os experimentos foram realizados à temperatura de 20 + 2°C e iluminação constante. Dez minhocas adultas cliteladas com peso entre 250 e 600 mg foram lavadas, secas e pesadas previamente à inserção nos solos teste. Também foram aclimatizadas nos respectivos solos usados nos tratamentos por um período de 24 horas.

No teste de letalidade foram utilizados recipientes circulares de 1 L aos quais foram adicionados 650 g de solo seco acrescido dos tratamentos, ajustando-se a umidade a 40% da capacidade máxima de retenção hídrica do solo. Semanalmente foi realizada correção da umidade com água destilada. Neste teste, não houve alimentação dos animais. A avaliação de letalidade foi através da diferença entre o número de indivíduos inseridos no início do teste e o número de indivíduos retirados vivos ao final de 14 dias.

No teste de fuga utilizaram-se recipientes retangulares de 1 L, divididos em duas seções por meio de divisória plástica inserida verticalmente. As seções receberam 500 g de solo seco. Uma seção recebeu somente solo umedecido com água destilada (seção controle) e a outra recebeu solo umedecido com ARS nas devidas concentrações dos tratamentos (0, 100, 200 e 300 mg). Nos tratamentos com dose 0 (parcela controle) foi inserida somente água destilada em ambas as seções. Depois de constituídas as seções retirou-se a divisória e, no sulco deixado por esta, inseriram-se as minhocas. Os experimentos duraram 48 horas e foram realizados à temperatura de 20 + 2 °C e ausência de luminosidade. Não houve alimentação. A avaliação de fuga foi feita por cálculo de percentagem de fuga, de acordo com equação 1, a seguir:

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

em que,

F- percentagem de fuga;

C- número de indivíduos encontrados no lado controle;

T- número de indivíduos encontrados no lado tratado;

N- número total de indivíduos encontrados em ambos os lados da caixa (C+T).

No teste de reprodução utilizaram-se recipientes circulares de 1 L aos quais foram adicionados 650 g de solo seco acrescido dos tratamentos, ajustando-se a umidade a 50% da capacidade máxima de retenção hídrica. Os experimentos foram realizados à temperatura de 20 + 2 °C e com fotoperíodo de 12:12 h, luz:escuro.

Semanalmente foi realizada correção da umidade e alimentação com três gramas de aveia para cada parcela experimental. As minhocas adultas cliteladas foram adicionadas com quatro meses de idade. Após 28 dias de permanência nos solos as minhocas foram retiradas, permanecendo apenas os casulos. A avaliação da taxa de reprodução foi feita por contagem do número de juvenis eclodidos aos 56 dias de teste.

A taxa de mortalidade das minhocas adultas

Quadro 2 - Caracterização físico-química das águas residuais de suinocultura utilizadas nos 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

Procedimentos de análises de MAPA (2007);

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

nos testes de letalidade não deve exceder 10% do total de indivíduos nas parcelas experimentais tidas como controlo ou testemunha (ARS = 0 m³ ha⁻¹) (OECD, 1984). O mesmo critério é válido para o teste de fuga (ISO, 2008) e de reprodução (OECD, 2004) nas parcelas experimentais controlo. Também no teste de reprodução o número de juvenis nas parcelas de controlo deve ser maior que 30, e o coeficiente de variação (CV) dos testes menores que 30% (OECD, 2004). E no teste de fuga a distribuição dos organismos nas parcelas de controlo deve estar entre 40 a 60%, comprovando ausência de preferência significativa por um dos lados do recipiente do teste (ISO, 2008).

Seis experimentos foram realizados, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado

(DIC), em esquema fatorial 4 x 3 x 2 (quatro doses, três solos e dois tipos de água residual de suinocultura), com três repetições nos testes de letalidade e de fuga, e cinco repetições no teste de reprodução. Os dados obtidos nos testes de letalidade e reprodução foram submetidos ao teste de normalidade (Teste de Shapiro-Wilk para $p>0,05$) e homogeneidade de variância (Teste de Levene para $p>0,05$). Posteriormente, aplicou-se a Análise de Variância Unifatorial (ANOVA one-way) seguida do teste post-hoc de Dunnett. Os dados do teste de fuga foram submetidos ao Teste Exato de Fisher, comparando-se o tratamento controlo com os demais tratamentos, par a par. Matrizes de correlação de Pearson associadas ao teste de associação entre amostras pareadas foram utilizadas para avaliar as influências significativas

das características químicas (P, S, Mn, Cu, Fe, Zn, N (total), NH_4 , $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ e K), inerentes aos tipos de solo e níveis e tipos de ARS nos testes de letalidade, fuga e reprodução. Apenas os resultados estatisticamente significativos serão apresentados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de letalidade não demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos na análise de variância e na correlação de Pearson. Ocorreu, em todo o teste, apenas a morte de um indivíduo, aos 14 dias, no tratamento NIT/BIO/200. A sensibilidade inerente ao teste foi baixa devido ao curto período do teste e da baixa toxicidade da ARS. Observou-se nos seis experimentos que a ARS, mesmo na maior concentração ($300 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$), não apresentou letalidade às minhocas em nenhum dos três solos testados. Este resultado isolado, porém, pode não refletir com exatidão a toxicidade de determinada substância. O teste de letalidade, por ser ferramenta de análise inicial em estudos ecotoxicológicos, carece de complementação por meio de testes sub-letais, como de fuga e de

reprodução (De Silva e Van Gestel, 2009; Segat, 2012 e Dores-Silva *et al.*, 2013).

O critério de validade do teste de fuga foi alcançado (ISO, 2008). O teste não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos dentro dos experimentos realizados (p-valores entre 0,35 e 1) quando submetidos ao Teste Exato de Fisher. Os resultados indicam, portanto, que não houve fuga, ou atração das minhocas, nos solos contaminados pela ARS. Também a ausência de fuga das minhocas é devido à espécie *Eisenia andrei* ser epigéica e possuir preferência por solos com alta quantidade de matéria orgânica (De Silva e Van Gestel, 2009). A correlação de Pearson realizada entre os parâmetros de fuga e os parâmetros químicos (P, S, Mn, Cu, Fe, Zn, N (total), NH_4 , $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ e K) do solo e da ARS não foi significativa. Corroborando, portanto, com os resultados do teste de fuga que foram não significativos.

O teste de reprodução foi considerado válido, pois não houve nenhuma morte e o número de juvenis eclodidos foi maior que 30 nas parcelas controle (OECD, 2004). O critério quanto ao coeficiente de variação foi alcançado, excessão ensaios

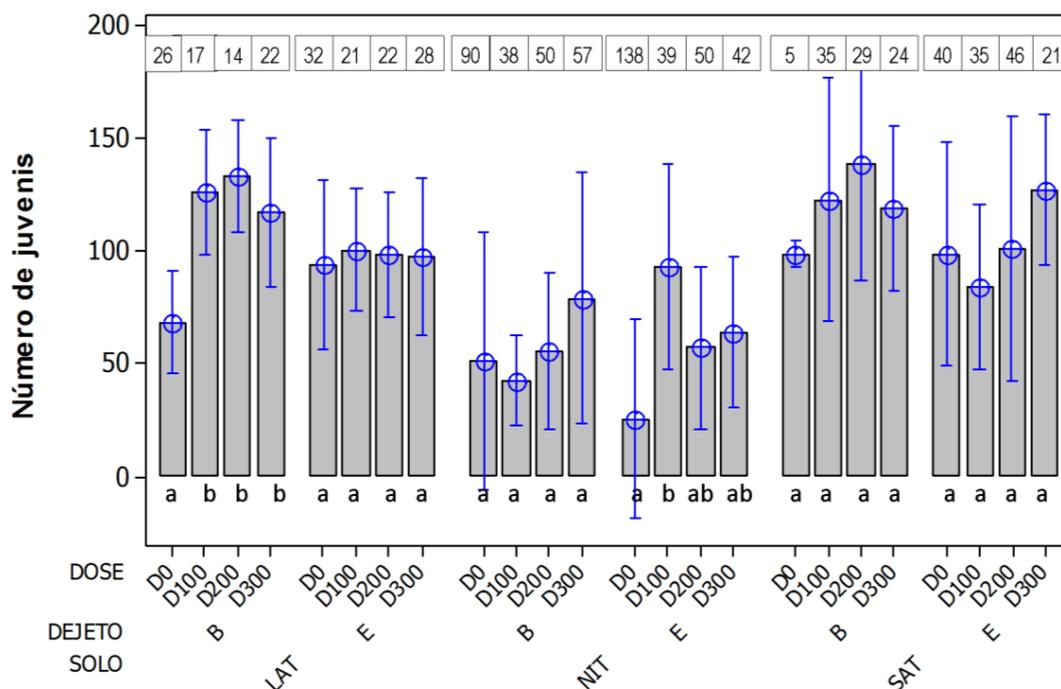


Figura 1 - Número de juvenis de *Eisenia andrei* (méd. ± SD) após 56 dias de teste de reprodução em dois solos naturais (Latosolo Vermelho distroférrico típico, LAT; Nitossolo Vermelho eutroférrico, NIT) e em um solo artificial tropical (SAT), na presença de concentrações crescentes de água residuária de suinocultura de biodigestor (B) e esterqueira (E). Os valores acima das barras são referentes ao coeficiente de variação em % de cada tratamento; Asteriscos (*) indicam diferença significativa do número de juvenis, quando comparado ao respectivo controle (one-way ANOVA, Dunnett's pot-hoc test - $p \leq 0.05$). Letras minúsculas iguais na parte inferior das barras não diferem ao teste de Dunnett a 5% de significância para número de juvenis de *Eisenia andrei*.

Quadro 3 - Correlação de Pearson entre reprodução (número médio de juvenis) e fatores ambientais (parâmetros físico-químicos de ARS)

	Nº DE JUVENIS	P	S	Mn	Cu	Fe	Zn	N(total)	NH ₄	NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	K
Nº DE JUVENIS	1,00	0,23	0,33	0,17	0,34	0,28	0,32	0,29	0,32	<u>0,43*</u>	0,30

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

com Nitossolo, que apresentaram coeficientes de variação maiores do que 30% no tratamento controle (Figura 1). Sendo assim, este solo não foi considerado na discussão do teste de reprodução. Ocorreram apenas seis mortes de adultos nos seis experimentos. As ocorrências de mortes foram duas no tratamento LAT/EST/300, duas no tratamento NIT/BIO/300 e duas no tratamento NIT/EST/300. Todas ocorridas na dose de 300 m³ ha⁻¹. Este resultado indica possível efeito deletério ambiental desta dose, ou superior, em solos agrícolas onde existe contínua aplicação de ARS.

A ANOVA indicou resultados estatisticamente significativos somente no experimentos LAT/BIO (Figura 1).

O teste de Dunnett (Figura 1) evidencia que nos experimentos LAT/BIO os tratamentos com aplicação de ARS diferiram do tratamento controle.

Considerando-se as médias de cada tratamento (Figura 1), nos seis experimentos, observa-se que todos os tratamentos com ARS induziram taxa reprodutiva estatisticamente igual ou maior que os tratamentos controle. Este fato pode indicar que a aplicação de ARS confere vantagem reprodutiva para a espécie *Eisenia andrei*.

Na análise de Pearson (Quadro 3), entre o número de indivíduos juvenis e parâmetros químicos do solo e ARS, encontrou-se apenas uma correlação significativa e positiva com a quantidade de NO₃⁻ e NO₂⁻.

Considerando-se o conjunto dos três testes realizados percebe-se que a espécie de minhoca utilizada pode ser usada como bioindicador ambiental em áreas em que existe a aplicação de ARS como fertilizante orgânico de solo agrícola. Neste sentido, em curto prazo, o uso de ARS em áreas agrícolas pode ser realizado até o limite de 300 m³ ha⁻¹ em Latossolo Vermelho distroférrico, independentemente do resíduo ser usado bruto (esterqueira) ou tratado (biodigestor), não tendo ocorrido diferença significativa entre os efeitos observados nos ensaios de ambos os resíduos.

CONCLUSÃO

Considerando as minhocas como bioindicadoras ambientais, pode-se concluir que a água residual da suinocultura, de esterqueira ou de biodigestor, não induz um impacto ambiental negativo sobre as minhocas em doses até 300 m³ ha⁻¹.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES e ao Departamento de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Campus Cascavel).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andréa, M.M. de (2010) - O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. *Acta Zoológica Mexicana*, vol. 26, s. 2, p. 95–107.
- Coulibaly, S.S. e Zoro Bi, I.A. (2010) - Influence of animal wastes on growth and reproduction of the african earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). *European Journal of Soil Biology*, vol. 46, n. 3-4, p. 225–229. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.03.004>
- De Silva, P.M.C.S. e Van Gestel, C.A.M. (2009) - Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. *Chemosphere*, vol. 77, n. 11, p. 1609–1613. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.034>

- Dores-Silva, P.R.; Landgraf, M.D. e Rezende, M.O.O. (2013) - Bioensaios para avaliação da toxicidade aguda, reprodução e ganho de biomassa de minhocas (*Eisenia fetida*) ambientadas em lodo de esgoto doméstico. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, vol. 8, n. 1, p. 143–146.
- EMBRAPA. (2006) - *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 2ª ed. Rio de Janeiro, Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, Embrapa Solos, 306 p.
- Garcia, M.V. (2004) - *Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicological test methods for tropical regions*. Ecology and Development Series No. 19. Germany, University of Bonn, 281 p.
- García-Santos, G. e Keller-Forrer, K. (2011) - Avoidance behaviour of *Eisenia fetida* to carbofuran, chlorpyrifos, mancozeb and metamidophos in natural soils from the highlands of Colombia. *Chemosphere*, vol. 84, n. 5, p. 651–656. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.036>
- ISO. (2003) - *ISO 15799: Soil quality --Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials*. Genève, International Organization for Standardization, 33p.
- ISO. (2008) - *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, International Organization for Standardization, 25p.
- Kinney, C.A.; Campbell, B.R.; Thompson, R.; Furlong, E.T.; Kolpin, D.W.; Burkhardt, M.R.; Zaugg, S.D.; Werner, S.L. e Hay, A.G. (2012) - Earthworm bioassays and seedling emergence for monitoring toxicity, aging and bioaccumulation of anthropogenic waste indicator compounds in biosolids-amended soil. *The Science of the Total Environment*, vol. 433, p. 507–515. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.097>
- Li, L.; Xu, Z.; Wu, J. e Tian, G. (2010) - Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresource Technology*, vol. 101, n. 10, p. 3430–3436. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.085>
- Luchese, E.B.; Favero, L.O.B. e Lenzi, E. (2002) - *Fundamentos da química do solo: Teoria e prática*. 2ª ed. Rio de Janeiro, Freitas Bastos Editora, 159 p.
- Luth, P.R.; Germain, P.; Lecomte, M.; Landrain, B.; Li, Y. e Cluzeau, D. (2011) - Earthworm effects on gaseous emissions during vermifiltration of pig fresh slurry. *Bioresource Technology*, vol. 102, n. 4, p. 3679–3686. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.027>
- MAPA. (2007) - *Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes Minerais, Orgânicos, Organominerais e Corretivos*. Brasília, Ministério da Agricultura e Abastecimento, 141 p.
- Marcato, S.M. e Lima, G.J.M.M. (2005) - Efeito da restrição alimentar como redutor do poder poluente dos dejetos suínos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 34, n. 3, p. 855-863. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982005000300017>
- Natal-Da-Luz, T; Ojeda, G; Pratas, J; Van Gestel, C.A.M. e Sousa, J. P. (2011) - Toxicity to *Eisenia andrei* and *Folsomia candida* of a metal mixture applied to soil directly or via an organic matrix. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 74, n. 6, p. 1715–1720. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.05.017>
- OECD. (1984) - *OECD 207 – Earthworm, acute toxicity tests (Guideline for testing of chemicals, 207)*. Paris, Organisation for Economic Co-Operation and Development, 9 p.
- OECD. (2004) - *OECD 222 - Earthworm reproduction test (Eisenia fetida/Eisenia andrei) (Guideline for the testing of chemicals, 222)*. Paris, Organisation for Economic Co-Operation and Development, 18 p.
- Pesaro, M.; Widmer, F.; Nicollier, G. e Zeyer, J. (2003) - Effects of freeze – thaw stress during soil storage on microbial communities and methidathion degradation. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 35, n. 8, p. 1049–1061. [http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00147-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00147-0)
- Santorufu, L.; Van Gestel, C.A.M. e Maisto, G. (2012) - Ecotoxicological assessment of metal-polluted urban soils using bioassays with three soil invertebrates. *Chemosphere*, vol. 88, n. 4, p. 418–425. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.057>
- Segat, J.C. (2012) - *Avaliação ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina*. Dissertação de Mestrado. Piracicaba, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”. 129 p.

- Singh, R.P.; Embrandiri, A.; Ibrahim, M.H. e Esa, N. (2011) - Management of biomass residues generated from palm oil mill: Vermicomposting a sustainable option. *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 55, n. 4, p. 423–434. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2010.11.005>
- Stepić, S.; Hackenberger, B.K.; Velki, M. ; Lončarić, Z. e Hackenberger, D.K. (2013) - Effects of individual and binary-combined commercial insecticides endosulfan, temephos, malathion and pirimiphos-methyl on biomarker responses in earthworm *Eisenia andrei*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 36, n. 2, p. 715–723. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2013.06.011>
- Suszek, M.; Sampaio, S.C.; Santos, R.F.; Nunes, O.L.G.S.; Gomes, S.D. e Mallmann, L.S. (2005) - Uso de Água Residuária da Suinocultura na Bioestabilização de Resíduos Verdes Urbanos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 9, Suplemento, p. 176–180.
- Tessaro, D.; Sampaio, S.C.; Alves, L.F.A.; Dieter, J.; Cordovil, C.M.D.S.; Varennes, A. e Pansera, W.A. (2013) - Macrofauna of soil treated with swine wastewater combined with chemical fertilization. *African Journal of Agricultural Research*, vol. 8, n. 1, p. 86–92. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR12.1829>
- Zhou, C.; Wang, Y.; Li, C.; Sun, R.; Yu, Y. e Zhou, D. (2013) - Subacute toxicity of copper and glyphosate and their interaction to earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental Pollution*, vol. 180, p. 71–77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2013.05.016>