

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

**ORLANDO ASSIS**

**ENQUITREÍDEOS (ENCHYTRAEIDAE, OLIGOCHAETA) COMO  
INDICADORES DO MANEJO DO SOLO E EM ENSAIOS  
ECOTOXICOLÓGICOS**

**DISSERTAÇÃO**

**CURITIBA  
2016**

**ORLANDO ASSIS**

**ENQUITREÍDEOS (ENCHYTRAEIDAE, OLIGOCHAETA) COMO  
INDICADORES DO MANEJO DO SOLO E EM ENSAIOS  
ECOTOXICOLÓGICOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental, área de concentração: Tecnologias e Processos Ambientais.

Orientadora: Profa. Dra. Wanessa Ramsdorf

Coorientadores: Dra. Cintia Carla Niva e Dr. George Gardner Brown.

**CURITIBA**

**2016**

---

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**

---

A848e Assis, Orlando  
2016 Enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta) como indicadores do manejo do solo e em ensaios ecotoxicológicos / Orlando Assis.-- 2016.  
75 f.: il.; 30 cm

Texto em português, com resumo em inglês.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Curitiba, 2016.  
Bibliografia: p. 63-72.

1. Tecnologia ambiental - Dissertações. 2. Solo - Uso. 3. Toxicologia ambiental. 4. Indicadores biológicos. 5. Olericultura. 6. Oligochaeta. I.Ramsdorf, Wanessa Algarte. II.Niva, Cintia Carla. III.Brown, George Gardner. IV.Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. V. Título.

CDD: Ed. 22 -- 363.7

## TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 047

### ENQUITREÍDEOS (ENCHYTRAEIDAE, OLIGOCHAETA) COMO INDICADORES DO MANEJO DO SOLO E EM ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

Por

ORLANDO ASSIS

Dissertação apresentada às 13h30min do dia 27 de fevereiro de 2015, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, na área de concentração Tecnologias e Processos Ambientais, linha de pesquisa Controle e Monitoramento Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

#### Banca examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Wanessa Algarte Ramsdorf Nagata (Orientadora)  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

---

Prof. Dr. Klaus Dieter Sautter  
Programa de Pós-Graduação em Gestão Ambiental  
Universidade Positivo – UP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lucia Regina Rocha Martins  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Visto da Coordenação: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Fernando Hermes Passig

Coordenador do PPGCTA

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa”

*“Plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de ficar esperando que alguém lhe traga flores!”*

(William Shakespeare)

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Doutora Wanessa Ramsdorf por acreditar sempre em minha capacidade e por permitir sem preconceitos a divisão da orientação com outros pesquisadores com igual competência. Obrigado pelo otimismo e prestatividade.

À minha coorientadora Doutora Cintia Carla Niva, que foi um divisor de águas na minha recente vida de pesquisador, mostrando os caminhos na busca de melhor compreender os resultados alcançados, oportunizando a prática laboratorial na Embrapa Florestas e na Universidade Positivo. Obrigado pelo conhecimento proporcionado e pela amizade criada nesse período de trabalho.

Ao Doutor George Gardner Brown, por ter ajudado a lapidar meu interesse pela pesquisa com mesofauna de solo e pelas brilhantes dicas metodológicas em ecologia edáfica. Obrigado professor e amigo Brown.

Ao Doutor Klaus Dieter Sautter que contribuiu enormemente para a realização dos ensaios ecotoxicológicos cedendo o laboratório da Universidade Positivo e apoiando tecnicamente na condução dos mesmos.

Às professoras Lúcia e Adriane que juntamente com a professora Wanessa souberam tão bem conduzir a disciplina de Ecotoxicologia suscitando detalhes que corroboraram enormemente na condução dos meus estudos.

À equipe de trabalho da Embrapa Florestas em especial na pessoa da Anne que contribuiu muito nos procedimentos laboratoriais e no manejo de equipamentos.

Ao acadêmico e estagiário da Embrapa Florestas, o Rafael, incansável companheiro no campo e no laboratório, teria sido muito mais difícil sem seu apoio. Obrigado Rafael e desejo todo sucesso em sua vida de pesquisador!

À Doutora Marie Bartz pelo apoio e pela companhia nas coletas de campo e também pela ajuda na geração dos dados estatísticos.

Aos agricultores, Otília e Pedro Ziomek pela companhia e ajuda nas coletas de campo, bem como os agricultores José Kusdra, Adão e João Mazur e Miguel Ziomek pela permissão e uso de vossas áreas para levantamento de campo.

À EMATER-PR, que me concedeu a oportunidade de aprofundar e qualificar meus conhecimentos, permitindo minha participação no curso flexibilizando minha jornada de trabalho.

À minha família, que soube entender os momentos de minha ausência para dedicação aos trabalhos e atividades necessárias para a conclusão do curso, meu eterno obrigado!

## RESUMO

ASSIS, Orlando. **Enquiteídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta) como indicadores do manejo do solo e em ensaios ecotoxicológicos**. 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

A agricultura ocupa uma grande área do território brasileiro, interagindo com praticamente todos os grandes biomas. O manejo do solo, aliado ao uso de agrotóxicos e de fertilizantes, pode contribuir para o desequilíbrio da fauna edáfica, trazendo impactos que podem influenciar na harmonia do ecossistema do solo. O revolvimento do solo o expõe à radiação solar, que pode influenciar na abundância de espécies e os fertilizantes de base sintética desequilibram os níveis de nutrientes do solo, impactando na dinâmica dos organismos. Os agrotóxicos contaminam e causam mortalidade de diversos organismos. Na tentativa de melhor analisar esses impactos, foram escolhidos quatro diferentes sistemas de uso do solo: Olericultura Orgânica (OO), Olericultura Convencional (OC), Lavoura Convencional (LC) e uma região de fragmento de Floresta Nativa (FN), com repetições verdadeiras, na região metropolitana de Curitiba, no município de Quitandinha-PR, com os objetivos: avaliar o potencial dos enquiteídeos como bioindicadores em áreas de diferentes sistemas de uso do solo (SUS); identificar os fatores que influenciam a abundância e diversidade desses organismos nestes diferentes sistemas; avaliou-se o potencial reprodutivo destes organismos expondo-os em amostras de solos provenientes das áreas dos sistemas de uso do solo (SUS) estudados, em condições laboratoriais; foi também avaliado em ensaios laboratoriais com uso de solo artificial tropical (SAT) o impacto do glifosato na reprodução dos enquiteídeos sob concentrações baseadas nas recomendações do fabricante e das quantidades comumente utilizadas na região. Nossos resultados mostraram que houve diferença significativa na abundância entre FN e LC, e a riqueza de gêneros sofreu redução de seis para dois, respectivamente. Dentre os atributos do solo encontrados nas análises físico-químicas, as áreas de florestas (FN) apresentaram pH mais baixo, matéria orgânica e potássio mais altos que nos outros sistemas estudados, e menor quantidade de fósforo do que as áreas de plantio convencional (LC e OC). Os ensaios ecotoxicológicos em condições laboratoriais mostraram que o número de juvenis de *Enchytraeus* sp produzidos em solo das áreas estudadas foi maior em solo de FN do que LC, em concordância com os dados de abundância. Os ensaios ecotoxicológicos com glifosato em solo artificial tropical reduziu significativamente a reprodução, mesmo em concentrações no solo equivalentes a doses recomendadas, sugerindo que esse herbicida popular pode ser deletério aos enquiteídeos e, portanto, deve ser usado com cautela. Os resultados sugerem que a abundância e riqueza de enquiteídeos são bons indicadores do uso do solo na região estudada e que a espécie autóctone *Enchytraeus* sp respondeu satisfatoriamente em ensaios laboratoriais para avaliar a qualidade do solo.

**Palavras - chave:** Uso do solo. Ecotoxicologia. Bioindicador. Olerícola. Sistema orgânico. Sistema convencional. Oligochaeta.

## ABSTRACT

ASSIS, Orlando. **Enchytraeids (Enchytraeidae, Oligochaeta) as of soil management indicators and tests ecotoxicological**. 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Programa Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

Agriculture occupies a large area of the Brazilian territory, interacting with the major biomes. Soil management, the use of pesticides and fertilizers can contribute to the imbalance of the biota, the soil fauna, impacting the harmony of the whole soil ecosystem. The soil disturbance in plowing and disking exposes the soil fauna to the sun' radiation, which can be harmful to of species in this environment. Synthetic fertilizers can unbalance levels of soil nutrients, directly impacting the dynamics of organisms. The pesticides can be deleterious to the living organisms in the soil. This study aims to evaluate potential of the enchytraeids as soil management indicators in areas of horticulture and grain farming and to identify which factors influence the abundance and diversity of these worms in different land use systems (SUS); It also aims to assess the potential of the enchytraeids to respond to the natural soil quality of the areas of study and the toxicity of recommended doses of the most used pesticide (glyphosate) in laboratory tests; Four land use systems (SUS) in Quitandinha – PR were chosen for the present study: Organic Vegetable Crops (OO), Conventional Vegetable Crops (OC) and Conventional tillage (LC), Native Forest (FN) with true repetitions. The abundance of enchytraeids was statistically higher in FN than LC, while the richness of genera reduced from six to two, respectively. Among the soil attributes, forest areas had lower pH, organic matter, nitrogen and higher potassium than other SUS in the other SUS and lower amount of phosphorus than the areas of conventional tillage. In ecotoxicological tests under laboratory conditions the number of juveniles of *Enchytraeus* sp produced in soil of the areas studied for 21 days of incubation were higher in soils from FN than LC. in agreement to field abundance data. Ecotoxicological tests with glyphosate in concentrations based on doses used by the agricultures in the area studied showed that in artificial soil, even concentrations equivalent to recommended doses may reduce reproduction significantly, suggesting this popular herbicide may be harmful to enchytraeids and should be used with caution. The results suggest the abundance and richness of genera are good indicators of soil use systems in the area studied and that the autochthonous enchytraeid *Enchytraeus* sp responded well to laboratory tests to evaluate soil quality.

**Keywords:** Soil use. Ecotoxicology. Bioindicator. Vegetable growing. Organic system. Conventional system. Oligochaeta.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação da fauna edáfica baseada no tamanho corporal dos organismos.....	20
---	----

### CAPÍTULO I

Tabela 1 - Descrição dos insumos utilizados nos Sistemas de Produção por cultura na safra 2013/14.....	32
Tabela 2 – Apresentação das coordenadas geográficas das áreas estudadas.....	34
Tabela 3 - Valores da umidade e temperatura do solo na coleta das amostras.....	37
Tabela 4 - Atributos químicos e físicos do solo em diferentes sistemas de uso da terra nas profundidades 0 – 10 cm.....	38
Tabela 5 – Índices Ecológicos .....	41

### CAPÍTULO II

Tabela 1 – Ensaio de adaptação de enquitreídeos em solo das áreas estudadas.....	55
Tabela 2 – Valores resultantes do ensaio com ácido bórico na avaliação da reprodução de enquitreídeos expostos ao ácido bórico ( $H_3BO_3$ ).....	56
Tabela 3 – Valores resultantes do ensaio de reprodução de enquitreídeos expostos ao Roundup WG <sup>®</sup> em diferentes concentrações .....	57

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa da região metropolitana de Curitiba PR, com a localização do município de Quitandinha e seus limítrofes..... 15

Figura 2 – a) Enquitreídeos cultivados em SAT; b) enquitreídeo observado em microscópio; c) fixado e corado com solução alcoólica a 10% Rosa Bengala e d) em desenho esquemático..... 26

### CAPÍTULO I

Figura 1 – Mapa situando o município de Quitandinha na região metropolitana de Curitiba-PR, localizando as áreas de estudo ..... 29

Figura 2 – Delineamento amostral..... 34

Figura 3 – (a) Extrator Quente e Úmido; (b) Enquitreídeos acondicionados em placas de Petri para a contagem (aumento de 10X).....35

Figura 4 – Abundância média de enquitreídeos ( $\pm$  desvio padrão) em cada sistema de uso do solo. Diferenças estatísticas entre os sistemas de uso do solo estão representadas por letras diferentes (Análise de Variância não paramétrica Kruskal-Wallis, Dunnet;  $p=0,05$ )..... 39

Figura 5 – Representação da diversidade de enquitreídeos na distribuição dos gêneros encontrados nos sistemas de uso do solo..... 40

Figura 6 - Análise de Componentes Principais mostrando os diferentes SUS correlacionados à abundância e diversidade de gêneros de enquitreídeos (média das duas áreas de cada sistema de uso do solo, coletadas no verão de 2014) com os sistemas de uso do solo (letras maiúsculas) e os gêneros, índices ecológicos (Riqueza, Abundância,  $H'$  (Diversidade de Shannon) e  $J$  (Índice de Pielou) (letras maiúsculas em itálico). O eixo 1 explicou 39,0 % e eixo 2, 25,6% da variabilidade dos dados..... 41

Figura 7 - Análise de Redundância mostrando a correlação das variáveis ambientais (K, P, Ca e temperatura) com os gêneros de enquitreídeos. Estas correlações foram significativas ( $p < 0,001$ ) através do teste de permutações de Monte Carlo. O eixo 1 explicou 57,6 % e eixo 2, 24,5% da variabilidade dos dados .....42

### CAPÍTULO II

Figura 1 – Solo Artificial Tropical e seus constituintes. (1) Areia fina, (2) caulim, (3) fibra de coco triturada e (4) SAT pronto..... 50

Figura 2 – Cultivo desenvolvido em Agar e em Solo Artificial Tropical (SAT). Cultivo em Agar - Agar a 0,8 % (A) e em Solo artificial tropical (B).....	51
Figura 3 - Ensaio de reprodução de enquitreídeos com a espécie <i>Enchytraeus sp.</i> usando o Ácido Bórico como substância de referência. Diferenças estatisticamente significativas representadas pelo asterisco entre as concentrações pelo método não paramétrico Kruskal-Wallis, teste de Dunnet, $p= 0,05$ .....	54
Figura 4 – Diferenças entre os SUS na reprodução de enquitreídeos, letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas com a metodologia não paramétrica Kruskal-Wallis, teste de Dunnet $p=0,05$ .....	55
Figura 5 – Efeitos de diferentes concentrações de Roundup® WG (79,25% m/m de Sal de Amônio Glifosato) sobre a reprodução de enquitreídeos.....	56

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
3.1 Histórico agrícola da área de estudo .....	15
3.2 O uso de substâncias químicas e a contaminação dos solos .....	18
3.3 O solo e a biota .....	19
3.4 O uso de indicadores de qualidade de solo .....	22
3.5 O uso de bioindicadores de qualidade de solo .....	23
3.6 Ensaio ecotoxicológicos .....	24
3.6.1 Enquitreídeos .....	25
<b>CAPÍTULO I - ENQUITREÍDEOS (OLIGOCHAETA, ENCHYTRAEIDAE) EM DIFERENTES SISTEMAS DE USO DO SOLO EM QUITANDINHA –PR .....</b>	<b>28</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
2.1 Caracterização das Áreas de Estudo .....	31
2.2 Amostragem de enquitreídeos .....	33
2.3 Extração, contagem e identificação dos enquitreídeos .....	35
2.4 Análises Físico-Químicas do Solo .....	36
2.5 Tratamento dos dados .....	36
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
3.1. Análises Físico-Químicas do Solo .....	37
3.2 Riqueza e abundância de enquitreídeos .....	39
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>45</b>
<b>CAPÍTULO II - EFEITO DO SOLO DE ÁREAS CULTIVADAS E DO HERBICIDA ROUNDUP WG SOBRE A REPRODUÇÃO DE UMA ESPÉCIE AUTÓCTONE DE ENQUITREÍDEO .....</b>	<b>46</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>49</b>
2.1 Ensaio com solo natural .....	49
2.2 Substância de Referência .....	49
2.3 Solo Artificial Tropical (SAT).....	50
2.4 Cultivo dos organismos teste .....	51

2.5 Ensaio Ecotoxicológicos .....	51
2.6 Tratamento dos dados .....	53
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
3.1 Ensaio com solo natural .....	54
3.2 Ensaio com a substância de referência.....	55
3.3 Ensaio com glifosato (Roudup) .....	56
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
4.1 Ensaio com solo natural.....	57
4.2 Ensaio com ácido bórico .....	58
4.3 Ensaio com glifosato.....	59
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A importância do solo para a vida ultrapassa a produção de alimentos, influenciando na regulação do clima controlando os fluxos de gases de efeito estufa e sequestro de carbono; controle de enchentes, defesa de plantas contra pragas, decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, enfim, uma infinidade de contribuições ao equilíbrio do planeta. Nas últimas projeções, em relação à biodiversidade do planeta, estima-se que 23% das espécies vivam no solo (LAVELLE, 2006).

No Brasil, a chamada Revolução Verde nas décadas de 60 e 70 deflagrou a modernização da agricultura, mudando o padrão rural e a produção agrícola na maioria das regiões do país (BUAINAIN *et al.*, 2014), fato esse que contribuiu para o desenvolvimento do país, alimentando-o e gerando emprego e renda.

A introdução de máquinas permitiu a ampliação das áreas cultivadas e dos insumos, como corretivos e fertilizantes, que aumentaram consideravelmente a produtividade, tornando o setor agropecuário, em 2014, um segmento muito importante da economia nacional.

É inegável a importância da agricultura brasileira no cenário mundial, sendo uma das grandes potências no agronegócio, por outro lado, é importante a conscientização do impacto que ela causa no meio ambiente (KHATOUNIAN, 2001). Esse contrassenso entre a produção de alimentos e a contaminação do meio ambiente tem exigido da ciência a busca incessante de técnicas e estratégias que minimizem esse impacto, com objetivos de conservar o meio ambiente melhorando as condições de produção e da qualidade dos alimentos (LONDRES, 2011).

A linha entre os benefícios e prejuízos do uso de tecnologias de base química ou sintética é muito tênue, sobretudo na agricultura, pois é um ambiente que interage diretamente com elementos importantes do ecossistema, entre eles o solo, o ar e a água (PINHEIRO *et al.*, 1998; CARSON, 1969). Desta forma, há que se protegerem as funções das comunidades e dos ecossistemas, levando em consideração as inter-relações nos diferentes níveis tróficos das espécies (USEPA, 1997).

No cenário agrícola internacional, onde o Brasil é o terceiro maior exportador mundial de produtos agrícolas, sobretudo soja, o Paraná se destaca como um dos

estados que mais contribui neste setor, sendo o segundo maior produtor de soja, segundo em milho, primeiro em feijão, terceiro em batata inglesa e quinto em cebola, entre outros (PARANÁ, 2012). Quitandinha, localizado na região metropolitana de Curitiba, é um município essencialmente agrícola e que desenvolve o cultivo dos principais produtos agrícolas comuns no estado, com crescentes áreas de cultivos de hortaliças (olericultura).

O Sistema de Uso do Solo (SUS) comumente utilizado pelos agricultores de Quitandinha é o Sistema Convencional onde é utilizado fertilizante químico, agrotóxico e intenso revolvimento de solo, o que contribui para alterações estruturais na física, química e na biologia do solo.

Dentre os muitos organismos da fauna do solo, dividida em macro, meso e microfauna, além dos vegetais, bactérias e fungos, existem espécies conhecidas como bioindicadores. Bioindicadores são organismos que indicam de forma precoce a presença de alterações ambientais, sendo que esses indicadores podem identificar diversos tipos de modificações, antes que se agravem, além de determinar qual tipo de poluição pode afetar determinado ecossistema (LOUZADA & ZANETTI, 2013).

Esses organismos são capazes de auxiliar no monitoramento e na tomada de decisões para direcionar o manejo do solo de forma mais correta e menos impactante. Para convencionar esse trabalho existem espécies padronizadas como bioindicadores no mundo todo, como os colêmbolas, minhocas, tatuzinhos de jardim e enquitreídeos, por exemplo.

Enquitreídeos são bioindicadores de qualidade de solo mundialmente usados para mensurar e entender efeitos deletérios atribuídos a esse ecossistema; possuem ótimo desempenho tanto em condições de laboratório como no campo (DIDDEN & RÖMBKE, 2001). Assim, esses organismos podem e devem ser mais utilizados em análises pormenorizadas na busca de se entender os efeitos negativos à fauna edáfica nos solos brasileiros.

O propósito deste trabalho é de avaliar diferentes Sistemas de Uso do Solo (SUS) usando enquitreídeos como bioindicador, comparando sua abundância e diversidade entre os Sistemas de Uso do Solo (SUS) avaliados. Num segundo momento, testou-se o agrotóxico mais aplicado entre as áreas de produção com sistema convencional do estudo, o glifosato, desenvolvendo ensaios ecotoxicológicos em laboratório, bem como teste de adaptação de enquitreídeos do

gênero *Enchytraeus*, comum nesta região, em solos das áreas de estudo em ensaios laboratoriais.

Com isso foi possível analisar os impactos desenvolvidos ao solo dos diferentes sistemas de produção, e identificar quais práticas são mais impactantes, podendo oferecer uma oportunidade de repensar a tecnologia empregada e introduzir novas práticas melhorando a eficácia da produção agrícola.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o potencial dos enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta) como bioindicadores da qualidade do solo em áreas cultivadas e seu potencial como organismo teste em bioensaios laboratoriais.

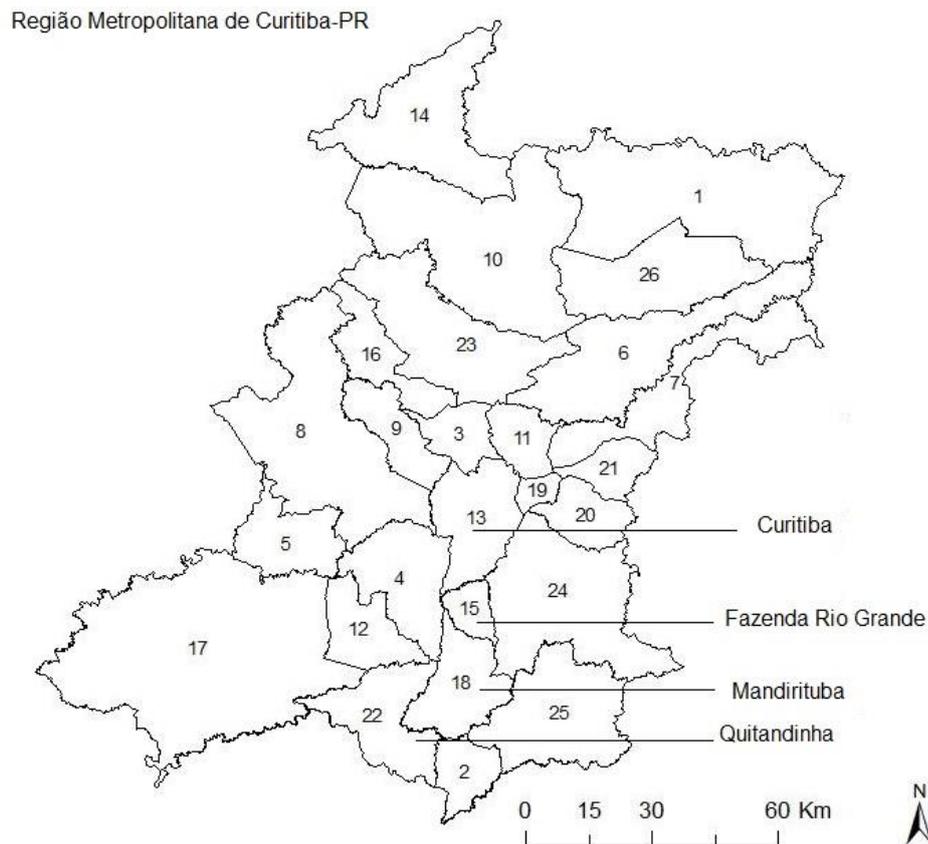
### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar o potencial da abundância e diversidade de enquitreídeos em distinguir sistemas de uso do solo (SUS) orgânico, convencional e natural no município de Quitandinha-PR e relacionar com os fatores físicos e químicos do solo;
- Determinar o efeito do solo natural dos diferentes Sistemas de Uso do Solo (SUS) das áreas de estudo sobre a reprodução de uma espécie de enquitreídeo em ensaio ecotoxicológico em laboratório;
- Avaliar possível efeito negativo do agrotóxico mais utilizado na área de estudo (Glifosato) sobre a reprodução de enquitreídeos em ensaio ecotoxicológico em laboratório.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Histórico agrícola da área de estudo

A região metropolitana de Curitiba, capital do Paraná, é composta por vinte e seis municípios, onde ainda na sua grande maioria se desenvolve a atividade agrícola como a principal fonte de geração de emprego e renda. Quitandinha está localizada na região Sul (Figura 1), com uma área total de 44.700 ha, onde as áreas cultivadas com feijão, milho, soja, trigo e hortaliças diversas perfazem em torno de 20.000 ha.



**Figura 1 – Mapa da região metropolitana de Curitiba PR, com a localização do município de Quitandinha e seus limitrofes.**  
Fonte: EMATER-PR.

O tipo de solo é o Argissolo (Amarelos e Vermelho Amarelos), de estrutura arenosa, com níveis de argila de 20 a 30% em média. O relevo é levemente

ondulado, com uma declividade média de 18-22% e altitude média de 820 m (EMATER-PR, 2013).

O relevo, tipo de solo e o sistema de produção adotados no município favorecem os processos de degradação ambiental, como erosão, assoreamento e contaminação, impactando na água, no ar e no solo, devido ao revolvimento e ao uso de insumos como fertilizantes, corretivos e agrotóxicos em grande quantidade. Estima-se o emprego anual de aproximadamente 30.000 t de fertilizantes químicos e 120.000 L de agrotóxicos em lavouras de feijão, milho, soja e olerícolas no município (EMATER-PR, 2013).

O Sistema de Uso do Solo (SUS) predominante no município é o sistema convencional, onde o solo é revolvido com uso de tratores tracionando grades aradoras e grades niveladoras. A escarificação também é uma prática usual, a fim de quebrar a camada adensada, com hastes pontiagudas enterradas e tracionadas, que rompem o perfil vertical do solo, permitindo maior aeração, infiltração de água e desenvolvimento das raízes.

A olericultura se caracteriza pela produção de legumes, verduras, frutos e folhosas. São culturas de ciclo relativamente curto e que propiciam a utilização da mesma área por mais de uma vez no mesmo ano. É uma atividade que exige elevada utilização de fertilizantes e agrotóxicos e que geralmente é irrigado, o que potencializa os processos de dispersão dos insumos, infiltração no solo ou escoamento superficial (FILGUEIRA, 2000).

Há necessidade de intensa movimentação de solo com uso de equipamentos que pulverizam a camada mais superficial, facilitando o plantio das mudas. O controle de pragas e doenças tem sido cada vez mais difícil e oneroso para os agricultores.

### 3.1 O solo como substrato para a produção agrícola

A agropecuária é, sem dúvida, uma das atividades mais importantes na busca da segurança alimentar da humanidade, não somente na quantidade, mas também na qualidade do alimento, com objetivos de nutrir e promover a saúde da população. No entanto, na busca de suprir as necessidades mundiais, sistemas de produção têm se baseado apenas na necessidade humana, não levando em consideração

outros fatores relacionados ao sistema, como o solo, a água e o ar atmosférico (ARAÚJO, 2007).

A ânsia de obter maiores produtividades em um mesmo espaço territorial tem aumentado progressivamente o uso de produtos de base sintética, anulando cada vez mais a atividade biológica no solo (BRAGA *et al.*, 2005).

Ainda que se conheça bastante sobre o ecossistema do solo, estamos muito longe de entendê-lo integralmente. Sua constituição pode variar drasticamente em uma distância de milímetros, bem como sua composição biótica e abiótica (EPSTEIN & BLOOM, 2006).

O solo possui cinco papéis básicos: suporte para o crescimento de plantas, relação direta com a água (seja na filtração, no caso da absorção, ou na destinação pelo escoamento superficial), ciclagem e reciclagem dos nutrientes, nele habita centenas de espécies direta ou indiretamente, e ainda desempenha o papel de suporte para as mais diferentes edificações (MOREIRA *et al.*, 2014).

O solo é um ecossistema com grande número de espécies e de efetiva atividade, desenvolvendo complexas interações entre organismos invertebrados de classes e ordens diferentes e qualquer tipo de interferência poderá trazer impacto no seu funcionamento, inclusive nos outros níveis tróficos da cadeia alimentar (DORAN & ZEISS, 2000).

Segundo PANKHURST & LYNCH (1994) e LAVELLE *et al.* (1997), a interação dos organismos do solo, como microrganismos e plantas por exemplo, é capaz de modificar tanto a estrutura como as funções do solo, exercendo uma regulação sobre os processos de decomposição e ciclagem de nutrientes.

Nos solos tropicais, o intemperismo e a lixiviação são comuns, promovendo uma baixa fertilidade natural. Desta forma, a matéria orgânica ganha especial atenção, pois é ela a maior responsável pela liberação de nutrientes. Por outro lado, é ela que promove o ambiente mais favorável para o desenvolvimento da comunidade edáfica e esta realiza a decomposição da mesma (CORREIA & OLIVEIRA, 2000).

Contudo, o solo não é um mero suporte para plantas é, na verdade, um meio de cultura que dele dependerá a produtividade e a qualidade do alimento ali cultivado.

### 3.2 O uso de substâncias químicas e a contaminação dos solos

É crescente o uso de substâncias de base sintética na produção de alimentos no Brasil, o que lhe atribui o título de campeão mundial no uso de agrotóxicos desde 2008. Naquele ano, foram 673 mil toneladas consumidas, mas em 2010 ultrapassamos a casa de um milhão de toneladas. Os dados de 2008 mostram que aproximadamente 350 mil toneladas são empregadas no cultivo da soja, cerca de 100 mil toneladas para o cultivo de milho e 50 mil toneladas destinam-se às plantações de cana, para etanol. Só nesses três monocultivos, que são *commodities* importantes dentro do atual modelo de modernização agrícola e desenvolvimento no campo, já verificamos o consumo de mais de 70% do volume de agrotóxicos consumido no País. No Brasil, há mais de mil produtos comerciais de agrotóxicos diferentes, que são elaborados a partir de 450 ingredientes ativos (IBAMA, 2010).

O estado do Paraná, destaque por sua contribuição para a produção agrícola do país, já liderou o *ranking* do consumo de agrotóxicos por vários anos, atualmente deixando o título para o Mato Grosso do Sul (LONDRES, 2011).

Em Quitandinha, no estado do Paraná, relatos de agricultores informam que o uso de agrotóxico pode chegar até 20 L/ha/ano, entre herbicidas, fungicidas e inseticidas. Um dos produtos mais utilizados é o herbicida glifosato, totalizando um consumo geral de 50.000 litros de produtos á base de glifosato por ano, segundo o Instituto EMATER-PR (EMATER-PR, 2013).

É inegável a importância da produção agropecuária na alimentação humana e na produção de bens e serviços, e é patente a necessidade de se buscar tecnologias para a melhoria dos aspectos produtivos, dentre os mais diversos sistemas de produção, com o objetivo do aumento e a melhoria qualidade da produção. No entanto, é cada vez mais necessário que as tecnologias desenvolvidas produzam o menor impacto possível, como as conhecidas “tecnologias limpas”, buscando o equilíbrio, principalmente nos eixos social, ambiental e econômico.

Os já amplamente discutidos “desertos verdes”, grandes campos contíguos de lavouras de soja, milho, algodão não permitem o desenvolvimento e ou a manutenção da biodiversidade, limitando o número de espécies em todo o ecossistema.

Contrapondo a indústria do Agronegócio, atualmente é percebida a preocupação mundial com a contaminação do solo na Europa, pela *Thematic Strategy for Soil Protection*, com iniciativas semelhantes em países como Estados Unidos, Canadá, China e Japão.

No Brasil, ações nesse sentido estão descritas pela Resolução do Conama nº420 de 28 de dezembro de 2009, onde são garantidas as condições para a funcionalidade do solo em diferentes aspectos, como na manutenção do ciclo da água e dos nutrientes, servir como meio para a produção de alimentos e outros bens primários de consumo, proteção das águas superficiais e subterrâneas, servir como meio básico, para a sustentação da vida e de habitat para pessoas, animais, plantas e outros organismos vivos, entre outros. Para que essas medidas sejam asseguradas, normas e diretrizes deverão ser criadas, na grande maioria pelos órgãos estaduais (CONAMA, 2009).

### 3.3 O solo e a biota

O que se conhece como solo é a porção mais superficial da crosta terrestre, fruto do intemperismo da rocha combinada com atividade de organismos vivos e matéria orgânica, sob as variações climáticas, havendo intensa produção de gases e outras substâncias, acumulando água entre as partículas dos constituintes físicos originais (PRIMAVESI, 1999; EPSTEIN & BLOOM, 2006; LIMA *et al.*, 2010). Com essas características, o solo desenvolve condições para abrigar um ecossistema de grande riqueza, possuindo naturalmente uma abundante diversidade de espécies, com íntimas relações biológicas, como mutualismo, parasitismo, comensalismo e simbiose, onde as espécies dependem umas das outras para o equilíbrio de suas populações (CORREIA & OLIVEIRA, 2000; BARETTA, 2014).

A química do solo é um fator primordial para a manutenção das espécies da fauna edáfica, pois alimenta uma complexa cadeia trófica, e qualquer desequilíbrio nesse sistema pode comprometer sua harmonia (BARRIOS *et al.*, 2011). Inúmeras espécies estão relacionadas com a ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica e seu consumo propriamente dito, devolvendo ao sistema exsudatos de importante valor para a manutenção da fertilidade natural do solo,

contribuindo para a manutenção dos ciclos do carbono, do nitrogênio, cálcio, entre outros (PRIMAVESI, 1999).

Na ciclagem de nutrientes destaca-se a contribuição dos fungos micorrízicos arbusculares, que perfazem até 50% da biomassa microbiana do solo, chegando a 900 kg/ha e suas hifas a dezenas de metros, estando relacionados aos macronutrientes como fósforo, e aos micronutrientes, como zinco e cobre (CARDOSO *et al.*, 2010).

Segundo BARETTA *et al.* (2010) a fauna do solo é classificada conforme seu hábito alimentar, nicho ecológico, forma da mobilidade do organismo e, principalmente, pelo seu tamanho, em microfauna (< 0,2 mm), mesofauna (0,2-2,0 mm) e macrofauna (> 2,0 mm), de acordo com a classificação proposta por SWIFT *et al.* (1979) (Tabela 1).

**Tabela 1 – Classificação da fauna edáfica baseada no tamanho corporal dos organismos**

Divisão dos organismos do solo	Grandes grupos	Exemplos
<b>Macrofauna (&gt; 2mm)</b>	Vertebrados Artrópodes Anelídeos Moluscos	minhoca, formiga, besouro, aranha, opilião, escorpião, centopeia, piolho de cobra, tatuzinho, lesma, caracol, entre outros.
<b>Mesofauna (0,1- 2mm)</b>	Artrópodes Anelídeos	ácaro, colêmbolo, protura, diplura symphila, formiga, besouro, aranha, enquitreídeo, entre outros.
<b>Microfauna (&lt; 0,1mm)</b>	Nematodas Rotíferas Protozoários	nematoide, rotífera, protozoário, entre outros.

Fonte: Adaptado de FERNANDES (2009).

A fauna edáfica é composta por invertebrados que passam pelo menos uma fase da vida no solo, e são classificados conforme sua dieta alimentar, podendo ser saprófagos, os diretamente envolvidos com a decomposição da matéria orgânica ou biófagos, os relacionados com a decomposição da matéria orgânica morta, atuando como detritívoros, fragmentando resíduos já decompostos ou em processo de decomposição praticando o saprofitismo, como é o caso de alguns artrópodes. Outros grupos importantes são cadaverícolas, larvas de insetos que se alimentam de

indivíduos mortos; coprófagos, indivíduos que se alimentam dos excrementos de outros animais, como minhocas e alguns coleópteros; biófagos, que se alimentam de tecidos vivos; microbióvoros, que se alimentam de organismos da micro e mesofauna, como nematoides e ácaros; fungívoros, que se alimentam de fungos, como os colêmbolas; fitófagos que se alimentam de plantas, como alguns nematoides; predadores se alimentam de organismos vivos, como os coleópteros e ácaros; parasitas, organismos que vivem exclusivamente se alimentando de outro organismo vivo, matando-o lentamente como alguns nematoides (BARETTA *et al.*, 2010).

Os organismos da fauna do solo também se classificam conforme seu habitat preferencial, podendo ser aquáticos ou terrestres, habitando a água intersticial ou as porções sólidas do mesmo (BARETTA *et al.*, 2010).

Dada a importância do solo como fonte de água e nutrientes para plantas e outros organismos, como agente tamponante de mudanças de temperatura e do fluxo de água entre a atmosfera e as águas subterrâneas, atuando como reservatório de nutrientes e como habitat para organismos decompositores na ciclagem e disponibilização de nutrientes, a modificação do ecossistema edáfico pode ter consequências importantes para todas as formas de vida e na qualidade de alimentos, da água e da atmosfera (WILD, 1993).

### 3.4 O uso de indicadores de qualidade de solo

A sustentabilidade agrícola é definida como a capacidade de um sistema agrícola produzir alimentos e fibras sem comprometer as condições que viabilizam esse processo de produção (GLIESSMAN, 2000).

Indicadores da qualidade do solo podem ser classificados, de um modo geral, em quatro grupos; visuais, físicos, químicos e biológicos. Embora esta divisão em grupos seja usual, é importante salientar que estes atributos e processos, em sua maioria, são inter-relacionados. Os melhores indicadores da qualidade do solo são aqueles que integram os efeitos combinados de diversos atributos ou processos do solo, os quais devem ser precisos, simples para uso e apresentarem sentido, ou seja, devem estar associados à função para a qual se pretende usar o solo.

Necessitam, para que possam ser usados com eficiência, de padrões ou valores críticos. Portanto, um bom indicador deve ser de fácil medida, respondendo às mudanças propostas, estar relacionado com os requerimentos de qualidade do solo, e ter um limite claro entre o que é sustentável e não sustentável (BARRIOS *et al.*, 2011; GOMES & FILIZOLA, 2006; LAVELLE *et al.*, 1997).

Os indicadores visuais podem ser obtidos a partir da interpretação de fotografias aéreas, ou através de observações diretas, como a exposição do subsolo, mudança de cor do solo, escoamento superficial, respostas das plantas, espécies de plantas daninhas predominantes, entre outras. Evidências visuais podem ser indicadores claros de que a qualidade do solo está ameaçada ou passando por alterações (GOMES & FILIZOLA, 2006).

Os indicadores físicos estão relacionados ao arranjo das partículas e do espaço poroso do solo, incluindo densidade, porosidade, estabilidade de agregados, textura, encrostamento superficial, compactação, condutividade hidráulica e capacidade de armazenamento de água disponível. Refletem, primariamente, limitações ao crescimento radicular, à emergência das plântulas, à infiltração e ou movimento da água no interior do perfil do solo e à disponibilidade de água às plantas (GOMES & FILIZOLA, 2006).

O pH, salinidade, capacidade de troca de cátions, capacidade de suprimento de nutrientes às plantas, concentrações de elementos que podem ser potencialmente contaminantes (metais pesados, compostos radioativos, etc.) ou necessários para o crescimento e desenvolvimento das plantas são considerados indicadores químicos. As condições químicas do solo afetam as relações solo-planta, a qualidade da água, o potencial tamponante, a disponibilidade de nutrientes e de água para as plantas e outros organismos, mobilidade de contaminantes e algumas condições físicas, como a tendência de formação de crostas superficiais (GOMES (s.d.); BARRIOS *et al.*, 2011). Em especial, o pH é muito importante devido ao seu efeito na formação do húmus como também está indiretamente ligado à concentração de elementos nutritivos à disposição das plantas e organismos do solo (PRIMAVESI, 1999).

### 3.5 O uso de bioindicadores de qualidade de solo

Os organismos bioindicadores vêm sendo muito utilizados para avaliar impactos sobre o ambiente devido à ação de poluentes, entre eles, agrotóxicos, resíduos sólidos ou líquidos de processos industriais, etc. (PAOLETTI, 1999).

Organismo bioindicador é aquele que pode refletir a qualidade do sistema de solo. Organismos indicadores potenciais devem cumprir vários critérios (EDWARDS *et al.*, 1996), dentre os quais, desempenhar um papel fundamental no funcionamento dos ecossistemas do solo, de modo que a sua resposta seja relevante para conclusões sobre o nível de sistema; estar presente em uma ampla gama de ecossistemas, para permitir comparações entre eles; ocorrer em abundância, de modo que eles estejam amplamente disponíveis e sua resposta seja de fácil compreensão; ser fácil de usar, tanto em condições campo como laboratoriais, deve ser facilmente coletado e cultivado; se adaptar a uma variedade de fatores de estresse; ser suficientemente sensível a uma ampla gama de situações ambientais, mas não tão sensíveis a ponto de se extinguir facilmente (DIDDEN & RÖMBKE, 2001).

Segundo LOUZADA & ZANETTI (2013), existem diferenças entre os organismos bioindicadores, de tal forma que podem ser divididos nos seguintes grupos: espécies sentinelas são organismos sensíveis que oportunizam uma visão geral sobre a perturbação do ambiente analisado; detectoras são as espécies de ocorrência natural em determinada área e que respondem de forma mensurável após modificações no meio; essas perturbações podem ser no comportamento, densidade, estrutura etária, etc; as exploradoras são espécies que se adaptam às áreas degradadas e impactadas por diversos poluentes, por apresentarem resistência e baixa competitividade; as acumuladoras são espécies que acumulam substâncias químicas que podem ser mensuradas; e os organismos de bioensaios, usados para trabalhos experimentais visando à detecção de substâncias tóxicas.

### 3.6 Ensaios ecotoxicológicos

Ensaios ecotoxicológicos estão sendo crescentemente aplicados no Brasil. Por serem capazes de detectar integralmente todas as intervenções e perturbações diretas e indiretas causadas por substâncias nocivas, mostram-se como uma ferramenta muito eficiente na avaliação da qualidade ambiental e na estimativa de riscos para o meio ambiente por agentes químicos. Os órgãos ambientais incluem os biotestes como parâmetros de controle nas licenças de atividades potencialmente causadoras de poluição e usam os ensaios para monitorar o estado qualitativo de águas e na identificação de fontes poluidoras (KNIE & LOPES, 2004).

Existem diversos tipos de testes ecotoxicológicos com normas internacionais, seguindo padrões que facilitam a normatização dos dados proporcionando possíveis comparações, porém, há que se registrar que em muitos casos são necessárias adaptações para que os mesmos estejam de acordo com a realidade da situação *in situ* (KNIE & LOPES, 2004; SISINNO & OLIVEIRA-FILHO, 2013).

No Brasil, apesar do crescente reconhecimento dos ensaios ecotoxicológicos para determinação da contaminação da água, a utilização destes para determinação da contaminação do solo ainda é pouco demandada, porém, mundialmente os ensaios com minhocas são realizados desde o surgimento da norma OECD (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT) em 1984, para enquitreídeos apesar de existir norma padronizada (NBR/ISO 16387 - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012) a espécie sugerida nesta, não ocorre em solos da América do Sul, fato este que limita o desenvolvimento de trabalhos ecotoxicológicos com uso de solos, devido às espécies de ocorrência natural, tanto de enquitreídeos como de minhocas, necessitarem de estudos pormenorizados de sua ecologia (NIVA & BROWN, *in press*).

### 3.6.1 Enquitreídeos

Enquitreídeos são pequenos oligoquetos da família Enchytraeidae, representantes da mesofauna terrestre, possuem ampla ocorrência, desde solos não explorados como os das florestas nativas, em solos antropizados e de lavouras. Habitam principalmente os primeiros 5 cm de solo, onde umidade e temperatura são importantes atributos ecológicos para sua distribuição (NIVA *et al.*, 2010). Generalistas, podem habitar diferentes habitats desde ambientes marinhos e até mesmo as regiões árticas. O tamanho é muito variável, de 1 a 50 mm (DASH, 1983).

Variações de pH, teores de matéria orgânica e manejos empregados ao solo podem influenciar não somente na ocorrência de enquitreídeos como também na composição das espécies, existindo espécies com nichos ecológicos diferentes (DIDDEN, 1993; GRAEFE & SCHMELZ, 1999; JÄNSCH & RÖMBKE, 2002; JÄNSCH, RÖMBKE & DIDDEN, 2005).

É reconhecida a importância dos enquitreídeos para a decomposição da matéria orgânica, sobretudo nas camadas mais superficiais do solo, contribuindo assim para a ciclagem dos nutrientes, contribuindo para a microporosidade do solo, devido ao hábito de produzir galerias para seu deslocamento (RÖMBKE, 1991; LAAKSO & SETÄLÄ, 1999; VAN VLIET *et al.*, 2004; SCHRADER *et al.*, 1997; LANGMAACK *et al.*, 1999). Sua atividade trófica contribui para o controle populacional de microrganismos (HEDLUND & AUGUSTSSON, 1995), contudo, o conhecimento sobre a ecologia e biologia da família Echytraeidae nos trópicos ou subtropicais ainda é vago (RÖMBKE, 2007).

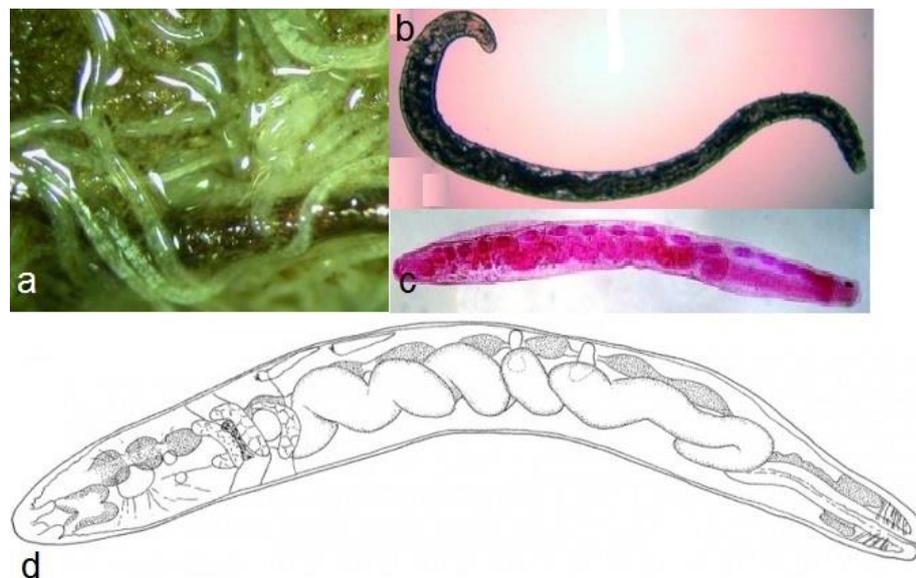
Os enquitreídeos são hermafroditas e podem se reproduzir produzindo casulos por anfimixia, partenogênese (CHRISTENSEN *et al.*, 1992) e autofecundação (DÓZSA-FARKAS, 1995), ou ainda, por fragmentação (MYOHARA *et al.*, 1999).

Atualmente, estima-se que existam cerca de 950 espécies conhecidas no mundo (JÄNSCH *et al.*, 2005), das quais aproximadamente 50 espécies ocorrem no Brasil, em sua maioria na região Sudeste (RIGHI, 1999; RÖMBKE, 2003; RÖMBKE, 2007; CHRISTOFFERSEN, 2009).

São poucos taxonomistas disponíveis no Brasil, e a identificação do organismo é uma tarefa que exige a percepção de detalhes na observação

microscópica do organismo vivo, dificultada pela sua constante movimentação. Atributos como número de cerdas e sua disposição, forma dos nefrídios, formato das células epidérmicas, tamanho do corpo, número de segmentos corporais, formato do clitelo, formato dos celomócitos, formato do funil espermático, da espermateca, entre outros, são determinantes para a identificação do gênero e da espécie (SCHMELZ & COLLADO, 2010).

A família Enchytraeidae se caracteriza por apresentar o corpo segmentado, raramente abaixo de 20 e acima de 70 segmentos, algumas estruturas são caracterizadas pela sua posição num determinado segmento, o que contribui para a identificação da espécie, como a espermateca no segmento V, testículos e vesículas seminais no segmento XI e, no segmento XII, ovários e poros masculinos. Externamente, são alongados e cilíndricos, possuem poucas cerdas sobre o corpo, dificilmente ultrapassam 4 mm de comprimento (maioria 1-2 mm). Enquitrédeos *in vivo* possuem uma coloração esbranquiçada translúcida, deixando muitos de seus órgãos internos visíveis, notadamente o tubo intestinal, quando está preenchido por material escuro, e os oócitos em desenvolvimento, que se apresentam como esferas brancas opacas na região clitelar de indivíduos sexualmente maduros (NIVA *et al.*, 2010) (Figura 2).



**Figura 2 – a) Enquitrédeos cultivados em SAT; b) enquitréideo observado em microscópio (4X); c) fixado e corado com solução alcoólica a 10% Rosa Bengala e d) em desenho esquemático.**

**Fonte: a, b e c) próprio autor e d) Schmelz & Collado (2010).**

A diversidade de espécies e o número de indivíduos de diversos organismos da fauna no solo, incluindo os enquitreídeos, podem indicar o nível de perturbação de um ambiente e também são úteis na avaliação da qualidade do solo (PRIMAVESI, 1985). As mudanças induzidas pela ocupação humana do solo e a adoção de diferentes sistemas agrícolas podem afetar a atmosfera, a água e o solo (GLIESSMAN, 2001). Substâncias químicas em suspensão, sedimentos sólidos, compactação de solo e outros desequilíbrios apontam para possíveis problemas no manejo dos recursos naturais, influenciando na qualidade desses ambientes (PRIMAVESI, 1985). O uso intensivo do solo e a utilização de insumos sintéticos, como fertilizantes e agrotóxicos, podem alterar suas condições físico-químicas do solo, afetando também a fauna edáfica (KHATOUNIAN, 2001).

A agricultura Agroecológica e todas suas vertentes, Permacultura, Agricultura Orgânica, Agricultura Biológica, Biodinâmica, entre outras, tem se mostrado bastante eficiente na produção de alimentos isentos de contaminantes químicos, mais equilibrados nutricionalmente, bem como na reconstrução da fertilidade natural do solo, promovendo a conservação e recuperação das porções bióticas e abióticas deste importante ecossistema para a produção de alimentos (GLIESSMAN, 2001). Frequentemente encontram-se populações mais numerosas de organismos benéficos e da fauna do solo nesses sistemas (MADER *et al.*, 2002).

## CAPÍTULO I - ENQUITREÍDEOS (OLIGOCHAETA, ENCHYTRAEIDAE) EM DIFERENTES SISTEMAS DE USO DO SOLO EM QUITANDINHA – PR.

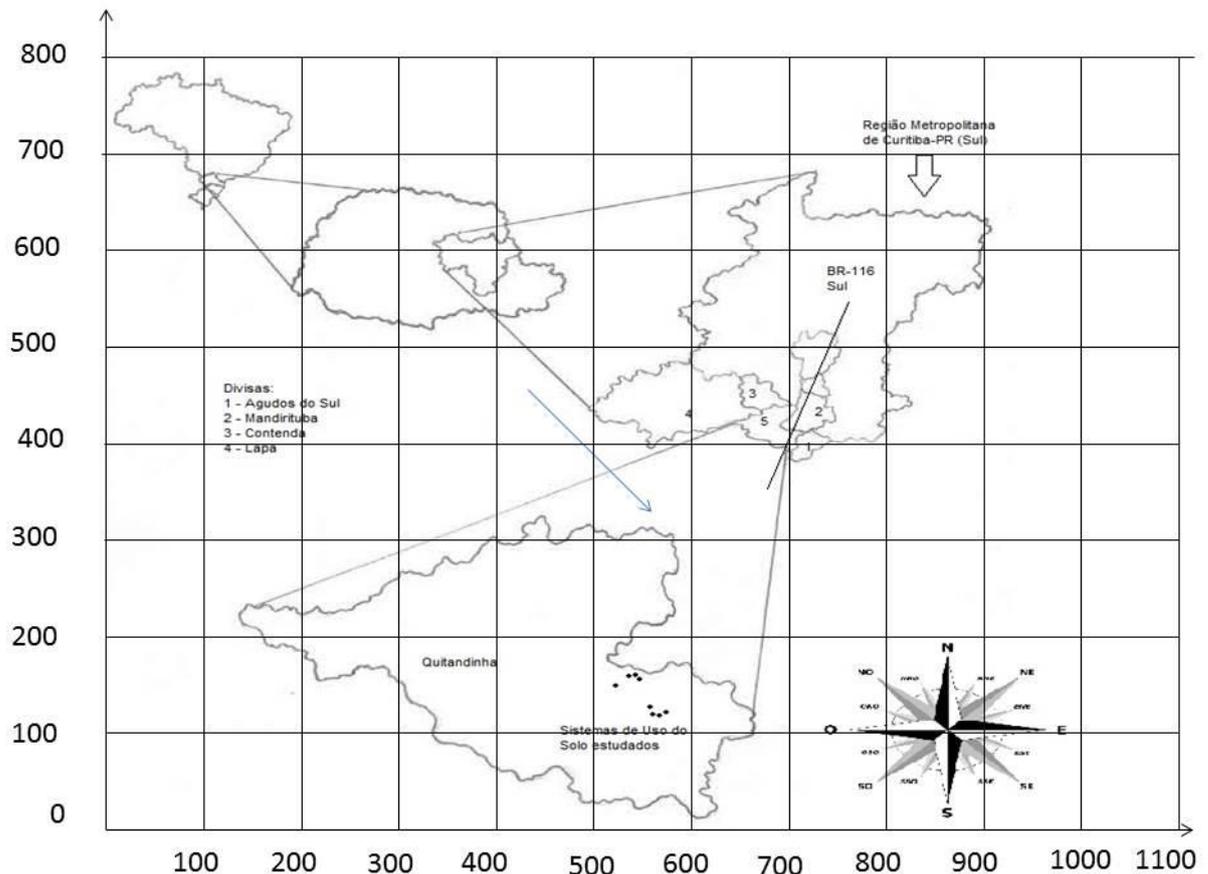
### RESUMO

O município de Quitandinha localiza-se na região metropolitana de Curitiba, sudeste da capital do Paraná. Com intensa atividade agrícola, o município demonstra grande diversidade de atividades produtivas, contemplando a produção de grãos e olerícolas. O manejo físico do solo é bastante intenso, com uso de grades aradoras, niveladoras e subsoladores, bem como o uso de fertilizantes e agrotóxicos, entretanto, atualmente é crescente a adesão de produtores em cultivos orgânicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial dos enquitreídeos (*Oligochaeta*, *Enchytraeidae*), como indicadores da qualidade do solo comparando-se quatro diferentes sistemas de uso do solo (SUS), buscando estabelecer uma relação entre a abundância de enquitreídeos e o sistema de cultivo, para se conhecer os impactos do manejo do solo. Foram estudados 4 SUS em Argissolo: Floresta Nativa (FN), Olerícola Orgânica (OO), Olerícola Convencional (OC) e Lavoura Convencional (LC). Para cada sistema, duas parcelas foram estudadas retirando-se 10 amostras de cada uma para determinação da abundância. As amostragens foram realizadas em janeiro de 2014 e seguiram recomendações padronizadas pela ISO. No momento da coleta foram determinadas temperatura e umidade do solo e, em laboratório, foram determinados parâmetros físicos e químicos do solo dos pontos amostrados. Os gêneros foram identificados *in vivo* em parte das amostras com uso de microscópio óptico. De modo geral, a maior diferença da abundância de enquitreídeos foi entre FN em relação à LC, sendo em FN e OO observada maior abundância em relação à LC. Os resultados sugerem um possível efeito negativo do manejo, especialmente da lavoura convencional (LC), sobre esses organismos. Na diversidade, por sua vez, houve uma redução de 6 gêneros de enquitreídeos encontrados em FN, para apenas 2 gêneros em LC. A Análise dos Componentes Principais associou os índices ecológicos com os gêneros e com os SUS e a Análise de Redundância associou os gêneros com os atributos mais significativos.

**Palavras-chave:** Manejo de solo. Bioindicadores. Manejo convencional. Manejo orgânico. Fertilizantes. Agrotóxicos.

## 1. INTRODUÇÃO

O município de Quitandinha, situado na região metropolitana da capital do Paraná, Curitiba (Figura 1), possui na agricultura sua maior fonte de renda e ocupação de grande parte da mão de obra local. As explorações são diversificadas, tendo por base a produção de fumo, grãos (milho, feijão, trigo e soja), reflorestamento (pinus e eucalipto), pastagens naturais e olerícolas (repolho, cebola, beterraba, couve flor, couve, brócolis, cheiro verde, mandioquinha salsa, cenoura, folhosas, entre outras), totalizando uma área de 30.000 ha (EMATER-PR, 2014; SEAB-PR, 2014).



**Figura 1 – Mapa situando o município de Quitandinha na região metropolitana de Curitiba-PR, localizando as áreas de estudo.**

Fonte: o autor.

O sistema de uso de solo mais comum é o plantio convencional, onde se revolve o solo por meio de arações, gradagens e subsolagens e, na olericultura, o uso frequente da enxada rotativa. O uso de fertilizantes e de agrotóxicos é muito frequente, inseticidas, fungicidas e herbicidas são amplamente usados no sistema de produção. Estima-se que cerca de 120.000 L de agrotóxicos e de 30.000 t de fertilizantes são aplicados anualmente (EMATER-PR, 2014). Da área total cultivada apenas 20% é manejada pelo sistema de plantio direto na palha, as demais áreas ainda praticam revolvimento de solo com uso de grades pesadas, escarificadores, enxadas rotativas e até mesmo arados.

Nos sistemas de produção agroecológico ou orgânico, nota-se menor dependência de insumos como fertilizantes e agrotóxicos devido à resistência contra pragas e doenças e melhor fertilidade do solo (KHATOUNIAN, 2001).

O solo é um ambiente de ampla interação da grande diversidade de organismos, responsável pela decomposição e mineralização de resíduos orgânicos, e que atua na ciclagem de nutrientes favorecendo sua disponibilidade, manutenção da umidade, aeração, entre outros processos, contribuindo para a fertilidade natural (MOREIRA, 2014; BROWN & SAUTTER, 2009).

Essa grande diversidade de organismos é conhecida como a fauna edáfica, constituída por invertebrados que vivem no solo permanentemente ou em qualquer fase de sua vida, interagindo neste ambiente associados aos microrganismos, vegetais e com os fatores abióticos (AQUINO & CORREIA, 2005).

A fauna edáfica pode ser classificada pelo seu tamanho, em microfauna (< 0,2 mm), mesofauna (0,2-2,0 mm) e macrofauna (> 2,0 mm). Lavelle *et al.* (1997) se refere à macrofauna como os “engenheiros do solo”, sobretudo devido à grande contribuição das minhocas ao ecossistema, devido sua atividade de abrir galerias e, com isso, melhorar a aeração e a circulação de água, atuando na ciclagem de nutrientes, no consumo de diferentes alimentos, como as epigéicas, anécicas e endogéicas (habitam a serapilheira, constroem galerias verticais e habitam o solo mineral, respectivamente). As minhocas produzem coprólitos, atuando na liberação de matéria orgânica e nutrientes, nitrogênio principalmente para as plantas, assim como para outros organismos (BROWN & SAUTTER, 2009).

Regiões temperadas da Europa (RÖMBKE, 2007; SCHMELZ *et al.*, 2013, JANSCH *et al.*, 2005) apontam para uma abundância de enquitreídeos entre 20.000 - 60.000 ind./m<sup>2</sup>, podendo chegar até 143.000 ind./m<sup>2</sup> em florestas e pastagens

(DIDDEN, 1993). Na América do Sul os primeiros trabalhos com o objetivo de avaliar a abundância de enquitreídeos foram realizados na Amazônia (ROMBKE & MELLER, 1999) e na Floresta Ombrófila Densa no litoral norte paranaense (RÖMBKE *et al.*, 2007) e, em ambos os estudos, a abundância não passou dos 5.000 ind./m<sup>2</sup>.

Recentemente, um trabalho que avaliou as diferentes formas para extração de enquitreídeos, no município de Colombo, região metropolitana norte de Curitiba, Niva *et al.* (2012) encontrou abundância de aproximadamente 12.000 ind./m<sup>2</sup> em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista com Araucárias, na Estação da Embrapa Florestas.

Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo investigar o possível impacto das práticas utilizadas em sistemas de produção agrícolas sobre a abundância e diversidade dos enquitreídeos (Oligochaeta, Echytraeidae) e avaliar o potencial desses organismos como indicadores de qualidade e uso do solo.

Foram escolhidos quatro sistemas de uso do solo (SUS), com objetivo de comparar as diferentes práticas e insumos utilizados no impacto aos enquitreídeos. Floresta Nativa (FN) como uma área não impactada, Olericultura Orgânica (OO) caracterizada por não utilizar insumos de base sintética e agrotóxicos, Olericultura Convencional (OC), caracterizada pelo intenso uso de mecanização e insumos químicos e Lavoura Convencional (LC) por se tratar de áreas maiores e uso intenso de insumos químicos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Caracterização das Áreas de Estudo**

Quatro sistemas de uso do solo foram estudados no município de Quitandinha-PR: Floresta Nativa (FN), Olerícola orgânica (OO) com cultivo de batata (*Solanum tuberosum*), Olerícola Convencional (OC) com cultivo de abobrinha (*Curcubita pepo*) e Lavoura Convencional (LC), com cultivo de milho (*Zea mays*). Os SUS foram analisados em repetições verdadeiras (n=20). Duas áreas de cada sistema foram avaliadas, uma na comunidade do Pavão e outra na comunidade do Caí de Baixo. Como áreas de referência, foram estudadas duas áreas de floresta

nativa (FN), cada uma com aproximadamente 10 ha de Floresta Ombrófia Mista com Araucária. A descrição dos sistemas de uso do solo e dos insumos empregados pode ser visualizada na Tabela 1.

**Tabela 1 - Descrição dos insumos utilizados nos Sistemas de Produção por cultura na safra 2013/14.**

Sistema de Uso do Solo	Cultivo	Insumos/ Espécies
Cultivo Convencional	(LC) Milho ( <i>Zea mays</i> )	206 kg/ha de Fertilizante granulado NPK 04-14-08 250 kg/ha de ureia (45% de N); 4 kg/ha Roundup WG® (Glifosato); 5 L de Atrazina Nortox® 500 SC (Atrazina) + 0,5L/ ha Callisto® (Mesotriona);
Cultivo Orgânico	(OC) Abobrinha ( <i>Curcubita pepo</i> )	350 kg/ha NPK 4-20-20; 150 kg/ha de Termofosfato; 200 kg/ha NPK 15-0015 Fertilizante foliar; 4 kg/ha Roundup WG® (Glifosato); Inseticida Decis® 250 CE (Deltametrina) 0,2L/ kg/ha 4 x;
Floresta Nativa	(OO) Batata ( <i>Solanum tuberosum</i> )	Esterco curtido de ovinos 1t/ kg/ha; 0,2 t/ kg/ha de cinzas secas; Aplicação foliar de biofertilizante fermentado 2L/ha; Aplicação de Calda Sulfocálcica (S e Ca), 4L/ha; Aplicação de Calda Bordalesa (Cu e Ca), 4L/ha.
Floresta Nativa	FN	Áreas cobertas por espécies da Floresta Ombrófila Mista com Araucárias, com predomínio de: Pinheiro do Paraná ( <i>Araucaria angustifolia</i> ); Vassourão branco ( <i>Eupatorium discolor</i> ); Cedro ( <i>Cedrella fissilis</i> ); Pitangueira ( <i>Eugenia uniflora</i> L.); Guaviroveira ( <i>Campomonesia chantocarpa</i> ); Miguel Pintado ( <i>Matayba elaeagnoides</i> )

Fonte: EMATER-PR (Comunicação pessoal).

Nota: FN= Floresta Nativa; OO= Olericultura Orgânica; OC= Olericultura Convencional; LC= Lavoura Convencional.

As áreas de olericultura orgânica (OO) são cultivadas com grande diversidade de espécies de hortaliças, e é desenvolvida sob as diretrizes que regulamentam a atividade (Lei N°. 10.831/03 e Decreto N° 6.323/07), sendo monitoradas pela certificadora Rede Ecovida de Certificação participativa. Dentre as principais diretrizes, está a proibição do uso de qualquer tipo de agrotóxico de base sintética, fertilizantes de alta solubilidade e sementes transgênicas. As áreas de olericultura convencional (OC) estão localizadas em pequenas propriedades, com uso intensivo do solo e com grande aplicação de diferentes formas de mecanização. O uso de

corretivos e fertilizantes também é intenso, assim como é frequente o uso de agrotóxicos (Quadro 1). As áreas de lavoura convencional (LC) estudadas foram áreas de cultivo de monoculturas em grandes áreas contíguas, com elevada quantidade de horas de máquina para o preparo do solo, plantio, pulverizações e colheitas. Entre as principais atividades, destacam-se o cultivo de feijão, milho, soja e trigo, onde o uso de fertilizantes e agrotóxicos é intenso (Quadro 1).

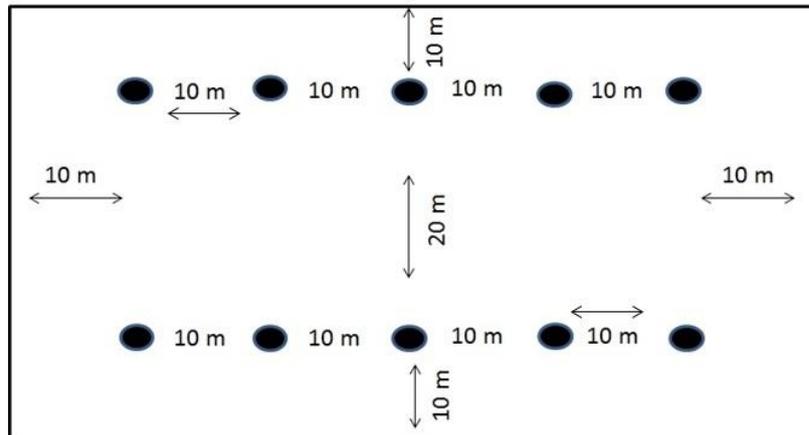
A localização das áreas estudadas com as respectivas coordenadas geográficas está apresentada na Tabela 1. Vale registrar que os produtos mencionados na Tabela 1 foram utilizados para o ciclo da cultura em questão, porém, é possível que esses mesmos produtos sejam utilizados novamente em culturas sucessivas, bem como também possa ocorrer o emprego de outros insumos. Embora o herbicida a base de Atrazina tenha uma recomendação em maior quantidade em relação ao Glifosato, ele é usado apenas uma vez na cultura do milho, já os produtos a base de glifosato, principalmente o Roundup WG<sup>®</sup> são amplamente utilizados como herbicida dessecante não seletivo, chegando à quantidade anual de 20 kg/ha em Quitandinha, PR (EMATER-PR, 2014).

## 2.2 Amostragem de enquitreídeos

A coleta das amostras nos diferentes pontos amostrais foi realizada no dia 08/01/2014, no período da manhã. O acumulado pluviométrico do mês no município foi de 57,4 mm, com uma precipitação na véspera da coleta de 3,1 mm (Águas Paraná, 2014). A coleta das amostras de solos com enquitreídeos foi baseada no protocolo ISO 23611-3 (ISO, 2007), com emprego de um anel de ferro galvanizado com 5,8 cm de diâmetro, perfazendo uma área de 26,4 cm<sup>2</sup> e 5,0 cm de profundidade (volume de 132 cm<sup>3</sup> e massa aproximada de 130 g de solo).

Dez amostras foram coletadas em cada uma das áreas dos sistemas de uso do solo (Figura 2), sendo escolhidos 2 pontos por sistema, totalizando 80 amostras. Os pontos de amostragem foram distantes dez metros um do outro, ao longo de dois transectos paralelos distantes em 20 m, incluindo o perímetro de 10 m de bordadura, perfazendo uma área de 2.400 m<sup>2</sup> para cada uma das duas parcelas dos sistemas estudados. Todos os pontos foram georreferenciados com GPS Garmin Etrex com precisão de 3 m (Tabela 1). Nas áreas de floresta as amostras foram retiradas a

partir de 10 m das bordas, para evitar possíveis influências externas. Nas áreas de lavouras as amostras foram retiradas na linha de plantio. As amostras de solo coletadas foram acondicionadas em embalagens plásticas e mantidas em temperatura controlada de 21°C em sala climatizada.



Área total = 2.400 m<sup>2</sup>

**Figura 2 – Delineamento amostral.**  
Fonte: O autor.

**Tabela 2 – Apresentação das coordenadas geográficas das áreas estudadas**

Pontos	Coordenadas X	Coordenadas Y
<b>FN 1</b>	25°54'02"	49°29'37"
<b>OO 1</b>	25°53'24"	49°27'32"
<b>OC 1</b>	25°53'15"	49°27'26"
<b>LC 1</b>	25°53'15"	49°27'27"
<b>FN 2</b>	25°54'08"	49°25'22"
<b>OO 2</b>	25°53'24"	49°25'35"
<b>OC 2</b>	25°54'06"	49°25'20"
<b>LC 2</b>	25°54'07"	49°25'20"

**Nota:** Pontos médios de cada parcela onde, FN= Floresta Nativa; OO= Olericultura Orgânica; OC= Olericultura Convencional; LC= Lavoura Convencional.

### 2.3 Extração, contagem e identificação dos enquitreídeos

A metodologia empregada para a extração úmida quente foi de acordo O'Connor (1955), com base na ISO 23611-3 (ISO, 2007) e NIVA *et al.* (2010). Com auxílio térmico de lâmpadas alógenas sobre as amostras (figura 3a). A amostra de solo com aproximadamente 130 g foi colocada em uma peneira forrada com um tecido filtrante, e encaixada em um funil preenchido com água mineral até a total cobertura da amostra (Figura 6a).



**Figura 3 – (a) Extrator Quente e Úmido; (b) Enquitreídeos acondicionados em placas de Petri para a contagem (aumento de 10X).**

Após três horas de exposição à luz, a água foi retirada por uma mangueira acoplada em um registro na parte inferior do funil e armazenada em um pequeno recipiente plástico com capacidade para 1 L. Pelo método, os enquitreídeos se concentram no pouco sedimento que resta na água, procurando o fundo do recipiente. Lentamente e com muito cuidado a água foi retirada, mantendo-se uma pequena quantidade para ser pipetada e colocada em uma placa de Petri (Figura 6b).

A contagem do número de enquitreídeos foi realizada com o uso de microscópio estereoscópio BEL PHOTONICS, oculares de 10 X, observando os indivíduos ainda vivos em placas de Petri com água. Os enquitreídeos foram identificados *in vivo* ao nível de gênero em duas ou três das dez amostras de cada sistema de uso do solo, com auxílio de microscópio óptico COLEMAN, com oculares de 16 x de aumento total e objetivas de 4 e 10 x. Para a identificação foi utilizado o

Manual de Identificação de Enquitrédeos (Oligochaeta) para América do Sul (SCHMELZ & COLLADO, 2010).

#### 2.4 Análises Físico-Químicas do Solo

Para as análises químicas e físicas de solo foram utilizadas as normas e procedimentos analíticos da EMBRAPA (EMBRAPA, 1997). Um total de 80 amostras de solo, com aproximadamente 130 g cada, tiveram determinados pH, Alumínio, Cálcio, Magnésio, Potássio, Sódio, Matéria Orgânica, Carbono, Fósforo, Areia, Silte e Argila. Com estes dados, foi possível calcular as seguintes relações: Soma das Bases (SB), Capacidade de Troca Catiônica (CTC), Saturação de Bases (V%), Saturação de Alumínio (m%). A umidade do solo de cada ponto amostral foi determinada por gravimetria (EMBRAPA, 1997).

Em campo, no momento da coleta, também foram medidas a temperatura do solo com um termômetro de haste (Digital Thermometer) introduzido a profundidade de 5 cm do solo (EMBRAPA, 1997).

#### 2.5 Tratamento dos Dados

Os dados foram analisados utilizando o *software* Statistica 7®. As análises de variâncias de reprodução foram realizadas empregando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para análise de componentes principais, buscou-se correlacionar diferentes sistemas de uso do solo com gêneros de enquitrédeos identificados e com a análise de redundância buscou-se mostrar a correlação das variáveis ambientais (K, P, Ca e temperatura) com os gêneros de enquitrédeos identificados. Estas correlações foram significativas se  $p < 0,001$ , através do teste de permutações de Monte Carlo.

Os dados foram extrapolados para indivíduos por m<sup>2</sup>. Foram calculados também os índices de Dominância de Simpson, de Equitabilidade J (Shanon) e de Diversidade de Shannon-Wiener, utilizando o *software* DivEs (Diversidade de Espécies), sobretudo para subsidiar análises de componentes principais e de redundância.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Análises Físico-Químicas do Solo

Segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, o tipo do solo da região é o Argissolo, caracterizado pela presença de horizonte diagnóstico B textural, apresentando acúmulo de argila em profundidade devido à mobilização e perda de argila da parte mais superficial do solo. Apresentam frequentemente, mas não exclusivamente, baixa atividade da argila (CTC), podendo ser alíticos (altos teores de alumínio), distróficos (baixa saturação de bases) ou eutróficos (alta saturação de bases), sendo normalmente ácidos (EMBRAPA, 1999).

A umidade nas áreas de cultivo orgânico apresentou-se acima dos 20,5 % com temperatura média de 20,9 °C. Já a média da umidade e da temperatura nas áreas de floresta, foram respectivamente 29,5 % e 19,2 °C, e para a lavoura convencional foi de 18,5 % e 22,7 °C. A temperatura ainda que esteja diretamente ligada à umidade, não demonstrou significativas variações. A umidade das áreas de olericultura convencional foi de 17 % e a temperatura de 20,4 °C (Tabela 3).

**Tabela 3 - Valores da umidade e temperatura do solo na coleta das amostras.**

Sistema	Umidade Média (%) ± DP	Temperatura Média do solo (°C) ± DP
<b>FN</b>	29.35 ± 4.33	19.3 ± 0.48
<b>OO</b>	18,55 ± 1,45	22.65 ± 0.60
<b>OC</b>	20,5 ± 3,25	20.85 ± 0.56
<b>LC</b>	17,0 ± 3,2	20.55 ± 0.51

**Nota: Médias das duas parcelas (n=10) de cada Sistema de Uso do Solo (SUS), onde, FN= Floresta Nativa; OO= Olericultura Orgânica; OC= Olericultura Convencional; LC= Lavoura Convencional.**

Beylich & Achazi (1999) avaliaram a umidade do solo e sua relação com enquitreídeos entre 1995 e 1998 na Alemanha, e os autores verificaram que baixas umidades coincidiram com menor abundância, porém, umidades elevadas não abrigaram as maiores densidades.

Comparando os SUS que apresentaram diferenças estatisticamente significativas na abundância de enquitreídeos, destacam-se as principais diferenças encontradas nas análises físicas e químicas: entre FN e LC, houve diferença nos atributos Cálcio (5,71 e 2,67 cmolc/dm<sup>3</sup>); Soma das bases (7,35 e 3,62 cmolc/dm<sup>3</sup>);

Capacidade de troca Catiônica (7,55 e 3,60 cmolc/dm<sup>3</sup>); Matéria orgânica (64,34 e 36,6%); Carbono (34,55 e 21,2 g/dm<sup>3</sup>); Fósforo (0,37 e 24,3 ppm); Capacidade de troca catiônica (5,95 e 3,60 cmolc/dm<sup>3</sup>) e Fósforo (0,95 e 24,3 cmolc/dm<sup>3</sup>); entre OO e LC houve diferença: Sódio (0,05 e 0,01 cmolc/dm<sup>3</sup>); Capacidade de troca catiônica (6,95 e 3,60 cmolc/dm<sup>3</sup>) e Fósforo (0,21 e 24,3 cmolc/dm<sup>3</sup>) (Tabela 4).

**Tabela 4 - Atributos químicos e físicos do solo em diferentes sistemas de uso da terra nas profundidades 0 – 10 cm.**

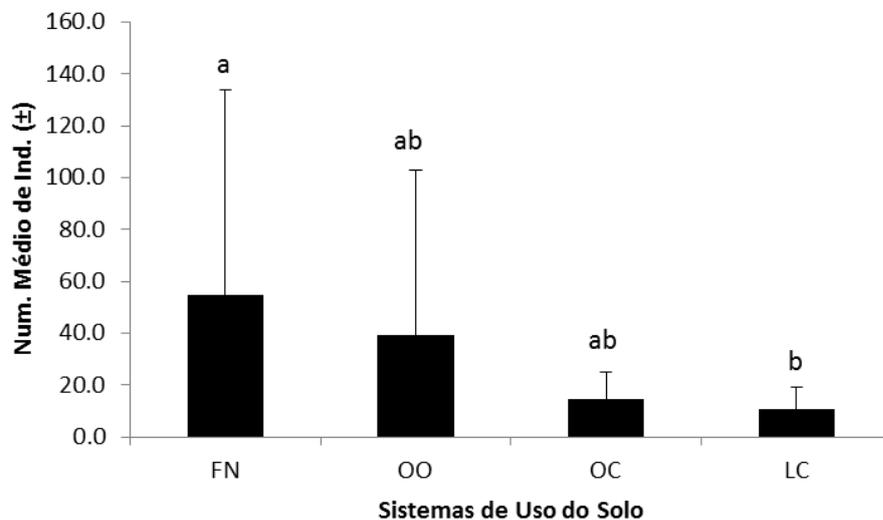
		FN	OO	OC	LC
<b>Cmolc dm<sup>-3</sup></b>	pH	4,04a±0,41	5,09b±0,35	4,75b±0,59	4,72b±0,38
	Al	0,54a±4,48	0,03b±0,05	0,23b±0,28	0,10b±0,12
	Ca	4,3ab±2,2	4,4a±0,5	3,1b±1,3	3,7ab±1,1
	Mg	1,4a±0,5	1,8a±0,4	1,5a±0,5	1,7a±0,7
	K	0,05a±0,09	0,05a±0,02	0,03a±0,01	0,02b±0,01
	Na	0,020ac±0,004	0,038b±0,021	0,049ab±0,064	0,014c±0,003
	SB	5,78a±2,61	6,16a±0,83	4,61a±1,86	5,43a±1,78
	CTC	7,03a±1,8	6,76a±0,69	5,96a±0,87	3,89b±0,31
<b>%</b>	V	8,79a±1,45	9,94bc±0,09	9,29ab±0,85	9,75bc±0,32
	m	12,1a±14,5	0,6b±0,9	7,1ab±0,9	2,5b±3,2
	M.O	6,21a±16,5	4,83b±40,0	5,20b±64,8	3,71b±4,5
<b>ppm</b>	C	36a±9,6	28b±23,2	30,1b±37,6	21,5b±2,6
	P	0,66a±1,32	4,76ac±8,53	22,89bc±14,28	13,0c±12,31
<b>g/ kg</b>	Areia	49,6a±4,0	41,6b±1,9	37,2c±2,8	42,3b±92,2
	Silte	26,2a±3,4	35,3b±2,5	41,2c±3,0	35,5b±2,5
	Argila	24,25a±1,70	22,7a±1,52	21,65b±2,41	22,25b±2,83

**Nota:** apresentação das médias (N=10) ± D.P das análises químicas e físicas de todos os pontos amostrados nos quatro sistemas de uso do solo, parcelas 1 e 2. As diferenças entre os pontos foram determinadas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Diferenças estatisticamente significativas estão representadas por letras diferentes.

**Legenda:** SB= soma das bases; m%; M.O= matéria orgânica.

### 3.2 Riqueza e abundância de enquitreídeos

Os resultados da abundância de enquitreídeos nas amostras dos diferentes SUS avaliados estão apresentados na Figura 4. Foi observada diferença significativa entre a abundância de enquitreídeos de FN em relação à área com LC, com abundância significativamente maior em FN. Os sistemas OO e OC apresentaram valores intermediários de abundância, sendo o sistema OO com valor de abundância levemente superior ao OC.



**Figura 4–** Abundância média de enquitreídeos ( $\pm$  d.p) em cada SUS avaliado. Diferenças estatísticas entre os SUS estão representadas por letras diferentes, após análise de Variância não paramétrica Kruskal-Wallis, Dunnet;  $p=0,05$ ).

Nota: FN= Floresta Nativa; OO= Olericultura Orgânica; OC=Olericultura Convencional e LC= Lavoura Convencional.

Verificou-se, desta forma, que a umidade é fundamental para que os enquitreídeos possam sobreviver e reproduzir, mas sua resposta não é proporcional ao aumento da umidade. Podemos verificar que no Hemisfério Sul essa relação foi confirmada, pois maiores abundâncias foram observadas nos sistemas FN1 e OO1, sistemas com umidades diferenciadas, indicando que a umidade não seja o principal fator atuante na abundância destes organismos.

Os resultados da riqueza de gêneros de enquitreídeos nas amostras dos diferentes sistemas de uso do solo estão apresentados na Figura 5. Foi possível observar que o número de gêneros de enquitreídeos identificados no sistema FN (6 gêneros: *Tupidrilus*, *Hemienchytraeus*, *Guaranidrilus*, *Fridericia*, *Enchytraeus* e

*Achaeta*) foi superior ao número de gêneros identificados no sistema LC (2 gêneros: *Enchytraeus* e *Achaeta*, com predominância destacada para o gênero *Achaeta*). Nos sistemas de Olericultura Orgânica e Convencional (OO e OC) foram encontrados os gêneros *Enchytraeus*, *Achaeta* e *Hemienchytraeus*.

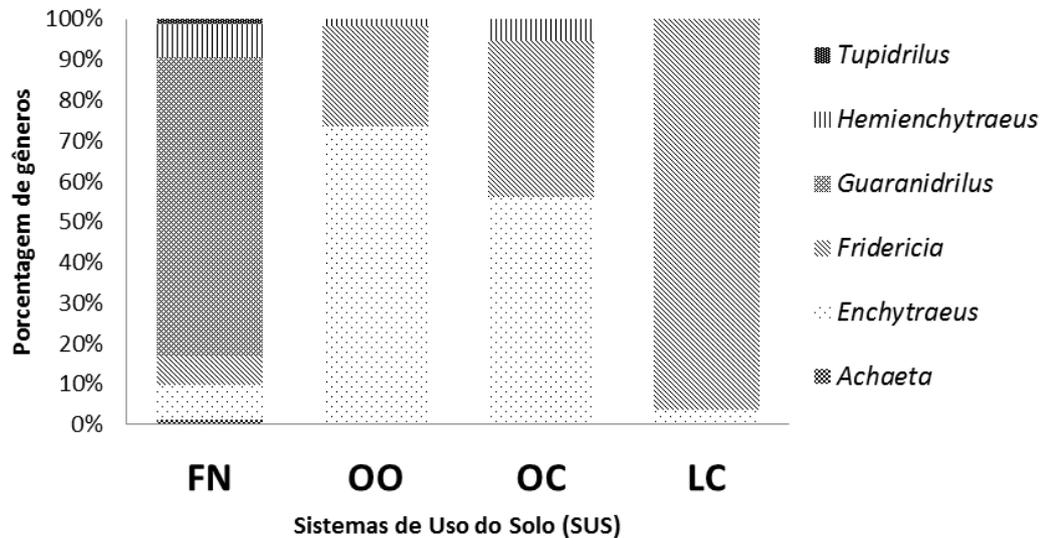


Figura 5 – Representação da diversidade de enquitreídeos na distribuição dos gêneros encontrados nos sistemas de uso do solo.

### 3.3 Correlações entre enquitreídeos, sistemas de uso do solo e atributos físico-químicos

A análise de componentes principais (Figura 6) auxilia na confirmação das informações observadas nas demais interpretações. Mostra com clareza que o Sistema de uso de solo (SUS) FN possui a maior abundância e diversidade de enquitreídeos, o que é confirmado pelo índice de Shannon ( $H'$ ) (Tabela 5). No sistema OC foi evidenciado o equilíbrio numérico entre os gêneros, o que se confirma com o índice de Equabilidade de Pielou ( $J$ ), ainda em OC houve maior ocorrência do gênero *Enchytraeus*.

Tabela 5 – Índices ecológicos de Abundância, Diversidade de Shannon, Equabilidade de Pielou e Riqueza.

	Frid.	Enchy.	Hemie.	Guar.	Achae.	Tupid.	ABU	H'	J	R
FN	1,25	1,25	1,5	12,75	0,25	0,25	25,25	0,29	0,61	2,75
OO	3,75	12,5	1,75	-	-	-	20,5	0,09	0,22	1,75
OC	6,0	10,75	0,50	-	-	-	20,25	0,20	0,59	2,0
LC	10,25	0,25	-	-	-	-	15,25	0,02	0,06	1,25

Nota: Os índices apresentados foram determinados por amostragem com médias (n=4).

Frid. (*Fridericia*), Enchy. (*Enchytraeus*), Hemie. (*Hemienchytraeus*), Guar. (*Guaranidrilus*), Achae. (*Achaeta*), Tupid. (*Tupidrilus*).

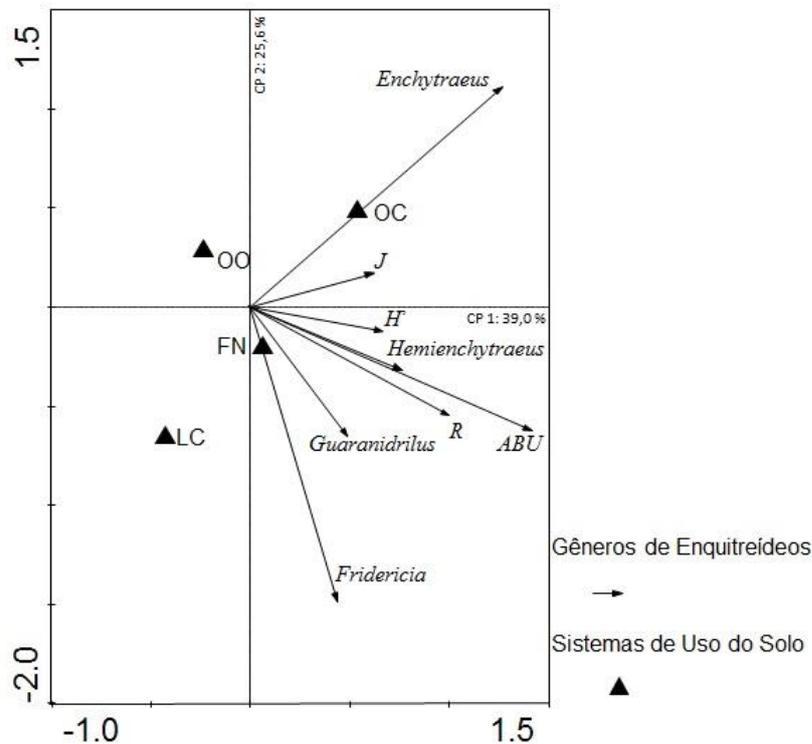


Figura 6 – Relação entre o principal componente 1 (PC 1) e o componente principal 2 (PC 2), considerando o sistema de uso do solo, a diversidade de gêneros de enquitreídeos ( →) e os atributos selecionados e os índices ambientais ( →) no período de jan/14 na região sudeste do Paraná, Brasil. (Índices ecológicos: R=Riqueza, ABU=Abundância, H'=Diversidade de Shannon e J=índice de Pielou).

A Análise de Redundância (Figura 7) mostra as correlações significativas de atributos físico-químicos (Ca, K, P e temperatura) com os gêneros de enquitreídeos. Os gêneros *Guaranidrilus*, *Tupidrilus*, *Hemienchytraeus* e *Achaeta* possuem correlação com os teores de cálcio (Ca) e potássio (K). Os gêneros *Fridericia* e *Enchytraeus* possuem correlação com a temperatura do solo, enquanto que a

riqueza, abundância e os índices de Shannon e Pielou possuem correlação negativa com os teores de potássio e fósforo.

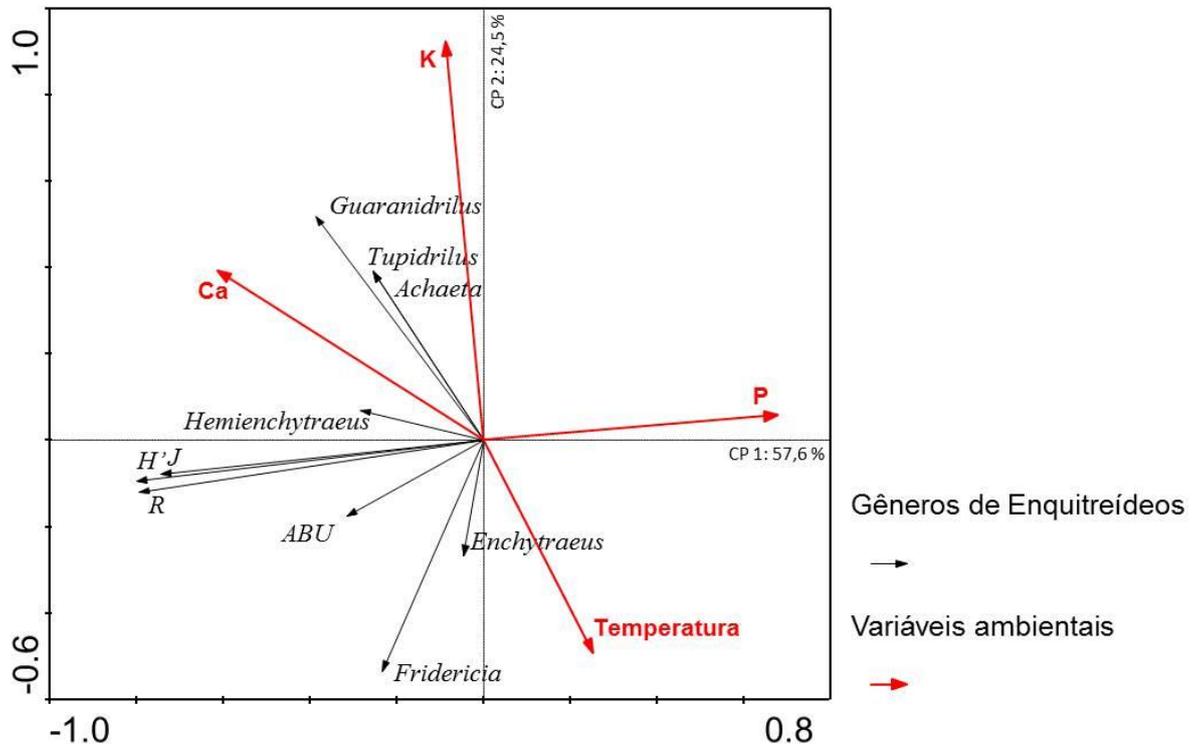


Figura 7 – Análise de Redundância entre as variáveis biológicas (→), e as variáveis ambientais selecionados (→) no período de jan/14 na região sudeste do Paraná, Brasil. (Atributos biológicos: gêneros de enquitreídeos (*Guaranidrilus*, *Tupidrilus*, *Hemienchytraeus*, *Achaeta*, *Enchytraeus* e *Fridericia*); Índices ecológicos: (R=Riqueza, ABU=Abundância, H'=Diversidade de Shannon e J=Índice de Pielou). (Atributos físicos químicos do solo: P= fósforo, Ca= cálcio, K=potássio e a temperatura).

#### 4. DISCUSSÃO

Enquitreídeos são dependentes da disponibilidade de matéria orgânica, como restos culturais, serrapilheira, compostos orgânicos, porém, alguns tipos podem alterar bruscamente o pH trazendo prejuízos aos enquitreídeos, como é o caso de esterco de suínos (DIDDEN & RÖMBKE, 2001). Os valores encontrados nos diferentes SUS avaliados por esse trabalho, em relação à matéria orgânica, apresentam diferenças entre FN e LC.

Em alguns estudos já se observaram a elevação da abundância de enquitreídeos após a aplicação de fertilizantes inorgânicos, como os NPK em suas

diferentes fórmulas presentes no mercado (HUTHA *et al.*, 1986; UTROBINA, 1976; HOTANEN, 1986; NAKAMURA, 1988). Porém, em outros estudos, MARSHALL (1974) reportou uma redução significativa na distribuição de enquitreídeos após uma única aplicação de ureia 45% ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ), e HUTHA (1984) encontrou efeitos similares com uso de ureia (45% N) e com nitrato de amônia 34% de N, ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ).

Nas áreas de sistema LC a cultura instalada por ocasião das amostras era o milho, como gramínea, altamente exigente em nitrogênio. Nessas lavouras foram empregados 250 kg/ha de ureia, o que possivelmente contribuiu para a diminuição da abundância de enquitreídeos. STANDEN (1982) também encontrou uma correlação negativa entre a distribuição de espécies de enquitreídeos com as quantidades aplicadas de nitrato e sódio.

Isto leva a considerar que o uso frequente do NPK e dos fertilizantes nitrogenados favorecem a acidificação e a salinização do solo, influenciando negativamente a abundância e a composição de enquitreídeos. A monocultura contribui para a seleção de espécies de plantas e para um homogêneo e escasso resíduo cultural, desta forma diminuindo a oferta de nichos para os enquitreídeos, assim, diminuindo sua diversidade (DIDDEN & RÖMBKE, 2001).

O uso de fertilizantes de base, como o NPK e os nitrogenados, tem sido crescente nas últimas safras, até mesmo no cultivo de leguminosas tem sido usados fertilizantes nitrogenados (EMATER-PR, 2013), e isso pode estar contribuindo para a redução da abundância e até mesmo da riqueza de enquitreídeos nas áreas estudadas.

Enquitreídeos possuem preferências por pH. Por exemplo, o *Enchytraeus albidus* responde com melhores taxas de natalidade a um pH entre 6,8 – 7,0, o que difere da espécie *Enchytraeus crypticus*, que por sua vez prefere ambientes mais ácidos, com pH entre 4,8 – 6,5, não tolerando apenas pH abaixo de 4,0 (ACHAZI *et al.*, 1996). Ambas as espécies não são nativas do Brasil, mas tal característica sugere que espécies do Hemisfério Sul também podem apresentar comportamento e preferências específicas, como pH, que não demonstrou diferenças estatísticas entre os SUS, porém, em FN foi encontrado o menor valor de pH (4,04) e a maior abundância. Além disso, no sistema FN houve a ocorrência de dois gêneros diferentes dos demais, o *Tupidrilus* e *Achaeta*.

Houve diferença significativa entre a abundância de enquitreídeos encontrada em FN em relação à área de LC, o que sugere um possível efeito das práticas de

manejo, como o revolvimento do solo e a pulverização de insumos, sobre esses organismos. Logo, a maior abundância de *Enchytraeus* ocorreu em OC o que denuncia uma possível maior adaptação a alterações, como de pH, baixa disponibilidade de potássio e alta disponibilidade de fósforo em comparação com os outros SUS (Figura 7).

O revolvimento do solo é uma atividade que expõe a camada superficial à ação da radiação solar, prática que também pode trazer danos às condições ideais de ocorrência de enquitreídeos, sobretudo na alteração da umidade, porém, VAN VLIET (1997) em experimentos na Geórgia, EUA, encontrou maiores abundâncias em solos onde havia o revolvimento, bem como uma melhor distribuição vertical.

Essa diferença na diversidade de espécies entre os SUS provavelmente ocorra devido a algumas espécies possuírem maiores sensibilidades a perturbações, como o contato com os insumos utilizados na agricultura, como visto em NAKAMURA (1988); HUTHA *et al.*, (1986); HUTHA (1984); STANDEN (1982); UTROBINA (1976) E MARSHALL (1974).

Na PCA (Análise de Componentes Principais) (Figura 6) o número de gêneros parece demonstrar a preferência natural de enquitreídeos por ambientes pouco perturbados (FN), e também sugere aqueles gêneros que são mais tolerantes as interferências no meio.

Em um dos poucos estudos realizados na América do Sul, mais precisamente no Brasil, litoral norte paranaense, Römbke *et al.* (2007) encontraram uma composição e distribuição semelhantes às encontradas no presente estudo. O gênero *Achaeta* foi encontrado em maiores abundâncias em estágios sucessionais e em floresta primária, *Enchytraeus* e *Frideria* em áreas antropizadas (pastagens), *Hemienchytraeus* em estágios avançados de sucessão e *Guaranidrilus* em floresta primária.

Na Análise de Redundância (RDA) (Figura 6) os gêneros *Tupidrilus*, *Achaeta* e *Guaranidrilus* aparecem correlacionados aos índices de Ca e K, o que confirma os dados físicos e químicos, com maiores concentrações encontradas em FN, sistema onde esses ocorrem.

Segundo Jänsch *et al.* (2005) o gênero *Achaeta* está associado à ambientes florestais na Europa, denotando mesma preferência na América do Sul, assim como os gêneros *Fridericia* e *Enchytraeus* parecem preferir ambientes antropizados como pastagens e lavouras revolvidas, o que se confirma no presente estudo. Essa

suposta preferência também esta relacionada com a temperatura: Fridericia esta mais relacionado com LC e Enchytraeus com OC e OO, que apresentaram temperaturas mais altas e umidade mais baixas, ainda que os mesmos tenham ocorrido em floresta, suas abundâncias foram mais representativas em áreas de lavouras.

## **5. CONCLUSÕES**

Os resultados das análises realizadas mostram que o manejo empregado nos diferentes SUS interferem não só na abundância como também na composição dos gêneros de enquitreídeos. As diferentes condições impostas pelos SUS demonstram haver preferências específicas entre os gêneros de enquitreídeos, sobretudo quando comparando ambientes conservados (FN) com ambientes antropizados (OO, OC e LC).

Solos mais férteis com capacidade de troca catiônica mais alta e elevados teores de matéria orgânica são preferidos por enquitreídeos.

Sistemas de uso do solo, que não contemplam o uso de insumos como fertilizantes sintéticos e agrotóxicos apresentam maior abundância e diversidade de enquitreídeos.

## CAPÍTULO II - EFEITO DO SOLO DE ÁREAS CULTIVADAS E DO HERBICIDA ROUNDUP WG® SOBRE A REPRODUÇÃO DE UMA ESPÉCIE AUTÓCTONE DE ENQUITREÍDEO

### RESUMO

Os sistemas agrícolas, através dos manejos adotados pelo homem, podem comprometer a qualidade biológica do solo devido aos possíveis efeitos deletérios sobre organismos que mantêm a funcionalidade do solo. Ensaios de laboratório com organismos ecologicamente relevantes podem auxiliar na compreensão de quais fatores antropogênicos tem maior ou menor impacto sobre a qualidade do solo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de uma espécie autóctone de enquitreídeo como organismo teste através de ensaios ecotoxicológicos de efeito sobre a reprodução com solo de áreas agrícolas e natural em Quitandinha, município tipicamente agrícola da região metropolitana de Curitiba-PR. O herbicida Roundup WG, cujo princípio ativo é o glifosato, é o mais utilizado na região estudada e, muitas vezes, o seu uso acontece de maneira inadequada, em quantidades superiores às recomendadas pela bula do produto. Portanto, estudou-se também o efeito sobre a reprodução de enquitreídeos em ensaios contaminados com essa formulação comercial, em solo artificial tropical (SAT). A espécie utilizada *Enchytraeus sp.*, foi originalmente coletada na região e cultivada em laboratório. Avaliou-se o possível efeito de solos de áreas agrícolas sobre a reprodução dessa espécie. Solos de quatro sistemas de uso do solo (SUS) típicos da região foram escolhidos: FN (Floresta Nativa), OO (Olericultura Orgânica), OC (Olericultura Convencional) e LC (Lavoura Convencional de grãos), submetidos a diferentes manejos, inclusive o uso de agrotóxicos, nominalmente o glifosato, foram testados. O efeito da formulação comercial de glifosato mais popular na região também foi testado em solo artificial tropical (SAT) nas concentrações 0, 75, 150, 300, 600 e 1200 mg/kg<sup>-1</sup> da formulação comercial, com base na concentração média recomendada pelo fabricante e nas práticas dos agricultores da região. Os solos do sistema de produção orgânica e da floresta nativa apresentaram desempenho reprodutivo maior dos enquitreídeos do que os sistemas convencionais, sugerindo condições mais favoráveis à reprodução do enquitreídeo *Enchytraeus sp.* No ensaio com SAT, em todos os tratamentos observou-se um número de juvenis estatisticamente inferior ao grupo controle, sugerindo que mesmo concentrações dentro da faixa recomendada podem ter efeito negativo sobre a população de enquitreídeos. Conclui-se que a espécie utilizada foi útil como organismo teste em ensaios ecotoxicológicos em laboratório, cujos resultados demonstraram que o tipo de prática agrícola pode impactar a cadeia trófica do solo e que o glifosato deve ser utilizado com cautela devido aos possíveis efeitos adversos sobre a biota deste ecossistema.

**Palavras-chave:** Glifosato. Mesofauna. Qualidade biológica do solo. Efeitos ecotoxicológicos.

## 1. INTRODUÇÃO

Em 2009 o Brasil ultrapassou a quantia de 1 milhão de toneladas de agrotóxicos comercializados, os dados foram divulgados pelo Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), e segundo a ANVISA, 30% deste total são produtos a base de glifosato (LONDRES, 2011).

Ainda que os agrotóxicos não sejam a única fonte de contaminação, há que atentar para sua contribuição à poluição de ar, solo e água, pois grande parte do volume aplicado não atinge o alvo, que é a planta, mais de 40% tem outros destinos, como solo e a água (NUNES, 2010).

A fauna edáfica tem reconhecido papel para diversos processos, o que contribui sobremaneira na fertilidade do solo (DORON, 2002).

Segundo LAVELLE (2006) a biodiversidade do solo pode chegar a 23% de todas as espécies já conhecidas, abrigando organismos de reinos diferentes como bactérias, fungos e predominantemente os invertebrados, entre eles os enquitreídeos.

É reconhecida a importância dos enquitreídeos para a decomposição da matéria orgânica, sobretudo nas camadas mais superficiais do solo contribuindo assim para a ciclagem dos nutrientes, corrobora para a microporosidade do solo devido ao hábito de construir galerias para seu deslocamento (RÖMBKE, 1991; LAAKSO & SETÄLÄ, 1999; VAN VLIET *et al.*, 2004; SCHRADER *et al.*, 1997; LANGMAACK *et al.*, 1999). Sua atividade trófica contribui na regulação positiva de microrganismos (HEDLUND & AUGUSTSSON, 1995), contudo o conhecimento sobre a ecologia e biologia da família Enchytraeidae nos trópicos/ subtropicos ainda carece de estudos (RÖMBKE, 2007).

O solo é um ecossistema heterogêneo, dinâmico e complexo. Os seus componentes físicos, químicos e biológicos constituem a base da produção vegetal, seja ela agrícola, florestal ou natural. Cada um destes componentes compreende vários atributos que estão continuamente interagindo entre si e conseqüentemente afetando a produção vegetal que também os influencia, assim como o clima e o manejo com efeitos em todos eles (MOREIRA, 2014).

Entende-se como funcionalidade do solo, seu papel como hábitat de organismos vivos, a produção de alimentos e outros bens de consumo, mantendo o ciclo das águas e dos nutrientes, servindo com um filtro natural, onde haja adsorção, degradação e transformação de substâncias químicas e biológicas, protegendo as águas superficiais e subterrâneas (DORAN, 2002), contudo, apresentando ainda a capacidade de resistir e se recuperar de perturbações sofridas, como tão resiliente deve ser (GRIFFITHS *et al.*, 2001) .

No capítulo anterior, a abundância de enquitreídeos foi menor em sistemas agrícolas, especialmente aquelas sob o manejo convencional, sugerindo que um ou mais fatores associados à atividade agrícola podem interferir na dinâmica populacional desses organismos favorecendo alguns gêneros e prejudicando outros. Nos sistemas agrícolas avaliados, o uso de agrotóxicos e fertilizantes químicos é comum em áreas de cultivo convencional. Muitas vezes, a quantidade de agrotóxicos e frequência de aplicação vai muito além do recomendado pelo fabricante e profissionais que dão assistência. A pergunta que se faz é se o uso de agrotóxicos em doses exageradas causa algum efeito deletério sobre os enquitreídeos na região estudada. Para tanto, o ensaio ecotoxicológico para avaliação do efeito de substâncias sobre a reprodução de enquitreídeos NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012) pode ser útil.

No capítulo anterior verificou-se que em áreas onde se pratica o manejo convencional de solo, a abundância de enquitreídeos foi menor do que em áreas de Floresta Nativa e Olericultura orgânica, de tal forma que essas diferenças devem ser investigadas para se buscar respostas que expliquem essas causas, analisando os solos destas áreas em ensaios de reprodução de enquitreídeos.

O objetivo do presente capítulo foi avaliar as causas da redução na reprodução de enquitreídeos em solos cultivados especialmente os quatro SUS analisados no capítulo I, bem como o possível efeito do herbicida Roundup WG<sup>®</sup> sobre enquitreídeos, em concentrações baseadas nas recomendações do fabricante e utilizadas por agricultores em uma região tipicamente agrícola no Estado do Paraná.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Ensaio com solo natural

Primeiramente foram coletadas amostras de solo nos mesmos pontos das áreas de estudo do capítulo I, perfazendo um total de oito áreas, em quatro SUS, sendo Floresta Nativa (FN), Olericultura Orgânica (OO), Olericultura Convencional (OC) e Lavoura Convencional (LC), com repetições verdadeiras. A repetição verdadeira é uma metodologia que auxilia a compreensão dos eventos estudados ampliando o número de amostras em áreas com o mesmo SUS (BARTZ *et al.* 2014; BARETTA *et al.* 2014).

As amostras dos solos das áreas de Floresta Nativa (FN) foram utilizadas como controle, uma vez que nestas foram encontradas as maiores abundâncias e maior diversidade de enquitreídeos, conforme apresentado no capítulo I.

As amostras foram coletadas de 0 a 10 cm de profundidade, desfaunadas por 3 ciclos de congelamento a - 20 °C e descongelamento repetidos por 3 vezes, retirando-se fragmentos de vegetais e pedras.

Foi calculada a CMRA (capacidade máxima de retenção de água), seguindo as orientações da ISO 11.266-2/96; NBR 16.387.

### 2.2 Substância de Referência

Para verificar se a resposta dos organismos-teste das culturas utilizadas se manteve ao longo do tempo e se as condições do laboratório estão adequadas, a norma NBR/ ISO 16387 (ABNT, 2012) recomenda que se faça teste com uma substância referência, nesse caso o carbendazim ( $C_9H_9N_3O_2$ ). O efeito do carbendazim sobre a reprodução é utilizado para se monitorar a sensibilidade dos organismos testes. O ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) tem substituído o carbendazim na Europa, pois este último teve sua comercialização proibida nesse continente. Na versão atualizada da norma ISO 16387 de 2014, o ácido bórico já é recomendado como substância referência (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2014) (NIVA & BROWN, *in press*).

As concentrações de ácido bórico testadas foram: 50, 75, 100, 125 e 150 mg kg<sup>-1</sup> de SAT.

### 2.3 Solo Artificial Tropical (SAT)

O substrato recomendado para a realização de ensaios ecotoxicológicos é o solo artificial OECD (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1984). No entanto, alguns autores tem adaptado a composição deste substrato para as condições ambientais brasileiras (RÖMBKE *et al.*, 2007; GARCIA *et al.*, 2011), sendo então denominado como Solo Artificial Tropical (SAT) o qual é recomendado pela NBR/ISO 16387/2012 (ABNT, 2012).

Constituído de mistura de areia fina lavada (75%), caulim (20%) e pó de fibra de coco triturada (5%) (Figura 1).



**Fig. 1 – Solo Artificial Tropical e seus constituintes. (1) Areia fina, (2) caulim, (3) fibra de coco triturada e (4) SAT pronto.**

Fonte: O autor.

Apesar da recomendação de 10% de fibra de coco, optou-se por utilizar 5%, pois é a tendência internacional e também porque a média dos teores de matéria orgânica da área estudada (cap. I) foi de 4,95%.

## 2.4 Cultivo dos organismos testes

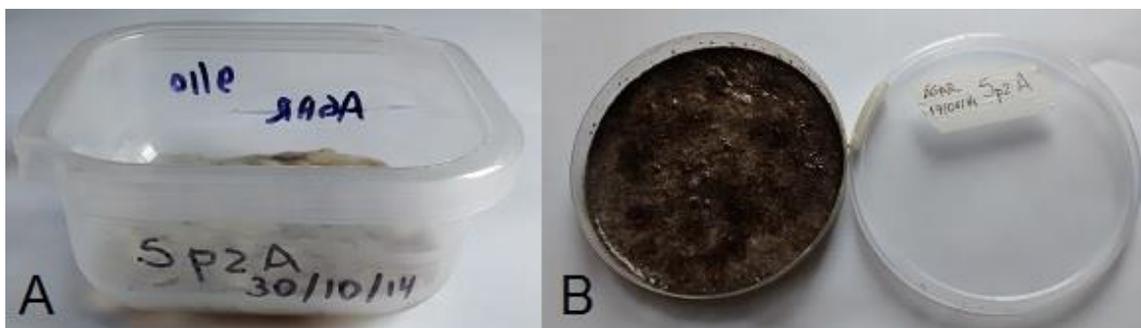
Os organismos foram cultivados em meio de cultura a base de Agar bacteriológico Alphatec (Agar – Agar) a 0,8% (kg/L).

A manutenção foi feita semanalmente com a hidratação e alimentação dos organismos. Em todo o cultivo deve ser usada água mineral e a alimentação é feita com aveia finamente moída e esterilizada (ISO 16.387, 2004).

O recipiente para o cultivo pode ser desde uma placa de Petri como uma vasilha plástica (figura 2A). O volume do substrato deve ocupar 2 cm do fundo do recipiente.

A quantidade de aveia a ser ministrada deve ser cuidadosamente observada para que evite o excesso, uma vez a fermentação do excedente de alimento no cultivo pode competir pelo oxigênio no interior do recipiente e alterar o pH.

Pelo menos 24 horas antes do início do ensaio os organismos deverão ser submetidos à aclimação em cultivo contendo Solo Artificial Tropical (SAT). O cultivo também poderá ser realizado usando SAT como substrato (figura 2B).



**Fig. 2 – Cultivo de enquitreídeos desenvolvido em Agar e em Solo Artificial Tropical (SAT). Cultivo em Agar - Agar a 0,8 % (A) e em Solo artificial tropical (B). Fonte: O autor.**

## 2.5 Ensaio Ecotoxicológicos

Foram realizados três ensaios usando o Solo Artificial Tropical (SAT). Dois com glifosato e um com ácido bórico, substância de referência padronizada para

ensaios de reprodução com enquitreídeos. Outro ensaio foi realizado usando o solo natural dos quatro Sistemas de Uso do Solo (SUS) estudados no capítulo I.

O pH do SAT foi aferido em triplicata apresentando o valor média de 5,6 o que não necessitou de ajuste, o pH ideal para os ensaios é próximo de 6,0 (NBR/ISO 16387:2012).

No ensaio com solo natural foram usados 5 frascos para cada área dos diferentes SUS, onde FN foi considerado como controle. No ensaio com a substância de referência realizado com SAT, foram usados 5 frascos por concentração e 5 para o grupo controle. No ensaio com glifosato realizado com SAT, foram usados 4 frascos para cada concentração e 8 para o controle.

Um dia antes do ensaio, o substrato foi umedecido com metade da umidade recomendada pela norma, ou seja, 25% da CMRA usando água destilada. No dia seguinte foi preparada a solução contaminante com a metade do solvente faltante para completar os 50% da capacidade de retenção de água do substrato usado.

Foram utilizados frascos plásticos do tipo coletor de material para análise de 80 ml, com as tampas furadas com auxílio de um alfinete, permitindo as trocas gasosas.

O conteúdo de SAT ou de solo natural por frasco foi de aproximadamente  $\pm$  20 g de massa úmida e 0,03 g de aveia moída foi adicionada por frasco para alimentação dos organismos.

Paralelamente, os organismos para o ensaio, indivíduos adultos, sadios, perfeitos, clitelados, foram separados em grupos e 10 indivíduos foram submetidos por frasco.

Em todos os ensaios foram preparados 2 frascos para cada concentração para o acompanhamento de possíveis alterações do pH, no início e no término do ensaio após 21 dias.

A temperatura do ambiente onde foi desenvolvido o ensaio foi mantida a  $22 \pm 4^\circ\text{C}$  em sala fechada. Semanalmente os frascos foram pesados e a umidade foi corrigida e a alimentação foi ministrada com 0,02 g de aveia moída por frasco.

Ao final do ensaio, após 21 dias, o pH foi aferido e os demais frascos foram inundados com solução alcoólica 100% fixando os organismos e corando-os com solução alcoólica Rosa Bengala a 10% (3 gotas por frasco) (NBR/ISO 16387:2012).

A contagem iniciou-se 24 h após a fixação, para melhorar a eficiência do corante. Para a verificação da validade do ensaio os primeiros frascos a serem

contados foram os do grupo controle, com auxílio de um microscópio estereoscópio (Leica). Os critérios de validação do ensaio é o número de juvenis maior que 50 indivíduos por frasco e o coeficiente de variação menor que 50% no recipiente controle.

O organismo teste utilizado foi a espécie Enquiteídeo (ENCHYTRAEIDAE, OLIGOCHAETA), *Enchytraeus sp.*, originalmente coletada na região metropolitana de Curitiba-PR, e cultivada em laboratório. Avaliou-se o efeito sobre a reprodução com metodologia baseada no protocolo NBR/ISO 16387/2012 (ABNT, 2012) com o tempo de exposição reduzido para 21 dias e temperatura de  $22 \pm 4^\circ\text{C}$ .

O substância química empregada foi o Roundup WG<sup>®</sup> cujo princípio ativo é o glifosato, herbicida dessecante não seletivo, ou seja recomendado para dessecação de qualquer tipo de planta. A formulação comercial do produto constitui-se de sal de amônio de glifosato 792,5 g/kg, equivalente ao ácido de N – (fosfometilo) glicina e outros ingredientes inertes com 207,5 g/kg.

No campo o Roundup WG<sup>®</sup> tem seu uso recomendado na concentração média de 1,5 kg por hectare, segundo o fabricante, que se baseia na diversidade e no estágio de desenvolvimento das plantas presentes na área a ser dessecada. Porém, há relatos de agricultores que utilizam até 20 l/ha/ano de Roundup WG<sup>®</sup>, ou seja, 15,84 kg de glifosato/ha/ano (EMATER-PR, 2014).

Para os ensaios com Glifosato foram utilizadas duas concentrações abaixo e duas acima da média recomendada, a qual, segunda a bula do produto comercial é de 1,5 kg/ha.

## 2.6. Tratamento dos dados

Os resultados numéricos tiveram o Desvio Padrão calculados, para melhor compreender as variações entre as repetições. A metodologia estatística foi ANOVA seguida de teste de Dunnett  $p=0,05$  ou Análise não paramétrica Kruskal-Wallis conforme distribuição dos dados para comparação dos tratamentos com o controle.

Para o cálculo da concentração efetiva mediana, modelos de regressão não lineares foram aplicados aos dados em um software estatístico (STATISCA 7<sup>®</sup>).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Ensaio com solo natural

Enquitreídeos submetidos a solos naturais provenientes de diferentes Sistemas de Uso de Solo (SUS) (figura 3), produziram mais juvenis em solos de floresta nativa (FN) do que em solos de áreas agrícolas, razão esta que FN foi usada como grupo controle; porém, a diferença só foi significativa nos solos provenientes de olericultura e lavoura que adotam o manejo convencional com uso de insumos agrícolas. O número de juvenis após 21 dias atingiu a redução máxima de 43% em relação ao controle (FN) em solos de lavoura convencional (tabela 1).

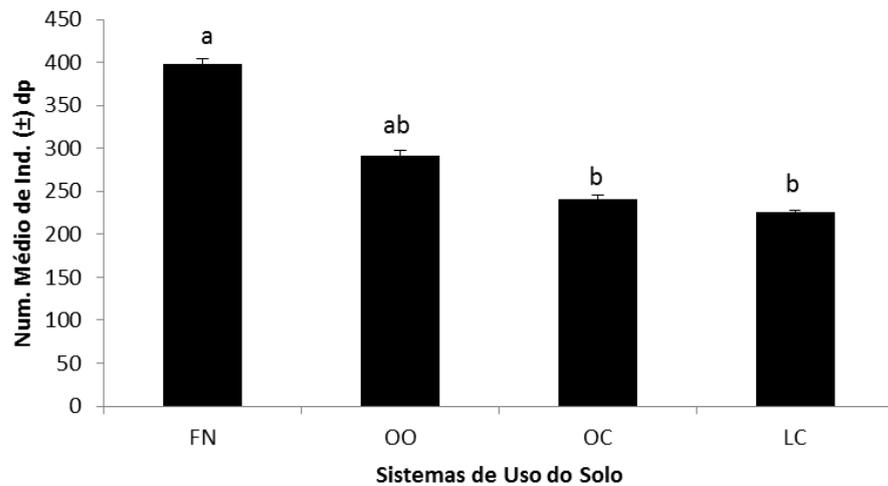


Fig. 3 – Número médio (n=5) de juvenis produzidos após 21 dias de incubação em solos naturais provenientes de áreas de floresta nativa (FN), olerícola orgânica (OO), olerícola convencional (OC) e lavoura convencional. Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas (Kruskal-Wallis, teste H),  $p = 0,05$ .

Tabela 1 – Ensaio de adaptação de enquitreídeos em solo das áreas estudadas

Sistema de Uso do Solo – SUS	Num. Indivíduos (média ± D.P)	% Redução Repr.
FN (Controle)	397,8a ± 51,98	0a
OO	291,9ab ± 36,64	26,6ab
OC	240,7b ± 16,12	39,5b
LC	227,8b ± 22,59	42,7b

Nota: apresentação das médias e desvio padrão (média ± DP) do número de indivíduos com a taxa de redução na reprodução em comparação à maior média de indivíduos encontrada (=0% de redução), após 21 dias de exposição (n= 5). Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas após análise não paramétrica (Kruskal-Wallis, teste H), p= 0,05.

### 3.2 Ensaio com a substância de referência

O ensaio com a substância de referência (figura 4) é realizado para averiguar a sensibilidade dos organismos aos contaminantes uma vez que a faixa de concentrações que causa toxicidade da substância de referência já é conhecida.

Os critérios de validação do ensaio com a substância de referência (coeficiente de variação menor que 50% e número de juvenis maior que 50 no grupo controle) foram atendidos, neste caso o coeficiente de variação (CV%) do controle foi de 7,5% (média de indivíduos/ desvio padrão) e a média de organismos no grupo controle foi de 345 indivíduos.

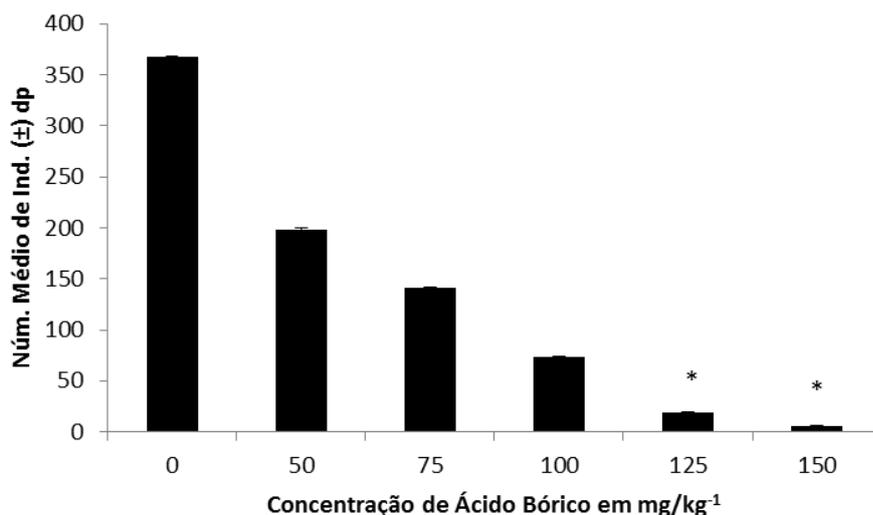


Figura 4 - Ensaio de reprodução de enquitreídeos com a espécie *Enchytraeus sp.* usando o Ácido Bórico como substância de referência. Diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle (Kruskal-Wallis, teste H), p= 0,05.

**Tabela 2 – Valores resultantes do ensaio de avaliação da reprodução de enquitreídeos expostos ao Ácido Bórico ( $H_3BO_3$ ).**

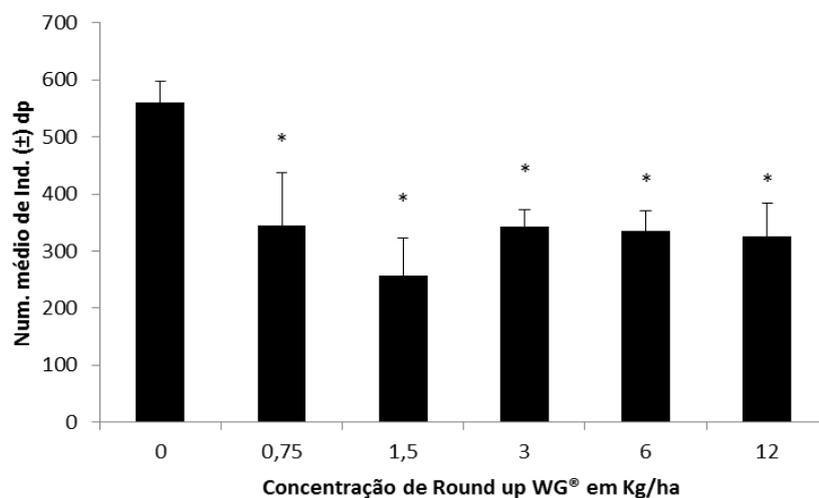
Concentração (mg./kg)	Num. Indivíduos (média ± D.P)	% Redução Repr.	C.V%
Controle	367,4a ± 56,2	0a	15,3
50	198,4a ± 28,1	39,3a	14,2
75	141a ± 19,8	60,4a	14,0
100	72,8a ± 15,0	78,2a	20,6
125	18,4b ± 6,6	94,6b	35,7
150	5,6b ± 2,07	98,5b	37,0

Nota: apresentação das médias (n=5) e desvio padrão (média ± DP) do número de indivíduos com a taxa de redução na reprodução em comparação com o grupo controle (= 0%), após 21 dias de exposição. Apresentação do Coeficiente de variação (CV%). Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas com a metodologia não paramétrica Kruskal-Wallis.

### 3.3 Ensaio com glifosato (Roundup WG<sup>®</sup>)

No ensaio com a formulação comercial Roundup WG<sup>®</sup> verifica-se que todas as concentrações comparadas ao grupo controle, cujo solo não foi tratado com Roundup, diferiram estatisticamente, conforme a figura 5 e os dados apresentados na tabela 3.

Entretanto, todas as concentrações testadas apresentaram resultado semelhante, o que impossibilitou o cálculo da  $CE_{50}$ , CENO E CEO.



**Fig. 5 – Número médio de juvenis produzidos em SAT sem e com adição de Roundup WG<sup>®</sup>. Barras marcadas com asterisco representam diferenças estatísticas significativas comparadas ao grupo controle, com a metodologia não paramétrica Kruskal-Wallis, teste de H (p=0,05).**

Na tabela abaixo se encontram os valores médios para cada concentração analisada.

**Tabela 3 – Valores resultantes do ensaio de reprodução de enquitreídeos expostos ao Roundup WG® em diferentes concentrações**

Concentração Round up WG® (kg/há <sup>-1</sup> )	Num. Indivíduos (média ± D.P)	% Redução Repr.	C.V%
Controle	560a ± 34.1	0a	6,1
0,75	344.5b ± 80.6	38.5b	23,4
1,50	256.25b ± 57.92	54.2b	22,6
3,0	343.5b ± 25.0	38.6b	7,3
6,0	335.75b ± 29.3	40b	8,7
12,0	326.25b ± 49.5	58.2b	15,2

**Nota:** apresentação das médias, desvio padrão (média±DP) do número de indivíduos, taxa de redução na reprodução em comparação com o grupo controle (=0%), após 21 dias de exposição (n= 8 para o controle e 4 para todas as concentrações) e coeficiente de variação (dp/médias em porcentagem). Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas (ANOVA, teste de Dunnet p=0,05).

As concentrações acima apresentadas estão baseadas nas dosagens aplicadas na prática, comumente adotadas pelos agricultores do município de Quitandinha-PR (EMATER-PR.).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Ensaio com solo natural

O resultado do ensaio de adaptação corrobora com os dados alcançados na análise da abundância de enquitreídeos do primeiro capítulo deste trabalho (Fig. 3). Nas avaliações de abundância e riqueza a campo, as áreas de floresta nativa (FN) apresentaram as mais altas abundâncias diferindo estatisticamente das áreas de lavoura convencional (LC). Desta maneira sugere-se que esse SUS oferece melhores condições para a reprodução desses organismos em comparação com os solos dos SUS com lavouras convencionais.

Uma vez que as condições naturais de cada amostra dos sistemas de uso do solo foi um dos objetivos a ser investigado neste ensaio, não foi corrigido nenhum atributo de acidez ou fertilidade.

As condições diferenciadas na floresta, pH mais baixo, matéria orgânica mais alta, talvez sejam as causas para uma mais alta taxa de reprodução.

O uso agrícola, com intensa introdução de fertilizantes, agrotóxicos, revolvimento de solo, seleção de espécies (monocultura) promovem importantes alterações na estrutura do solo e nas comunidades de organismos da fauna edáfica, influenciando sua abundância e biomassa (MARCHÃO *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2010).

As alterações físicas do solo podem trazer impactos que comprometam a diversidade e a abundância de enquitreídeos, também resultam na diferença da distribuição do carbono no solo e na diferença nos níveis de umidade no decorrer do ano, devido às mudanças na evaporação do solo (PHILLIPS & PHILLIPS, 1984). A matéria orgânica e a umidade do solo são conhecidas por afetar a distribuição de enquitreídeos (O'CONNOR 1967).

Os atributos químicos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre FN e LC foram o pH mais baixo (4,04 Cmol dm<sup>3</sup>), o potássio (0,05 Cmol/dm<sup>3</sup>) e a matéria orgânica (6,2%) mais altos na floresta, e o fósforo (±17,9 ppm) mais alto nas áreas de lavoura convencional (tab. 4 do capítulo I).

E por fim, o efeito dos agrotóxicos utilizados nos SUS convencionais, tais como o Roundup WG<sup>®</sup> possam explicar os efeitos negativos sobre a reprodução de enquitreídeos, conforme os resultados apresentados na tabela 3.

#### 4.2 Ensaio com a substância de referência (Ácido Bórico).

A análise dos resultados (tabela 2) evidencia que os organismos tiveram as maiores reduções na reprodução, nas concentrações com 125 e 150 mg kg<sup>-1</sup> aos efeitos da substância de referência utilizada em relação ao grupo controle. O valor da CE<sub>50</sub> do ácido bórico para o *Enchytraeus sp.* foi de 56,7 mg kg<sup>-1</sup>, a CENO foi de 100 mg kg<sup>-1</sup> e a CEO foi de 125 mg kg<sup>-1</sup>.

Outros trabalhos apontam resultados diferentes como Amorin *et al.* (2012), Becker *et al.* (2011), porém as concentrações, tempo de exposição, temperatura e tipo de substrato foram diferentes.

No trabalho de AMORIN *et al.* (2012), foi aplicado um ensaio de fuga para enquitreídeos o que não é recomendado pela ISO 16387/2004.

Nestes trabalhos os substratos usados foram OEDC e LUFA 2.2, com teores de matéria orgânica  $\pm$  4 e 10% e o tempo de exposição de ambos foi de 28 dias.

As espécies utilizadas nos três trabalhos também foram diferentes, *E. luxuriosus* e *E. crypticus* no trabalho de Becker *et al.* (2011); *E. albidus* no trabalho de Amorin *et. al* (2012) e *Enchytraeus sp* no trabalho em questão.

#### 4.3 Ensaio com glifosato

Dependendo das condições do solo, sobretudo na quantidade de matéria orgânica e teores de argila o período de meia vida do glifosato pode ser de menos de uma semana até meses (TONI, SANTANA & ZAIA, 2006).

Outros estudos relatam esse período de meia vida com maior precisão, como no estudo de Wauchope *et al.* (1992), onde relatam que a meia-vida do glifosato pode chegar a 174 dias. Enquanto que GIESY, DOBSON & SOLOMON (2000), relatam que a meia-vida do glifosato no solo varia de dois a 197 dias e do AMPA de 76 a 240 dias.

Os pesticidas com uma meia vida de  $\leq$ 60 dias, não são susceptíveis à acumulação, mesmo quando aplicado repetidamente, enquanto uma meia vida de  $>$ 60 dias pode eventualmente resultar em um acúmulo (DIDDEN & RÖMBKE, 2001).

Tanto glifosato como AMPA não foram detectados na determinação por HPLC no trabalho de CASABÉ *et al.* (2007), assim como, levando em conta o período de meia vida, sugere que sua acumulação não seria detectável por um período de 21 dias, como a duração do ensaio de reprodução de enquitreídeos ou até mesmo 56 dias no caso do ensaio com minhocas, porém, os resultados apresentam diferenças comparados ao grupo controle, no número de indivíduos para enquitreídeos e na eclosão dos casulos para minhocas, o que requer estudos mais aprofundados na compreensão destes fatos.

No presente trabalho, a reprodução dos enquitreídeos apresentou redução estatisticamente significativa comparada ao grupo controle em todas as concentrações testadas.

O percentual de redução dos juvenis obtido foi de 38,5 a 58,2% da menor para a maior concentração, incluindo concentrações correspondentes à dose recomendada pelo fabricante que é de 1,5 kg/ha de Roundup WG®.

Tal fato sugere que mesmo doses recomendadas podem ser prejudiciais à qualidade do solo enquanto habitat para a espécie de enquitreídeo utilizada neste ensaio.

CASABÉ *et al.* (2007) testando a toxicidade do glifosato em um solo argiudoll típico (pH 5,7, N orgânico 0,135%, C / N 11,7, 1,30 ppm de Ca, K 305 ppm, Mg 184 ppm, e P 19 ppm ), na sobrevivência e reprodução em minhocas, concluiu que não houve mortalidade significativa ao fim de 56 dias de exposição com 1440 g/ha de ingrediente ativo do FG Roundup (79,2%), porém, houve redução de 41% na eclodibilidade dos ovos em comparação ao grupo controle, supondo um efeito deletério do glifosato na viabilidade dos ovos desses organismos.

No campo o glifosato é amplamente utilizado em sucessivas aplicações, fato este que contribui para o seu acúmulo no solo, assim como já visto em outros trabalhos, tanto o glifosato como seu principal metabólito o AMPA estão presentes em amostras de solo (DIDDEN & RÖMBKE, 2001; APARICIO *et al.* 2013) .

Em estudo de campo realizado na Argentina, com amostras de dezesseis fazendas com atividade agrícola, resultados mostraram a existência da presença de glifosato com 35 a 1502  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de solo e AMPA com 299 a 2256  $\mu\text{kg}^{-1}$  (APARICIO *et al.* 2013).

APARICIO *et al.* (2013) aponta para a presença residual do glifosato e AMPA mesmo em áreas onde nunca receberam aplicações do herbicida, sugerindo seu transporte via deriva, escoamento superficial, ar atmosférico e mesmo pelas chuvas, onde nos dois últimos foram encontrados em <0,01 a 9,1  $\text{ngm}^3$  e 0,1 a 2,5  $\text{mgL}^{-1}$  respectivamente (CHANG, SIMCIK & CAPEL, 2012).

Para ANDRÉA *et al.* (2004), o tempo de exposição é mais importante na bioacumulação do que a concentração do composto aplicado inicialmente no solo, conforme os resultados do seu trabalho, minhocas bioacumularam o glifosato em quantidades maiores quanto maior o tempo de permanência na solo tratado em três

diferentes concentrações, ainda que não se tenha encontrado correlação entre bioacumulação e tempo de exposição.

Esses efeitos, principalmente da deriva das aplicações podem ser amenizados em áreas de florestas devido à presença de espécies de bordadura (lianas), porém, quanto da presença dos contaminantes em água de chuva isso não se tornaria eficiente.

ANDRÉA *et al.* (2004) ajuda a explicar as menores abundâncias de enquitreídeos do presente trabalho em áreas de cultivo convencional devido ao longo tempo de exposição e ao possível acúmulo de glifosato e AMPA.

Fungos e actinomicetos têm suas populações influenciadas aumentando consideravelmente após a exposição ao glifosato. Esses organismos utilizam o glifosato como nutriente e como fonte energia, participando da degradação biológica do produto (ARAÚJO *et al.*, 2003).

De certa forma o acúmulo de glifosato e AMPA no solo podem trazer desequilíbrios na cadeia trófica influenciando a abundância de enquitreídeos, pois ao comparar o número de indivíduos reproduzidos durante o ensaio com solos dos SUS, a abundância de enquitreídeos em FN se apresentou estatisticamente maior do que LC, levando em conta a isenção de aplicações de Roundup WG® em áreas de florestas.

No entanto, o presente ensaio foi realizado em solo artificial, o que pode ter influenciado o resultado. Um ensaio com solo natural (FN) nas concentrações estudadas deve ser realizado e poderão gerar resultados mais realistas, na tentativa de se isentar as amostras da antropização, ao menos no sentido do uso do solo para fins agrícolas e com provável ausência de contaminantes como de Roundup WG®.

## **5. CONCLUSÕES**

Abordagens de campo combinadas com abordagens em laboratório devem ser ferramentas usuais nas diferentes análises de SUS, sobre tudo nos impactos antrópicos ao ecossistema do solo, estabelecendo um elo entre o microcosmo e o macrocosmo.

Ensaio ecotoxicológico utilizando enquitreídeos devem ser mais explorados aumentando o escopo de moléculas de agrotóxicos analisadas.

Estudos em SUS de base agroecológica ou orgânica devem ser mais aprofundados devido à tendência de serem menos impactantes do que os convencionais.

Em ensaios ecotoxicológicos sob condições de laboratório e SAT o glifosato demonstrou ter influência na diminuição das taxas reprodutivas da espécie *Enchytraeus sp.* (ENCHYTRAEIDAE, OLIGOCHAETA).

Novos estudos prevendo ensaios com SAT e com solo natural devem ser realizados com o objetivo de melhor entender os impactos do glifosato e do seu principal metabólito o AMPA.

## REFERÊNCIAS

ACHAZI, R.K. CHROSZCZ, G., PILZ, C., ROTHE, B., STEUDEL, I., and THROL, C. 1996. Der Einfluss des pH-Werts und von PCB52 auf Reproduktion und Besiedlungsaktivitar von terrestrischen Enchytraeen in PARK-, PCB- und Schwemetallbelasteten Boden. Verh. Ges. **Oekol.** 26: 37-42.

ÁGUAS PARANÁ – Instituto das Águas do Paraná. **Sistemas de Informações Hidrológicas – SIH.** Alturas diárias de precipitação (mm) 2015. Curitiba, PR.

ALEGRE, G. F. **Avaliação ecotoxicológica de sedimentos do Rio Tietê, entre os municípios de Salesópolis e Suzano, SP.** Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, USP, São Paulo, 2009.

AMORIM M. J. B.; NATAL-DA-LUZ T. ; SOUSA J. P.; LOUREIRO S. ; BECKER L.; RÖMBKE J.; SOARES A. M. V. M. Boric acid as reference substance: pros, cons and standardization. **Ecotoxicology** 21:919–924, 2012.

ANDRÉA, M.M., PAPINI, S., PERES, T.B.2, BAZARIN, S., SAVOY, V.L.T., MATALLO, M.B. Glyphosate: Influência na Bioatividade do Solo e Ação de Minhocas sobre sua Dissipação em Terra Agrícola. **Planta Daninha**, , v.22, n.1, p.95-100, Viçosa-MG, 2004.

APARICIO, V.C., GERÓNIMO E.D., MARINO D., PRIMOST J., CARRIQUIRIBORDE P. & COSTA J. L. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. **Chemosphere** 93 1866–1873, 2013.

AQUINO, A.M. de; SILVA, R.F. da; MERCANTE, F.M.; CORREIA, M.E.F.; GUIMARÃES, M. de F.; LAVELLE, P. Invertebrate soil macrofauna under different ground cover plants in the no-till system in the Cerrado. **European Journal of Soil Biology**, v.44, p.191-197, 2008.

AQUINO, A.M.; CORREIA, M.E.F. **Invertebrados Edáficos e o seu Papel nos Processos do Solo.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005, 52 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos 201).

ARAÚJO A.S.F., MONTEIRO R.T.R., ABARKELI R.B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere** 52,799–804, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR/ISO 16387: qualidade do solo: efeitos de poluentes em Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*): determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência**. Rio de Janeiro. 2012.

BARETTA, D., BARTZ, M.L C. , FACHINI, I., ANSELMINI, R., ZORTÉA T., BARETTA, C.R.M. Soil fauna and its relation with environmental variables in soil management systems. Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 5 (Especial), p. 871-879, 2014

BARETTA, D.; BROWN, G.G.; CARDOSO, E.J.B.N. Potencial da macrofauna e outras variáveis edáficas como indicadores da qualidade do solo em áreas com *Araucaria angustifolia*. **Acta Zoológica Mexicana** (nueva serie), v. 26, n. 2, p. 135-150, 2010.

BARTZ, M. L. C. *et al.* Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil. **Applied Soil Ecology**, 2014.

BECKER L., SHEFFCZYK A., FÖRSTER B., OEHLMANN J., PRINCZ J., RÖMBKE J. MOSER T. Effects of boric acid on various microbes, plants, and soil invertebrates. **J Soils Sediments** 11:238–248, 2011.

BEYLICH, A.; ACHAZI, R.K. Influence of low soil moisture on enchytraeids. **Newsletter on Enchytraeidae** 6: 49-58, 1999.

BITTENCOURT M. V.L. Impactos da agricultura no meio-ambiente: Principais tendências e desafios (Parte 1) **Economia & Tecnologia** – Ano 05, Vol. 18 – Julho/Setembro de 2009.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J.G.L.; BARROS, M.T.L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2. ed. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo Departamento de Energia Hidráulica e Sanitária. São Paulo. Pearson Prentice Hall, p. 628, 2005.

BRASIL. Decreto Nº 6.323/07, de 27 de dezembro de 2007. REGULAMENTAÇÃO, NORMAS, SISTEMA, PRODUÇÃO AGROPECUARIA, PROCESSO, PRODUÇÃO, RECURSOS NATURAIS, PRODUTO IN NATURA, PRODUTO NATURAL. Presidência da República – Casa Civil – Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Diário Oficial da União**, 28 de dez. de 2007, p. 2. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/2003/L10.831.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/L10.831.htm). Acesso em: 12 de abr. 2014.

\_\_\_\_\_. LEI 10.831/2003 (LEI ORDINÁRIA) 23 de dezembro de 2003. NORMAS, SISTEMA, PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA, UTILIZAÇÃO, PROCESSO, PRODUÇÃO, COMPOSTO ORGÂNICO, TÉCNICAS AGRÍCOLAS, RECURSOS NATURAIS, PRODUTO IN NATURA, PRODUTO NATURAL. Presidência da República - Casa Civil - Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Diário Oficial da União**, de 24/12/2003, P. 8. Disponível em: < [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2007/Decreto/D6323.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/Decreto/D6323.htm)> Acesso em: 12 de abr. de 2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2013/2014 a 2023/2024**. projeções de longo prazo / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão Estratégica. – Brasília: MAPA/ACS, 2014.

\_\_\_\_\_. Resolução CONAMA Nº 420 de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF 31 de dezembro de 2009**.

BROWN, G.G. & SAUTTER, K.D. Biodiversity, conservation and sustainable management of soil animals: the XV International Colloquium on Soil Zoology and XII International Colloquium on Apterygota. **Pesq. Agropec. Bras.**, 44:1-9, 2009.

CARSON, R.. **Primavera Silenciosa**. Tradução Raul de Polillo 2º Ed. São Paulo, 305 p. 1969.

CASABÉ N., PIOLA L., FUCHS J., ONETO M.L., PAMPARATO L., BASACK S., GIMÉNEZ R., MASSARO R., C. PAPA J.C., KESTEN E. Ecotoxicological assessment of the Effects of Glyphosate and Chlorpyrifos in an Argentine Soya Field. **Research Articles** (Soils, Section 4: Ecotoxicology) J Soils Sediments (OnlineFirst): 8, 2007.

CHANG, F.C., SIMCIK, M.F., CAPEL, P.D. Occurrence and fate of the herbicide glyphosate and its degradate aminomethylphosphonic acid in the atmosphere. **Environ. Toxicol. Chem.** 30, 548–555, 2011

CORREIA, M.E.F.; OLIVEIRA, L.C.M. **Fauna de Solo: Aspectos Gerais e Metodológicos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, fev. 2000. 46p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 112).

COSTA S.S., RODRIGUES A.J., SILVA J.A.B., FONTANA.R.L.M. Uma Abordagem Da Agricultura Sobre Os Modos De Produção. **Ciências Humanas e Sociais Unit**. Aracaju, v. 2, n.2, p. 231-242, out. 2014

CHRISTOFFERSEN, M.L. Species diversity and distribution of microdrile earthworms (Annelida, Clitellata, Enchytraeidae) from South America. **Zootaxa**, v.2065, p.51-68, 2009.

DASH, M. C., **The Biology of Enchytraeidae**, International Book Distributors, Dehradun, 1983.

DECAËNS, T.; BUREAU, F.; MARGERIE, P. Earthworm communities in a wet agricultural landscape of the Seine Valley (Upper Normandy, France). **Pedobiologia**, v.47, p.479-489, 2003.

DIDDEN, W. A. M. Ecology of terrestrial Enchytraeidae. **Pedobiologia** 37: 2-29, 1993.

DIDDEN W., RÖMBKE J. . Enchytraeids as Indicator Organisms for Chemical Stress in Terrestrial Ecosystems. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 50, 25-43 Environmental Research, Section B, 2001.

DORAN, J.W.; ZEISS, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic componente of soil quality. **Applied Soil Ecology** 15, 3-11.

EMATER - Instituto Paranaense de Assistencia Tecnica e Extensão Rural. **Realidade Municipal – Quitandinha, Ano Agrícola 2013**. Escritório Local de Quitandinha. Regional de Curitiba, p. 19, 2014.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. – 2. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro, 1997. 212p. : il. (EMBRAPA-CNPS. Documentos ; 1)

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014**. – Londrina: Embrapa Soja – (Sistemas de Produção / Embrapa Soja, ISSN 2176-2902; n.16), 265p. 2013.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas**. Londrina: Editora Planta. 2ª ed. p. 403, 2006. **FAO Statistical Yearbook 2013 – World Food and Agriculture** . Disponível em: <https://www.fao.org.br/publicacoes.asp>, acesso em: 16/09/2014.

FERNANDES, Juliana de Oliveira. **Minhocas como indicadores ambientais em ecossistemas agrícolas**. Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2009.

FERREIRA, Aurélio Buarque de Holanda. **Dicionário Aurélio Básico da Língua Portuguesa**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1988, p. 214.

FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: **UFV**, 2000, 401 p.

FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas climáticas básicas do Estado do Paraná**. Londrina, IAPAR, 1978. 41 p.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. **Ecotoxicological risk assessment for roundup herbicide**. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, New York, v.167, n.1, p.35-120, 2000.

GLIESSMAN, S.R. *Agroecologia: Processos ecológicos em agricultura sustentável*. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 653p.

GOMES, M. A. F.; FILIZOLA, H.F. **Indicadores Físicos e Químicos de Qualidade de Solo de Interesse Agrícola**. Embrapa Meio Ambiente. 8p. Jaguariúna. 2006.

GOMES, S. A. **Qualidade do solo: conceito, importância e indicadores da qualidade**. Artigos Técnicos. Cultivar. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=447>. Acesso em: 15/11/2014.

GRAEFE, U. & SCHMELS. Indicador values, strategy types and life forms of terrestrial Enchytraeidae and other microannelids. In Schmels, R. M & K. Suhlo (eds), **Newsletter on Enchytraeidae N° 6**. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Symposium on Echytraeidae, Osnabruck, Germany. Universitätsverlag Rasch, Osnabruck, Germany: 59-67, 1999.

HUHTA, V. Response of *Cognettia sphagnetorum* (Enchytraeidae) to manipulation of pH and nutrient status in coniferous forest soil. **Pedobiologia** 27, 245-260, 1984.

HUHTA, V., HyvoK nen, R., Koskenniemi, A., Vilkkamaa, P., Kaasalainen, P., and Sulander, M. (1986). Response of soil fauna to fertilization and manipulation of pH in coniferous forests. **Acta Forestalia Fennica** 195, 1-30.

IAPAR – **Cartas Climáticas Básicas do Estado do Paraná**. Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR, 1978.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental** / Rafaela; Maciel Rebelo... [et al].- Brasília: Ibama, 2010.

IBGE. **Manual Técnico de Pedologia**. 2ª edição. Rio de Janeiro, 2007.

ISO (International Organization For Standardization), 2007. **Soil Quality – Sampling of soil invertebrates – Part 3: sampling and soil extraction of enchytraeids**. Genebra, Suíça, ISO 23611-3.

ISO (International Organization for Standardization), qualidade do solo - **Efeitos de poluentes em minhocas (*Eisenia fetida*) – Parte 2: Determinação dos efeitos na reprodução**. Genebra, Suíça, ISO 11268-2.

ISO (International Organization for Standardization), 2004, Soil Quality— **Effects of Pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*)—Determination of Effects on Reproduction and Survival**. Genebra, Suíça, ISO 16387.

JÄNSCH, S., RÖMBKE, J. and DIDDEN, W., 2005. The use of enchytraeids in ecological soil classification and assessment concepts. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, vol. 62, p. 266–277.

KHATOUNIAN, C. A. **A reconstrução ecológica da agricultura** / C. A.Khatounian. - Botucatu : Agroecológica, 2001

KÖPPEN, W. **Climatologia** . Pánuco: Fondo Cultura Econômica, 1948.

LAVELLE, P.; BIGNELL, D.; LEPAGE, M.; WOLTERS, V.; ROGER, P.; INESON, P.; HEAL, O. W.; DHILLION, S. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. **European Journal Soil Biology**, New Jersey, v. 33, p. 159-93, 1997.

LIMA S.S.; AQUINO A. M.; LEITE L.F.C.; VELÁSQUEZ E., LAVELLE P. Relação entre macrofauna edáfica e atributos químicos do solo em diferentes agroecossistemas. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.45, n.3, p.322-331, mar. 2010.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil, um guia para ação em defesa da vida**. AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011, p. 191, Rio de Janeiro – RJ.

MARSHALL, V. G. (1974). Seasonal and vertical distribution of soil fauna in a thinned and urea-fertilized Douglas fir forest. *Can. J. Soil Sci.* 54, 491-500.

MOREIRA, F.M.S. Biodiversidade do solo nos biomas brasileiros: Qual? Por quê? Para quê? Por quem? Para quem? In: RIBEIRO, Bruno Teixeira; ENDLING, Beno (orgs.), **Solos nos biomas brasileiros. Sustentabilidade e mudanças climáticas**, Edufu: Universidade Federal de Uberlândia – MG, .p. 245 – 255.; 2014

NAKAMURA, Y. (1988). The effect of soil management on the soil faunal makeup of a cropped andosol in central Japan. *Soil Tillage Res.* 12, 177-186.

NIVA C.C.; CEZAR R.M.; FONSECA, P.M.; ZAGATTO, M.R.G.; OLIVEIRA, E.M.; BUSH E.F.; CLASEN, L.A. BROWN G.G. **Enchytraeid abundance in araucaria mixed forest determined by cold and hot wet extraction**. Brazilian Journal of Biology. Biol. vol.75 no.4 supl.1 São Carlos Nov. 2015 Epub Nov 24, 2015

NIVA, C.C., RÖMBKE, J., SCHMELZ, RM. and BROWN, GG., 2010. Enchytraeídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida), pp. 351-365. In MOREIRA, FMS, HUISING, E.J. and BIGNELL, DE. (eds.), **Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade**. UFLA, Lavras, Brazil.

NIVA, C.C., SCHMELZ, RM. and BROWN, GG., 2012. Notes on the reproduction, fragmentation and regeneration of *Enchytraeus dudichi* Dózsa-Farkas, 1995 found in Paraná State, Brazil. *Landbauforschung - vTI Agriculture and Forestry Research*, vol. 357, p. 13-19. (Newsletter on Enchytraeidae No. 12)

NIVA, C.C., BROWN, G. G. **Ecotoxicologia Terrestre: Métodos e Aplicações dos Ensaios com Oligoquetas**. *In Impress.*

NUNES S. P. O desenvolvimento da agricultura brasileira e mundial e a idéia de Desenvolvimento Rural. DESER, Departamento de Estudos Sócio -Econômicos Rurais, **Conjuntura Agrícola**, Boletim Eletrônico, mar. 2007. <http://www.deser.org.br/documentos/doc/DesenvolvimentoRural.pdf> Acesso em: 04/02/2015.

OECD. (1984) - **Organization for Economic Cooperation and Development. Earthworm, Acute Toxicity Tests.** OECD 207 – Earthworm, acute toxicity tests (Guideline for testing of chemicals, 207). Paris, Organization for Economic Co-Operation and Development, 9 p.

OECD. (2004) - **Organization for Economic Cooperation and Development. Earthworm, Acute Toxicity Tests.** OECD 222 - Earthworm reproduction test (Eisenia fetida/Eisenia andrei) (Guideline for the testing of chemicals, 222). Paris, Organization for Economic Co-Operation and Development, 18 p.

O'CONNOR, F.B., 1955. Extraction of enchytraeid worms from a coniferous forest soil. **Nature**, vol. 175, p. 815-816.

PANKHURST, C.E.; LYNCH, J.M. The role of the soil biota in sustainable agriculture. In. PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R., eds. **Soil Biota: management in sustainable farming systems.** Melbourne: CSIRO, 1994.p. 3-12.

PAOLETTI, M. G. Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. **Agriculture, Ecosystems & Environment, Amsterdam**, v. 74, n.1/3, p. 118, June 1999.

PARANÁ. Secretaria de Agricultura e do Abastecimento – SEAB. Departamento de Economia Rural– DERAL. **Evolução da área colhida, produção, rendimento, participação e colocação Paraná/Brasil.** 2012.

PHILLIPS R.E., PHILLIPS S.H. **No-tillage agriculture: Principles and practices.** Van Nostrand Reinhold, New York, 1984.

PINHEIRO, S., LUZ, D.; NASR, Y.N.. **Agricultura Ecológica e a Máfia dos Agrotóxicos no Brasil** . Rio de Janeiro: Fundação Juquira Candirú, 1998.

PRIMAVESI, A. **Manejo Ecológico do Solo: a agricultura em regiões tropicais.** São Paulo: Nobel, p. 541, 1999.

REBELO R. M.; BUYS, B. D.M.C.; REZENDE, J. A.; MOARES, OLIVEIRA K.; OLIVEIRA, R. P. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental.** Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. IBAMA, Brasília, 2010, p. 85.

RÖMBKE, J., COLLADO, R. and SCHMELZ, RM., 2007. Abundance, distribution and indicator potential of enchytraeid genera (Enchytraeidae, Clitellata) in secondary forests and pastures of the Mata Atlântica. **Acta Hydrobiologica Sinica**, vol. 3, p. 139-150.

SCHMELZ, RM., NIVA, CC., RÖMBKE, J. and COLLADO, R., 2013. Diversity of terrestrial Enchytraeidae (Oligochaeta) in Latin America: Current knowledge and future research potential. **Applied Soil Ecology**, vol. 69, p. 13-20.

SEAB-PR. Secretaria do Estado da Agricultura e Abastecimento. Departamento de Economia Agrícola – DERAL. **Relatório Anual de 2013**. Curitiba-PR, 2014.

SEAG – Secretaria Municipal de Agricultura e Abastecimento de Quitandinha-PR. **Relatórios Agropecuários Ano Agrícola de 2013**. Prefeitura Municipal de Quitandinha – PR.

SISINNO, C. L.S., OLIVEIRA FILHO, E.C. **Princípios de Toxicologia Ambiental**. Editora Interciência. Rio de Janeiro, p. 198, 2013.

SISTEMA DE MONITORAMENTO AGROMETEREOLÓGICO. **Fundação ABC para Assistência e Divulgação Técnica Agropecuária**. Castro, PR. Disponível em: <[http://sma.fundacaoabc.org.br/climatologia/classificacao\\_climatica/parana](http://sma.fundacaoabc.org.br/climatologia/classificacao_climatica/parana)> Acesso em: 26 de jan. de 2015.

STANDEN, V. (1982). Associations of Enchytraeidae (Oligochaeta) in experimentally fertilized grasslands. **J. Anim. Ecol.** 51, 501-522.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. **Adsorção de glyphosate sobre solos e minerais**. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.4, p.829-833, 2006.

UNITED NATIONS, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. **World Population Prospects: The 2012 Revision, Highlights and Advance Tables** . Working Paper N°. ESA/P/WP, 228, 2013.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Priorities for ecological protection: an initial list and discussion document for EPA**. Washington, DC: Office of Research and Development. EPA/ 600/S-97/002, 1997

VAN VLIET P. C. J. · COLEMAN D.C. · HENDRIX P.F. Population dynamics of Enchytraeidae (Oligochaeta) in different agricultural systems. **Biol Fertil Soils** 25:123–129, 1997.

WAUCHOPE, R. D.; BUTLER, T. M.; HORNSBY, A.G.; AUGUSTIJN-BECKERS, P.W.M.; BURT, J.P. The SCS/ARS/CES pesticide properties database: select values for environmental decision making. **Reviews of environmental contamination & toxicology**, New York, v.123, n.1, p.1-164, 1992.