

# Ensaio de adaptação das minhocas aos solos naturais ou ao SAT

George Gardner Brown  
Jörg Römcke  
Katy Boniza Cantelli

Quando as espécies padrão *E. andrei* e *E. fetida* são avaliadas em testes ecotoxicológicos usando solo natural, faz-se necessário realizar um ensaio preliminar para certificar a aceitação do solo pela espécie alvo, devido à baixa mortalidade máxima (10%) permitida, e a reprodução mínima exigida (40 indivíduos juvenis) no tratamento controle (solo não contaminado) nos ensaios ecotoxicológicos (ver seção 11.2.8). Se o ensaio for realizado em solo contaminado, deve-se verificar a sobrevivência e reprodução das minhocas em um solo-referência não contaminado, com características químicas e físicas semelhantes ao contaminado. Da mesma forma, ensaios preliminares também devem ser realizados quando as avaliações incluírem outras espécies de minhocas em SAT ou em solo natural. Por exemplo, no caso de *A. gracilis*, ensaios preliminares indicaram que essas minhocas não se adaptaram ao SAT, tendo mortalidade  $\geq 20\%$  após 2 semanas (Cantelli, 2011), com e sem adição de alimento (esterco bovino). Nesse mesmo estudo (Cantelli, 2011), outra espécie, *Dichogaster annae*, comumente encontrada em minhocários no Brasil (James; Guimarães, 2010), não se adaptou ao solo natural (Latosolo vermelho), também apresentando mortalidade de 18% a 30%, acima do tolerado (10%) pela norma.

As espécies *E. fetida* e *E. andrei* já foram testadas usando uma ampla gama de solos naturais, especialmente na Europa (Jänsch et al., 2005; Römcke et al., 2006; Chelinho et al., 2011), mas também no Brasil (Tabela 2.1). Elas podem sobreviver e reproduzir dentro dos limites estabelecidos para os ensaios ecotoxicológicos padrão em solos com características físicas e químicas altamente variáveis (Tabela 6.1), e dentro de uma amplo espectro de condições edafo-climáticas e de alimentação, mostrando sua grande plasticidade fenotípica.

**Tabela 6.1.** Preferências e amplitude de condições edafo-climáticas no substrato teste, nas quais as espécies *E. andrei* ou *E. fetida* podem sobreviver e reproduzir, dentro dos limites estabelecidos para os ensaios ecotoxicológicos padrão da ISO (modificado de Jänsch et al., 2005).

Propriedade do solo	Preferência	Intervalo
Temperatura	20-25 °C	0-35 °C
Umidade	40-60% da capacidade de campo	25-70% da capacidade de campo
pH	5-7	3,8-9,0
Textura do solo	Desconhecida, mas não crescem tão bem em solos muito arenosos ou muito argilosos	6 a >50% de argila
%C (mg kg <sup>-1</sup> )	3-20%	1,3 a >20%

Caso se deseje apenas realizar ensaios de fuga ou mortalidade com solo natural ou SAT, recomendamos seguir os passos detalhados na seção 6.1 e/ou 6.2, usando solo ou SAT não contaminados. Caso se deseje realizar ensaios de fuga, mortalidade e de reprodução com solo natural ou SAT, recomendamos realizar um ensaio de reprodução com SAT ou solo não contaminado, seguindo os passos detalhados na seção 4.9.2.

## **6.1 Ensaio rápido de aceitação ou rejeição de solo natural ou SAT**

Para avaliar de modo rápido, a possível rejeição das minhocas a um determinado solo natural ou SAT, coloca-se 10 minhocas da espécie em questão em um recipiente-teste com 500 g de SAT ou do solo teste por 48 horas, seguindo procedimento parecido àquele explicado na seção 4.1.2. Caso se observe comportamento anormal ou rejeição do SAT ou do solo durante esse período (ver seção 4.1.2), é provável que haja restrições no mesmo para as minhocas, e recomenda-se procurar outro solo para o teste, ou outra espécie de minhoca. Caso as minhocas demonstrem aceitação ao SAT ou ao solo durante esse período de 48 horas, realizar o ensaio descrito na seção 6.2, a seguir.

## **6.2 Ensaio de aceitação ou rejeição de SAT ou solo natural**

No caso do ensaio de adaptação das minhocas ao SAT ou solo natural deve-se:

1. Seguir os mesmos procedimentos para o SAT ou o solo, como aqueles especificados para o preparo de substrato teste no capítulo 7 (e seus sub-itens).
2. Usar o mesmo número ( $n=10$  indivíduos) e biomassa de minhocas especificado na seção 11.2.1.
3. Usar o mesmo recipiente recomendado para o ensaio de letalidade (ver seção 11.2.2).
4. Usar a quantidade de SAT ou solo recomendada para a espécie a ser utilizada (ver seção 11.2.2).

Se o solo tiver  $<2\%$  Carbono orgânico total, 5 g de alimento (esterco, preferivelmente de cavalo) para cada 500 g de solo devem ser adicionados na superfície do solo no início do ensaio, para as espécies de *Eudrilus*, *Perionyx* e *Eisenia*. Devem ser preparadas pelo menos cinco replicatas do solo natural ou SAT com as minhocas, e aos 7 e aos 14 dias (duração do ensaio de letalidade) as minhocas devem ser retiradas do SAT/solo, contadas, pesadas e a percentagem de mortalidade calculada. Se a mortalidade média for  $>10\%$  aos 7 dias, o ensaio pode ser finalizado, não sendo necessário seguir até os 14

dias. Os casulos no SAT ou solo (confirmação de reprodução) também devem ser removidos e o comportamento e morfologia externa das minhocas devem ser observados para verificar se estão saudáveis. Caso se observe anormalidades comportamentais ou morfológicas (ver seção 4.1.2), mortalidade >10%, ou perda de biomassa >20% para *Eisenia* ou >25% para as demais espécies (ainda não existem dados para todas as espécies), as possíveis razões dessas alterações, mortalidade ou perda de biomassa devem ser buscadas, avaliando os resultados de uma análise química de rotina do solo. Neste caso, esse solo não deve ser usado para ensaios ecotoxicológicos com essa(s) espécie(s) de minhoca.

Todos os dados de biomassa, mortalidade, e qualquer alteração morfológica devem ser anotados e, caso se detecte rejeição do solo ou anormalidades morfológicas, fotos digitais devem ser tomadas dos indivíduos.

## Referências

CANTELLI, K. B. **Toxicidade aguda de carbofurano e carbendazim a minhocas em solo natural**. Curitiba. 2011. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CHELINHO, S.; DOMENE, X.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; SCHEFFCZYK, A.; RÖMBKE, J.; ANDRÉS, P.; SOUSA, J. P. Improving ecological risk assessment in the mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 5, p. 1050-1058, 2011. DOI: 10.1002/etc.480.

JAMES, S. W.; GUIMARÃES, A. A. Discovery and development of new species for vermiculture. In: EDWARDS, C. A.; ARANCON, N. Q.; SHERMAN, R. L. (Ed.). **Vermiculture technology: earthworms, organic wastes and environmental management**. Boca Raton: CRC Press, 2010. p. 41-52.

JÄNSCH, S.; AMORIM, M. J. B.; RÖMBKE, J. Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. **Environmental Reviews**, v. 13, p. 51-83, 2005. DOI: 10.1139/a05-007.

RÖMBKE, J.; JANSCH, S.; JUNKER, T.; POHL, B.; SCHEFFCZYK, A.; SCHALLNASS, H. Improvement of the applicability of ecotoxicological tests with earthworms, springtails, and plants for the assessment of metals in natural soils. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, p. 776-787, 2006.

