

JULIANA BOECHAT DE SOUZA PAULA

**BIOCONDICIONAMENTO *EX-SITU* DO SOLO E REJEITO DO AMBIENTE
AFETADO PELO ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO - MARIANA/MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2018

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

P324b
2018 Paula, Juliana Boechat de Souza, 1987-
Biocondicionamento *ex-situ* do solo e rejeito do ambiente
afetado pelo rompimento da barragem de Fundão - Mariana/MG
/ Juliana Boechat de Souza Paula. – Viçosa, MG, 2018.
xv, 100 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Toxicologia ambiental. 2. Invertebrados do solo.
3. Desastres ambientais - Mariana (MG). 4. Doce, Rio, Bacia,
(MG e ES). I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Solos. Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de
Plantas. II. Título.

CDD 22. ed. 571.95

JULIANA BOECHAT DE SOUZA PAULA

**BIOCONDICIONAMENTO *EX-SITU* DO SOLO E REJEITO DO AMBIENTE
AFETADO PELO ROMPIMENTO DA BARRAGEM DE FUNDÃO - MARIANA/MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 05 de março de 2018.



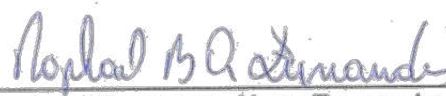
Andressa Cristhy Buch



George Gardner Brown



Fábio Soares de Oliveira



Raphael Bragança Alves Fernandes
(Coorientador)



Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico essa pequena contribuição científica aos atingidos e atingidas pelo maior crime/desastre socioambiental já vivenciado nesse país. Que esse estudo possa lhes ser útil de alguma forma, para que tenham acesso aos dados dos solos e rejeito da região e bioacumulação. Dedico ao trabalho e força coletiva dos movimentos sociais que dão a vida para que o próximo tenha seus direitos garantidos; às comunidades atingidas por grandes empreendimentos, principalmente quilombolas, negras e indígenas. Dedico a minha querida mãe Adriana Simões de Souza (*Em memória*), dona de uma força inenarrável e indomável, fonte inspiradora de amor, dedicação e caráter. Aos meus avós Lenira Boechat e Manoel José de Souza (*Em memória*), Bernadete Muinhos (*Em memória*) e José Francisco de Paula Sobrinho, por me permitirem seguir buscando sempre o caminho do autoconhecimento e ensinando a importância do amor, da empatia, da verdade e da dedicação ao próximo e ao justo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos atingidos e atingidas pelo desastre de Mariana pelo acolhimento, ao Movimento dos Atingidos por Barragens (MAB) e a AEDAS (Associação Estadual de Defesa Ambiental e Social), os quais sempre se mostraram prontos a ajudar no entendimento dos processos e desdobramentos causados pelo rompimento da barragem, sempre de forma coesa e coletiva. À Caravana Territorial do Rio Doce, pelo esforço de criar ambientes de diálogo de compreensão coletiva do ocorrido, fundamentais para a reconstrução do histórico das áreas atingidas. Agradeço a grande mulher, amiga, companheira e estagiária do projeto Priscila Motta Rosado, pela disposição, esforço, animação, carinho e paciência nos momentos mais importantes do processo da pesquisa. Aos estudantes do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas (PPGSNP) da UFV, com os quais não seria possível a concretização desse projeto, Judyson de Matos Oliveira, Marcel Thomas Job Pereira, Fábio Fernandes Maia, Rafael Biscotto d'Avila, Anderson Almeida Pacheco, Francis Henrique Tenório Firmino, Eduardo Osório Senra, Lucas de Carvalho Gomes, João Reis e Martin Meier. Aos técnicos/as e professores/as do Departamento de Solos (DPS) da UFV empenhados em contribuir na formação de profissionais com excelência, agradeço. A Rosemeire das Graças Julião nossa queridíssima secretária do Departamento e da pós-graduação Ana Carolina Pessoa Brandão Batista, Nayan Rodrigues Andrade e Luciana de Castro Freitas. Ao Luís Carlos da Silva Rodrigues (Lula), por toda criatividade e pró-atividade em auxiliar nos momentos necessários e os oportunizando; a Adriana Corrêa Mendonça, Antônio Carlos Alves Pinto, Janilson Gonçalves da Rocha e Zélia Estevão Barbosa, dos Laboratórios de Espectrometria de Absorção Atômica e Elementos Traços; ao José Maurício Lino, Írio Fernando de Freitas e Professor Teógenes Senna de Oliveira, do Laboratório de Matéria Orgânica e Resíduos; ao Professor Liovando Marciano da Costa pelo suporte com Laboratório de Geoquímica; ao Cláudio Márcio Brustolini, do Laboratório de Física dos Solos; aos João José de Miranda Milagres e Humberto Teixeira Rosado, do Laboratório de Isótopos Estáveis; ao Professor Elpídio Inácio Fernandes Filho pelo apoio irrestrito do Laboratório de Geoprocessamento (LabGeo). Em especial agradeço à equipe do núcleo Terrantar, à Cláudia Maria Gonçalves, sempre disposta a resolver da melhor forma possível, tudo! Aos Professores Walter Antônio Pereira Abrahão, Ivo Jucksch e Anôr Fiorini de

Carvalho, pela paciência, carinho e tempo despendidos com o projeto e comigo. Agradeço ao Professor Fábio de Oliveira por acreditar no projeto e auxiliar na ampliação dos dados coletados. Agradeço ao destino, por ter me apresentado durante o processo pessoas que serão inesquecíveis e me auxiliaram de várias formas a crescer e amadurecer cada vez mais profissional e emocionalmente, à Doutora Andressa Cristhy Buch, pelo apoio nas leituras e entendimento dos processos e ao Professor George Gardner Brown pelos valiosos ensinamentos; ao Professor Orientador Carlos Ernesto G. R. Schaefer, pela enorme disposição e interesse no projeto, pela paciência, gentileza e orientações, aos coorientadores, minha querida Professora Irene Maria Cardoso, pelo exemplo de ser uma mulher lutadora e empenhada em construir novas realidades, mais justas e equilibradas para todos e todas, pelas tantas dicas dadas com carinho para que o projeto fosse realizado da melhor forma no Departamento de Solos e principalmente por ter a ideia brilhante desse estudo e ao Professor Raphael Bragança Alves Fernandes, pelo exemplo de dedicação, parcimônia, profissionalismo e diversas explicações e correções do estudo. Às grandes amigas Mel Mariana Tiso, Viviane, Diana Luna e Laís, gratidão! O mundo precisa de mais mulheres fortes como vocês. Qualquer resultado somente foi possível devido ao estímulo de tantos apoiadores. Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa, por proporcionar a consolidação desse projeto. À Coordenação de Aperfeiçoamento aos Profissionais do Ensino Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro do projeto.

*“Quantas toneladas exportamos
De ferro?
Quantas lágrimas disfarçamos
Sem berro?”*

Lira Itabirana - **Carlos Drummond de Andrade**

*“Desistir... eu já pensei seriamente nisso, mas nunca me levei realmente a sério;
é que tem mais chão nos meus olhos do que o cansaço nas minhas pernas,
mais esperança nos meus passos, do que tristeza nos meus ombros,
mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.”*

Cora Coralina

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Mapa do caminho da lama de rejeito ao longo da bacia do rio Doce. Fonte: Soares (2016).5
- Figura 2. Imagem de satélite da área de estudos e pontos de coleta dos materiais para o experimento. Fonte: Google Earth (2017). 15
- Figura 3. Materiais coletados para o experimento: a) *Topsoil* - Cambissolo da região; b) Rejeito. Fonte: A autora. 16
- Figura 4. Sequência de montagem das unidades experimentais: a) Aquários montados e lavados com orifício de circular para drenagem da água; b) Primeira camada de sombrite; c) Camada de brita; d) Segunda camada de sombrite; e) Aquários dispostos para montagem; f) Peneiramento do material do rejeito; g) Primeira linha experimental montada; h) Sensores de acompanhamento instalados; i) Linhas experimentais prontas (período de estabilização) cobertas de lona preta. Fonte: A autora. 18
- Figura 5. Etapas iniciais dos procedimentos com as minhocas: a) Chegada dos animais e colocação nos substratos para aclimação; b) Retirada dos grupos aclimatados no solo da região; c) Separação dos indivíduos com auxílio da peneira; d) Escolha dos animais adultos; e) Separação por populações; f) Animais separados, prontos para colocação nas unidades experimentais; g) Pesagem dos grupos testemunhos; h) Expurgo do conteúdo intestinal dos animais; i) Maceração dos animais após congelamento, para abertura da amostra. Fonte: A autora. 19
- Figura 6. a) Coleta de amostra indeformada em profundidade de 10 cm; b) Exemplo de amostragem pronta para encaminhamento ao laboratório; c) Amostras sendo equilibradas para a primeira análise; d) Avaliação da CH das amostras; e) Medidor de pressão câmara de Richards; f) Mesa de tensão com as amostras. Fonte: A autora.22
- Figura 7. Número de indivíduos de *P. corethrus* encontrados em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos.....27
- Figura 8. a) Estrutura biogênica com casulo b) Comparação de dois casulos em estágios de maturação média e avançada; c) Casulo da foto anterior eclodindo; d) filhote de *P. corethrus* recém eclodida; e) Indivíduo de *P. corethrus* adulto apresentando comportamento de enovelamento na dosagem 75% de rejeito e f)

Indivíduo de <i>P. corethrurus</i> adulto apresentando comportamento de enovelamento na dosagem 100% de rejeito. Fonte: A autora.	30
Figura 9. Letalidade média das populações adultas de <i>P. corethrurus</i> encontrados em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos.	32
Figura 10. Número de indivíduos de <i>Amyntas</i> sp. encontrados nos aquários em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos. ...	33
Figura 11. a) Indivíduo de <i>Amyntas</i> sp. encontrado no início do experimento; b) Indivíduo adulto de <i>P. corethrurus</i> ao final do experimento; c) Larvas de invertebrados utilizando o substrato de 100% de rejeito para reprodução; d) Estrutura oval produzida por invertebrados, preenchida internamente por substrato; e) Indivíduo juvenil de lacraia, coletada em alta densidade nos tratamentos com maior densidade de rejeito. Fonte: A autora.	35
Figura 12. Monitoramento da umidade no período experimental em duas profundidades dos perfis dos substratos: (a) 10 cm de profundidade entre tratamentos; (b) 20 cm de profundidade entre tratamentos.	36
Figura 13. a) Resistência a Penetração (RP); b) Estabilidade de Agregados (DMG); c) Estabilidade de Agregados (DMP); d) Argila dispersa em água (ADA), e) Índice de Dispersão de Argila (ID)	40
Figura 14. a) Condutividade Hidráulica (CH) entre tratamentos; b) Curva de retenção de água (CRA) dos testemunhos de solo e rejeito; c) CRA resultante dos tratamentos.....	42
Figura 15. PCA de atributos físicos dos substratos e minhocas.....	44
Figura 16. Teores totais nos substratos comparados aos coprólitos de a) Carbono Total; b) Nitrogênio Total.	54
Figura 17. a) FBA de Fe para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Fe para tecidos de minhocas adultas (M/S ²); c) FBA de Mn para coprólitos (C/S ¹); d) FBA de Mn para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).....	66
Figura 18. a) FBA de Al para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Al para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).	67
Figura 19. a) FBA de Zn para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Zn para tecidos de minhocas adultas (M/S ²); c) FBA de Ni para coprólitos (C/S ¹); d) FBA de Ni para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).	68

Figura 20. a) FBA de Cu para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Cu para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).	69
Figura 21. a) FBA de Co para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Co para tecidos de minhocas adultas (M/S ²); c) FBA de Ba para coprólitos (C/S ¹); d) FBA de Ba para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).	70
Figura 22. a) FBA de Cr para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Cr para tecidos de minhocas adultas (M/S ²); c) FBA de V para coprólitos (C/S ¹); d) FBA de V para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).	71
Figura 23. a) FBA de Cd para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Cd para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).	72
Figura 24. a) FBA de Pb para coprólitos (C/S ¹); b) FBA de Pb para tecidos de minhocas adultas (M/S ²).	73
Figura 25. Monitoramento das temperaturas e umidade no período experimental nos tratamentos: a) 0% de rejeito e b) 25% de rejeito.	95
Figura 26. Monitoramento das temperaturas e umidade no período experimental nos tratamentos: a) 50% de rejeito e b) 75% de rejeito.	96
Figura 27. Monitoramento das temperaturas e umidade no período experimental no tratamento 100% de rejeito.	97
Figura 28. Fotos dos aquários antes e depois da atividade das minhocas (Tratamentos em 0% e 25%). Fonte: A autora.	98
Figura 29. Fotos dos aquários antes e depois da atividade das minhocas (Tratamentos em 50% e 75%). Fonte: A autora.	99
Figura 30. Fotos dos aquários antes e depois da atividade das minhocas (Tratamento em 100%). Fonte: A autora.	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Temperaturas mínimas e máximas registradas por tratamento durante o período experimental (Compilação do Apêndice B).....	28
Tabela 2. Comparação entre biomassa fresca das minhocas em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos.....	31
Tabela 3. Composição granulométrica e textural do solo, rejeito e substratos pedobioturbados em diferentes %.	38
Tabela 4. Densidade do solo (Ds), Densidade de Partículas (Dp) e Porosidade total (PT) dos controles e substratos.	39
Tabela 5. Caracterização dos atributos de fertilidade nos testemunhos, esterco e substratos.	46
Tabela 6. Parâmetros de fertilidade para SB, t e T	50
Tabela 7. Classificação dos micronutrientes segundo os parâmetros de fertilidade para solos de MG	52
Tabela 8: Teores químicos totais (mg/kg ⁻¹) encontrados nos testemunhos, substratos e esterco.....	56
Tabela 9: Teores químicos totais (mg/kg ⁻¹) encontrados nos tecidos das populações minhocas adultas ^{/1} e coprólitos ^{/2}	63
Tabela 10. VRQ's para solos (COPAM 166/2011; CONAMA 460/2013). Adaptado pela autora.....	94

RESUMO

PAULA, Juliana Boechat de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Biocondicionamento *ex-situ* do solo e rejeito do ambiente afetado pelo rompimento da barragem de Fundão - Mariana/MG.** Orientador: Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer. Coorientadores: Irene Maria Cardoso e Raphael Bragança Alves Fernandes.

O rompimento da barragem de Fundão em Mariana/MG acarretou o mais grave desastre socioambiental brasileiro. O evento alcançou não só os ecossistemas da bacia hidrográfica do rio Doce, mas toda a população que nele vive e de alguma forma, faz uso do rio. Todo caos resultante levantou uma série de questionamentos, relacionados à possível nocividade dos elementos químicos presentes no solo e água, à saúde vegetal e animal, as quais ainda não estão suficientemente esclarecidas devido à heterogeneidade e complexidade do desastre. Dados já descritos demonstram que a presença desses elementos podem não ser advindos diretamente da lama de rejeito, contudo a proporção e volume lançados provavelmente revolveu e suspendeu sedimentos pré-existentes, que continham elementos químicos nocivos no leito dos rios. Dentre a enorme gama de problemas gerados e suas repercussões, esta pesquisa visa discutir o trabalho exercido pelas minhocas na remodelagem física e química dos solos do trecho atingido pela deposição de sedimentos. A passagem do rejeito dizimou a biodiversidade presente em diversos níveis ecossistêmicos do rio e planícies adjacentes, soterrando quilômetros de áreas produtivas, que em poucos minutos foram recobertas por uma camada densa de material de espessura variável, dificultando sua recuperação e manutenção das cadeias tróficas e ciclos hídricos. Realizou-se experimento com técnicas de modificação edáfica, avaliando os efeitos da toxicidade do material e o condicionamento do rejeito coletado em ilhas de refluxo no rio Doce, próximos a Usina Hidrelétrica Risoleta Neves, misturados ou não aos solos da região, visando a avaliação de um possível novo ambiente edáfico menos nocivo à vida, com o uso do biocondicionamento realizado pelas minhocas. Um bioensaio crônico foi realizado para avaliar o comportamento das minhocas e quantificar a capacidade de alterar as características físicas, químicas e biológicas dos sedimentos em diferentes proporções de rejeito. O desenho experimental foi composto de 15 aquários de vidro, montados e monitorados durante 12 semanas. As amostras de solo e rejeito utilizadas para as avaliações foram coletadas no município de Rio Doce. Como

bioindicadora da qualidade dos solos atingidos pelo rejeito, foi utilizada nos testes a minhoca *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857), por ser uma espécie nativa, de ampla distribuição geográfica (pantropical), e endogeica (hábitos alimentares geófagos). Os resultados do presente estudo demonstraram efeitos benéficos no acréscimo de C e N em coprólitos, alterações em parâmetros de fertilidade e composição química através de processos realizados pela mistura de matéria orgânica e minhocas aos substratos. Foram encontrados elevados teores de Fe, Al e Mn no rejeito e contaminações de Cr no solo e Cd no solo e rejeito. Foi verificado que o rejeito é extremamente deficiente em atributos de fertilidade e parâmetros físicos, que foram alterados com os tratamentos. O fator de bioacumulação relativo ao tecido das minhocas revelou que doses crescentes de rejeito acumulam metais, sendo representativos para Fe, Mn, Al, Zn, Ni, Cu, Co, Ba, Cr, V. Para o Pb a maior bioacumulação foi verificada nas unidades experimentais contendo solo, sem rejeito. O fator de bioacumulação nos coprólitos revelou tendência de concentração com o acréscimo de rejeito para Fe, Mn, Al, Ni, Cu, Co, Ba, Cr, V e Pb.

ABSTRACT

PAULA, Juliana Boechat de Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. ***Ex-situ* bioconditioning of soil and tailing in environment affected by the rupture of the Fundão dam - Mariana/MG**. Advisor: Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer. Co-advisors: Irene Maria Cardoso and Raphael Bragança Alves Fernandes.

The rupture of the Fundão dam in Mariana/MG led to the most serious Brazilian social and environmental disaster. The event reached not only the ecosystems of the Doce river watershed, but the entire population that lives in it and somehow makes use of the river. All the resulting chaos has raised a number of questions regarding the possible harmfulness of chemical elements in soil and water, plant and animal health, which are not yet sufficiently clarified due to the heterogeneity and complexity of the disaster. Data already described demonstrate that the presence of these elements may not come directly from the tailings sludge, however the proportion and volume released probably revolved and suspended pre-existing sediments, which contained harmful chemicals in the riverbed. Among the huge range of problems generated and their repercussions, this research aims to discuss the work performed by earthworms in the physical and chemical remodeling of the soil affected by sediment deposition. The passage of tailings decimated the biodiversity present in several ecosystem levels of the river and adjacent plains, burying kilometers of productive areas, which in a few minutes were covered by a dense layer of material of variable thickness, making it difficult to recover and maintain the trophic chains and water cycles. An experiment was carried out with edaphic modification techniques, evaluating the effects of the material toxicity and the tailing condition collected in reflux islands in the Doce river, near the Risoleta Neves Hydroelectric Power Plant, mixed or not to the soils of the region, aiming at the evaluation of a possible new edaphic environment less harmful to life, with the use of bioconditioning carried out by earthworms. A chronic bioassay was performed to evaluate the behavior of earthworms and quantify the ability to change the physical, chemical and biological characteristics of sediments in different tailings proportions. The experimental design consisted of 15 glass aquariums, assembled and monitored for 12 weeks. The soil and tailings samples used for the evaluations were collected in the city of Rio Doce. As a bioindicator of the quality of the soil affected by the tailings, the *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) earthworm was used in the tests, as it is a

native species, with wide geographical distribution (pantropical), and endogenous (geophage eating habits). The results of the present study demonstrated beneficial effects on the addition of C and N in casts, changes in fertility parameters and chemical composition through processes performed by mixing organic matter and earthworms to the substrates. High levels of Fe, Al and Mn were found in the tailings and contamination by Cr in the soil and Cd in the soil and tailings. It was found that the tailings are extremely deficient in fertility attributes and physical parameters, which were altered with the treatments. The bioaccumulation factor relative to the earthworms tissue showed that increasing doses of tailings accumulate metals, being representative for Fe, Mn, Al, Zn, Ni, Cu, Co, Ba, Cr, V. For Pb, the highest bioaccumulation was verified in experimental units containing soil, without tailings. The bioaccumulation factor in the casts revealed a tendency of concentration with the increase of tailings for Fe, Mn, Al, Ni, Cu, Co, Ba, Cr, V and Pb.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1. Diversidade e funções ecológicas dos anelídeos terrestres	8
2.2. Categorias Ecológicas	10
2.3. Aspectos comportamentais e reprodutivos	11
2.4. Bioindicadores.....	11
2.5. <i>Pontoscolex corethrurus</i> (Müller, 1857) (Rhinodrilidae, Clitellata).....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1. Área de Estudo	15
3.2. Ensaio Biológico.....	16
3.3. Caracterização Física	21
3.4. Caracterização Química.....	23
3.4.1. Atributos de Fertilidade	23
3.4.2. Teores totais de C e N	24
3.4.3. Teores químicos totais.....	24
3.5. Análises Estatísticas	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. Avaliação das populações.....	27
4.1.1. Reprodução	27
4.1.2. Biomassa adulta	31
4.1.3. Taxa de letalidade.....	31
4.1.4. Indivíduos autóctones	32
4.2. Monitoramento da umidade e temperatura	36
4.3. Parâmetros físicos	37
4.3.1. Efeitos na textura dos substratos.....	37
4.3.2. Efeitos nos parâmetros físicos dos substratos.....	39

4.3.1.1. Análise de componentes principais (PCA) dos atributos físicos dos substratos	43
4.4. Caracterização Química dos substratos, minhocas e coprólitos	45
4.4.1. Alterações na disponibilidade de macro e micronutrientes nos testemunhos, substratos e esterco.....	45
4.4.2. Teores totais de C e N nos coprólitos e substratos.....	53
4.4.3. Teores de metais totais nos controles, substratos e esterco	55
4.4.4. Teores de metais totais nos tecidos e coprólitos das minhocas	61
4.5. Fator de Bioacumulação (FBA)	65
5. CONCLUSÕES	74
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
APÊNDICES	93
APÊNDICE A – VALORES DE REFERÊNCIA QUÍMICA PARA SOLOS.....	94
APÊNDICE B – VALORES DE TEMPERATURA E UMIDADE REGISTRADAS.....	95
APÊNDICE C – FOTOS COMPARATIVAS ENTRE OS TRATAMENTOS (INICIAIS E FINAIS).....	98

1. INTRODUÇÃO

A paisagem natural encontrada ao longo da bacia hidrográfica do rio Doce é complexa e diversificada, apresentando variações durante seu percurso, dependendo do clima, solo, vegetação, geologia e das interferências antrópicas, cuja combinação resulta em paisagens com extraordinária diversidade biológica e cultural (AB'SABER, 1996; MMA, 2002). Neste contexto são encontrados dois Biomas, a Mata Atlântica, cobrindo uma área de mais de 90% da região e o Cerrado (MMA, 2002), compreendendo uma área de drenagem de aproximadamente 87 mil km², dos quais 86% pertencem ao estado de Minas Gerais e o restante ao Espírito Santo, abrangendo um total de 209 municípios nos dois estados (PIRH-DOCE, 2010; ANA, 2015).

A bacia pode ser subdivida em alto, médio e baixo Doce, sendo que cada subdivisão apresenta características geomorfológicas e processos distintos de evolução pedológica, servindo de testemunho para estudos das atuais formações rochosas encontradas no percurso do rio. De acordo com Meis & Machado (1978), em seu alto curso, a bacia drena rochas pré-cambrianas de diferentes idades, incluindo a sequência definida como Supergrupo Minas, e no médio curso afloram rochas do Grupo Paraíba do Sul, predominando gnaisses, micaxistos, quartzitos e alguns granitos. Os biotitas-gnaisses tendem a predominar no planalto periférico e na porção deprimida do médio vale do rio Doce (MEIS & MACHADO, 1978). No trecho baixo da bacia, o rio apresenta características fisiográficas distintas, possuindo declividade pouco acentuada, favorecidos pelos processos de sedimentação advindos dos trechos alto e médio, somados à intensa atividade antrópica, os quais por sua vez tornam o substrato quase todo constituído por areia e sedimentos orgânicos (PIRH-DOCE, 2010).

Segundo o PIRH-DOCE (2010), a porção mineira da bacia, no alto rio Doce, importantes depósitos de minério de ferro itabirítico e hematítico de alto teor (Fe>60%) são encontrados, associados a um conjunto de rochas metamórficas do Supergrupo Minas.

Pelo grande potencial de exploração econômico da região, principalmente relacionado à mineração do ferro, na bacia encontram-se instaladas grandes multinacionais como a Samarco Mineração, que possui uma unidade em Ouro Preto e Mariana, denominada complexo Germano, um dos maiores complexos de acúmulo de rejeito de minério instalados no país em operação desde 1977, ano de fundação da Samarco. O sistema é composto pela barragem principal, que dá nome ao complexo, cuja capacidade de contenção foi estimada em 200 milhões de m³ de rejeito e esgotada em 2009, da qual a barragem de Fundão fazia parte, junto às de Germano I, Santarém, Alegria, pelos diques Sela, Tulipa, Selinha, Auxiliar e outras cavas próximas. Localizada no vale do córrego do Fundão, Germano II é considerada o sistema de contenção de rejeitos mais alto do Brasil, com 175 m de altura (ÁVILA & SAWAYA, 2011; RADA FUNDÃO, 2013; POEMAS, 2015, MPF, 2016).

Na bacia ainda está instalada o maior complexo siderúrgico da América Latina, na região de Ipatinga, com destaque para a Companhia Siderúrgica Belgo Mineira, ACESITA e USIMINAS. Junto à atividade siderúrgica estão associadas empresas de mineração, como a Vale S/A, antiga Companhia Vale do Rio Doce (CVRD) e empresas reflorestadoras, que cultivam o eucalipto para fornecimento de matéria-prima para as indústrias de celulose, produção de carvão e aço. Todo esse complexo industrial é responsável por grande parte das exportações brasileiras de minério de ferro, aço e celulose (PIRH-DOCE, 2010) e apropriação de áreas por sucessivos ciclos econômicos que destruíram grande parte dos ecossistemas preexistentes na região.

Neste contexto, o rio Doce se insere em uma região de preocupação mundial quanto à contaminação por metais pesados e seus impactos no ambiente e na saúde (PACHECO, 2015). As formas de contaminação das águas e solo na região são causadas por diversos fatores, dentre eles: o excesso de material orgânico oriundo de humanos, lançado sem tratamento de volta ao rio; animais que pastejam nas várzeas dos rios; fertilizantes e agrotóxicos utilizados para produção de pastos e plantações, carregados pela chuva ou cheias; uso de materiais nocivos pelo garimpo artesanal que vem sendo sedimentado ao longo de décadas sem controle apropriado e a contaminação por elementos tóxicos associados aos efluentes industriais e à mineração em larga escala (COSTA, 2001; PIRH-DOCE, 2010; PACHECO, 2015).

Segundo dados da ANA (2016), ao longo do rio Doce, apenas 41 cidades (20% do território), realizam alguma forma de coleta e tratamento do esgoto, sendo que cerca de 70% delas, tratam mais da metade do volume produzido, sendo os afluentes do rio Doce os mais impactados por esta realidade. Contudo, ao contrário do que ocorre com a maioria dos contaminantes orgânicos, os metais pesados não se decompõem e acabam persistindo em longo prazo por onde passam (NORDBERG et al., 2007; MASSAS et al., 2013).

No início de novembro em 2015, a barragem de rejeito de minério de ferro de Fundão, localizada no município de Mariana, não suportou o aporte de material advindo do tratamento do minério e rompeu-se, liberando uma avalanche de mais de 50 milhões de m³ (IBAMA, 2015) de rejeito pelos vales da bacia do rio Doce.

A ruptura de Fundão gerou uma onda de rejeito, destroços e materiais de leito dos rios que transpôs (galgou) a barragem à jusante, Santarém. A barragem de Fundão continha material grosseiro, enquanto Santarém comportava material fino e com o galgamento da barragem, o material mais fino foi liberado como resultante da mistura (DAVILA, 2018), descendo de forma devastadora pelos rios Gualaxo do Norte e do Carmo, atingindo a UHE (Usina Hidrelétrica) Risoleta Neves, conhecida como Candonga, localizada no município de Rio Doce, onde parte da carga sedimentar ficou represada. Entretanto, este obstáculo não foi suficiente para conter o rejeito que desembocou no rio Doce (SCHAEFER et al., 2016), conferindo ao rio altíssima turbidez (SAADI & CAMPOS, 2015).

Os primeiros estudos e relatórios produzidos por diversas instituições, dentre Universidades, grupos independentes, Estado e Ministério Público Federal até o momento, subdividiram as áreas atingidas pelo desastre de acordo com a intensidade em que o rejeito alcançou os municípios (MPF, 2016). Nessa primeira escala de análise, o trecho de aproximadamente 100 km a partir do local do rompimento é o mais preocupante, por ser onde a onda de rejeito causou maior efeito destrutivo, extrapolando as calhas dos rios Gualaxo do Norte, Carmo e Doce, nas cidades de Mariana, Barra Longa, Santa Cruz do Escalvado e Rio Doce, denominado epicentro do desastre (IBAMA, 2015, MPF, 2016).

Segundo Schaefer et al. (2015), no trecho da ruptura até Candonga, o recobrimento causado pelo rejeito atingiu 4 m de altura. A força da lama removeu e dispersou solos e sedimentos anteriormente contaminados (SILVA et al., 2018), afetando a qualidade de suas águas e modificando a dinâmica de inundação das

áreas atingidas (ANA, 2015; IBAMA, 2015, MP, 2016), assoreando ainda mais o rio Doce e alguns de seus afluentes, encobrendo grande parte de suas planícies fluviais, no trecho anterior a UHE Risoleta Neves (SAADI & CAMPOS, 2015; FELIPPE et al., 2015), elevando os teores de As, Cu, Cr e Ni na água (ANA, 2015) e transportado esses elementos para áreas não contaminadas antes do rompimento (DAVILA, 2018), afetando toda bacia, em diferentes dimensões e proporções.

Estudos realizados por Silva et al. (2018), avaliaram amostras de água e sedimentos do rio do Carmo, antes e após a ruptura da barragem, avaliando as concentrações de oito elementos. Em seus estudos, os autores demonstraram que seis meses após o rompimento, as concentrações de arsênio excederam o limite máximo permitido pela regulamentação ambiental brasileira para água destinada ao consumo humano, já nos sedimentos, foram observadas nas frações mais disponíveis, valores 20% maiores de As, 13% de Cd, 5% de Co, 9% de Cr, 11% de Cu, 4% de Ni, 7% de Pb e 19% de Zn que os anteriormente encontrados, indicando alto risco ecotoxicológico e possíveis danos à saúde da população local.

A combinação de fatores, além de criar um *pool* de elementos químicos na água, de acordo com Davila (2018), causaram forte degradação e perda dos solos, repercutindo, por exemplo, na dificuldade de infiltração da água nos solos e leito afetado. Ainda segundo o autor, os baixos níveis de matéria orgânica no rejeito dificultam o crescimento radicular de plantas, a germinação de sementes e a presença de microrganismos, sendo o crescimento de vegetação muito fraco ou inexistente nos pontos em que se concentrou o material mais grosseiro. Aliado aos danos físicos edáficos, de acordo com IBAMA (2015) e Silva et al. (2015), o processamento do minério, utiliza materiais e combinações potencialmente tóxicas aos sistemas biológicos, configurando um cenário alarmante para os processos dinâmicos naturais da bacia hidrográfica e suas repercussões à saúde ambiental, animal e social.

Em eventos semelhantes ocorridos em outros países, a contaminação por metais pesados é um impacto comumente detectado nas planícies recobertas por materiais oriundos de rompimento de barragens de rejeito de mineração (LIU et al., 2005; KOSSOFF et al., 2014), contudo, como esse cenário repercute nos sistemas biológicos, ainda demandam estudos aprofundados de biomagnificação trófica, mobilidade dos metais, biodisponibilidade, dentre outros, que assegurem informações seguras dos potenciais danos à vida, ao longo da bacia.

Após a passagem por Candonga, a lama de rejeito percorreu ainda mais 550 km até atingir a foz, localizada no município de Linhares, na Vila de Regência/ES (Figura 1), alcançando o oceano atlântico (ANA, 2015; IBAMA, 2015), confinada aos limites do canal do rio, aliviando sua carga sedimentar nos sucessivos barramentos das Usinas Hidrelétricas de Baguari, Aimorés e Mascarenhas (SAADI & CAMPOS, 2015).

A avalanche de rejeito destruiu as vilas de Bento Rodrigues, Pacaratu e a parte baixa de Gesteira, comunidades rurais de Barra Longa e Mariana que foram completamente soterradas. O desastre foi a maior catástrofe ambiental registrada no Brasil (IBAMA, 2015), sendo a maior tragédia provocada por barragens de rejeitos de atividades mineradoras no mundo (FERREIRA, 2016), considerado por muitos, incluindo o Movimento dos Atingidos por Barragem (MAB) e outras organizações que acompanham de perto processos como este, como maior crime socioambiental já vivenciado em território nacional.



Figura 1. Mapa do caminho da lama de rejeito ao longo da bacia do rio Doce. Fonte: Soares (2016).

O desastre sem precedentes históricos acarretou o óbito imediato de 19 pessoas e um abortamento, dentre moradores da comunidade de Bento Rodrigues e funcionários diretos ou indiretos da Samarco, BHP Billiton Brasil Ltda. e Vale S.A., empresas responsáveis pelo complexo Germano (POEMAS, 2015; MPF, 2016).

Durante o episódio, mais de 1200 pessoas ficaram desabrigadas e mais 500 mil atingidas (POEMAS, 2015; MPF, 2016). A maioria delas ainda se encontram nesta situação. Pelo menos 1600 hec de terras foram recobertos pelo rejeito carregado de resíduos do tratamento da mineração, deixando uma espessa capa de material nos solos férteis dos vales (IBAMA, 2015). Tamanha tragédia não será tão brevemente esquecida.

O cenário caótico causado pelo rompimento afetou intensamente áreas ocupadas historicamente por atividades agropecuárias da agricultura familiar, utilizadas para produção de alimento humano e animal, afetando atividades econômicas e colocando em risco a segurança alimentar daqueles que vivem do rio direta ou indiretamente, em diversos níveis.

Devido à tamanha complexidade, não há uma única solução para os problemas relacionados ao desastre. Dentre as prioridades, encontra-se a necessidade de procurar entender se os processos de reabilitação dos solos destas regiões são possíveis ou viáveis, tendo em vista principalmente as comunidades ribeirinhas.

Motivada pela urgência da busca de soluções para os problemas relacionados aos solos, o Ministério Público autorizou a adição de solos da região ao rejeito estagnado nas planícies atingidas, até a UHE de Candonga. O objetivo geral deste estudo foi investigar as relações e efeitos de minhocas no “biocondicionamento” dos solos misturados ao rejeito. Este termo foi utilizado para descrever as funções exercidas pelas minhocas nas alterações e transformações dos atributos físicos e químicos nos substratos testados.

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

i) avaliar a influência dos substratos (misturas de solo e rejeito) na resposta biológica das populações de minhocas da espécie *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) (Rhinodrilidae, Clitellata), a partir dos indicadores de reprodução, taxas de letalidade, biomassa e comportamento;

ii) avaliar o efeito da presença de populações de *P. corethrurus* na pedobioturbação dos substratos e consequentes alterações em parâmetros de qualidade física, química e fertilidade dos solos;

iii) quantificar e avaliar as concentrações dos elementos Fe, Al, Mn, Zn, V, Cu, Cr, Co, Ni, As, Cd, Pb e Hg no solo, rejeito e substratos, bem como em tecidos das minhocas e coprólitos para obtenção de fatores de bioacumulação.

A espécie de minhoca escolhida foi a *Pontoscolex corethrurus*, nativa de regiões tropicais, com ampla distribuição geográfica no Brasil (BROWN et al., 2006) e de comportamento endogeico e geófago (vive e se alimenta de solo), o que a torna apropriada para o estudo de solos contaminados (GARCIA, 2004; BUCH et al., 2017).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Diversidade e funções ecológicas dos anelídeos terrestres

A fauna que habita os solos, conhecida como pedofauna, está situada em três categorias de organismos: a micro, meso e macrofauna, subdividas pelo diâmetro de seus corpos (SWIFT et al., 1979). A macrofauna do solo inclui os invertebrados que possuem o tamanho corporal maior que 2 mm de comprimento, incluindo organismos como, cupins, formigas, minhocas, besouros, tatuzinhos, aranhas, centopeias, baratas, tesourinhas, dentre outros (KORASAKI et al., 2013).

Dos organismos da macrofauna, os grupos taxonômicos dos Oligochaetas, Formicidae e Isopteras modificam as propriedades do solo, atuando na formação de estruturas biogênicas como galerias, ninhos, câmaras e bolotas fecais. Por desempenharem papel fundamental nos ecossistemas edáficos, são conhecidos como “engenheiros do solo” (LAVELLE et al., 1987; LAVELLE, 1988).

O filo dos Annelida é dividido em duas classes, os Polychaeta e os Clitellata, sendo que dentro desta última existem duas subclasses, os Hidudinomorpha e os Oligochaeta (RUPPERT et al., 2005). O grupo dos Oligochaeta inclui uma classe rica em espécies de anelídeos que habitam ambientes aquáticos e terrestres, vulgarmente conhecidos como minhocas. Mais de 1100 espécies de oligoquetas foram descritas da América Latina, principalmente na América do Sul (CHRISTOFFERSEN, 2010). Dentre as espécies descritas, a maioria delas (943 espécies) é terrestre, pertencentes a 13 famílias e 132 gêneros (BROWN et al., 2013).

Em 1881, o naturalista Charles Robert Darwin descreveu pela primeira vez, a influência das minhocas sobre as propriedades do solo em seu livro "*The formation of vegetable mould through the action of worms with observations of their habits*". Em seu livro, Darwin apontou a importância desses organismos como agentes de transporte edáfico, por razão de seu hábito escavatório e capacidade de se deslocar horizontal e verticalmente no ambiente dos solos (FERRAZ & GUERRA, 1983; AQUINO et al., 1994; PATUCCI, 2015).

As funções ecológicas das minhocas beneficiam as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (LEE, 1994; EDWARDS & BOHLEN, 1996, LAVELLE et al., 1987; WOLTERS, 2000; LAVELLE & SPAIN, 2001). A presença de uma determinada espécie ou população de minhoca em um sistema varia de acordo com as condições climáticas (precipitação, temperatura, umidade do ar, etc), edáficas (pH, matéria orgânica, nutrientes, tipo, cor, umidade e temperatura), tipo de vegetação e topografia (declividade e posição fisiográfica) (LAVELLE et al., 1987; REYNOLDS & WETZEL, 2008).

A movimentação desses animais transporta minerais e compostos orgânicos do solo das camadas mais superficiais para camadas mais profundas e vice versa, melhorando a qualidade do solo. As minhocas, de modo geral, aumentam a porosidade e reduzem a densidade do solo, melhorando a aeração, infiltração de água e estabilidade de agregados. Ao digerir o material orgânico asseguram um melhor aproveitamento das reservas húmicas do solo, ofertando nutrientes às raízes, influenciando diretamente na regulação das populações microbianas nos solos, dispersando microrganismos na forma de células e esporos, melhorando a disponibilidade de recursos para outros organismos (LEE, 1985; LAVELLE et al., 1987; LEE, 1994; EDWARDS & BOHLEN, 1996, WOLTERS, 2000; LAVELLE & SPAIN, 2001; BARTZ et al., 2010).

As minhocas possuem relações mutualísticas com microrganismos presentes no solo, dispondo de enzimas próprias e populações microbianas em seu trato digestório (LAVELLE, 1988; LIU et al., 2010) que auxiliam na mistura do material presente na solução dos solos, melhoram as taxas de mineralização e liberam nutrientes essenciais para as plantas, como N, P, Mg, S e K (LEE, 1985; LAVELLE, 1988; EDWARDS & BOHLEN, 1996). Os coprólitos (excremento das minhocas) possuem secreções contendo humato de cálcio, produzidos no intestino dos animais que liberam cálcio pelas glândulas calcíferas, servindo como agente cimentante para as partículas (EDWARDS & BOHLEN, 1996).

Alguns anelídeos possuem ainda a capacidade de assimilar fácil e eficientemente a matéria orgânica do solo (MOS), inclusive de solos com menores teores de MOS, diversificando microrganismos do trato intestinal, fator que possibilita a colonização variada de habitats diversos (BAROIS et al., 1999).

Estudos realizados com vermicompostagem demonstraram que a matéria orgânica (MO) presente nos coprólitos, é mais estabilizada do que a MOS,

manifestando teores de carbono (C) na forma humificada com maior capacidade de troca de catiônica (CTC), maior retenção de umidade e mineralização mais lenta (AQUINO et al., 1992).

Os hábitos alimentares das diferentes espécies influem nos efeitos sobre a fragmentação e incorporação da MOS, sendo que somente uma pequena porcentagem é assimilada por estes organismos como forma de alimento, de 2 a 20%, dependendo da espécie, sendo o restante depositado nos coprólitos (LAVELLE; 1988; BARTZ et al., 2010).

A produção de coprólitos pode atingir de 1,5 a 120 t ha⁻¹ ano⁻¹ em regiões temperadas e de 50 a 2.600 t ha⁻¹ ano⁻¹ em regiões tropicais (LEE, 1985), variando de acordo com a espécie, idade, tamanho, estrutura da população, época do ano, qualidade da matéria orgânica ingerida, temperatura, disponibilidade de água e textura do solo (ZOU, 1993; TIUNOV & SCHEU, 2000).

2.2. Categorias Ecológicas

As minhocas podem ser agrupadas em três grandes grupos funcionais conforme a estratificação vertical de uso dos solos, hábitos alimentares e características morfológicas. Os grupos funcionais são: epigeicas, endogeicas e anécicas (BOUCHÉ, 1977; BAROIS et al., 1999).

As epigeicas vivem em grande parte na serapilheira, habitam e se alimentam do horizonte orgânico em decomposição, geralmente apresentam tamanho pequeno, constroem galerias verticais e são pigmentadas (BAROIS et al., 1999).

As endogeicas locomovem-se formando galerias verticais e horizontais, alimentando-se de material orgânico já decomposto presente na solução dos solos, sendo por isto, classificadas como geófagas. Este é um grupo importante para a pedobioturbação dos 30 cm superiores do solo sendo divididas em: (1) endogeicas mesohúmicas, que habitam os horizontes A e B, possuem tamanho médio, formam galerias verticais e horizontais e não possuem pigmentação; (2) endogeicas polihúmicas, habitam o horizonte A, alimentando-se de solo rico em matéria orgânica, são pequenas e não possuem pigmentação, formam galerias horizontais e; (3) endogeicas oligohúmicas, que habitam os horizontes B e C, alimentando-se de solos profundos com pouca matéria orgânica e são de tamanho maior em relação às outras endogeicas (BAROIS et al., 1999).

As minhocas anécicas, escavam galerias verticais permanentes e extensas nos horizontes A e B onde vivem, emergindo a superfície para se alimentar de resíduos orgânicos e depositar seus excrementos. Possuem pigmentação dorsal, são grandes em relação às outras categorias funcionais, apresentando de maneira geral hábitos noturnos (BAROIS et al., 1999).

2.3. Aspectos comportamentais e reprodutivos

As minhocas são extremamente lucífugas (reagem à luz) e sensíveis ao toque (tigmotacismo positivo) por conexões nervosas em toda extensão do corpo. Sua locomoção é efetiva no meio de detritos vegetais ou na solução dos solos por contrações peristálticas. Ao se movimentarem no solo e liberar seus coprólitos constroem galerias e estabilizam estruturas biogênicas (RUPPERT et al., 2005).

As minhocas são hermafroditas, apresentando órgão reprodutor masculino e feminino no mesmo indivíduo, entretanto na grande parte das espécies, são necessários dois indivíduos para que ocorra o estímulo à reprodução. Após a cópula e troca de gametas ocorre a fecundação na região clitelar (área mais espessa que se situa na porção anterior da minhoca, sendo facilmente visível em indivíduos adultos), e alguns dias depois são excretados os casulos, com deposição dos ovos envolvidos em um muco do clitelo (AQUINO et al., 1992; RUPPERT et al., 2005), variando o número de juvenis por casulo de acordo com a espécie.

A aeração e o pH dos solos, a qualidade e quantidade de resíduo orgânico e variáveis como clima (temperatura e umidade) e disponibilidade de água no solo, são fatores limitantes para atividade e reprodução das minhocas e que confinam estes animais a habitats úmidos (FERRAZ & GUERRA, 1983).

2.4. Bioindicadores

Organismos invertebrados do solo como minhocas, têm sido utilizados como bioindicadores de qualidade do solo, com menor ou maior sensibilidade dependendo da espécie (BENGTSSON & TRANVIK, 1989; FRÜND et al., 2011), isto porque alterações ambientais podem causar diferentes respostas comportamentais e fisiológicas (TURCO & BLUME, 1999; VEZZANI & MIELNICZUK, 2009, FRÜND et al., 2011) às minhocas. Segundo Brown & Domínguez (2010), parâmetros biológicos

tendem a ser mais sensíveis e reacionar mais rapidamente quando comparados a parâmetros físicos, além de serem mais facilmente coletados para pesquisas.

Os anelídeos são muito sensíveis a práticas agrícolas, como aração, gradagem e uso de agrotóxicos (LEE 1985; EDWARDS & BOHLEN 1996; GARCIA, 2004; BUCH et al., 2011). Um bom indicador de qualidade do solo segundo Vezzani & Mielniczuk (2009), deve ser aquele capaz de elucidar os processos biológicos, físicos e químicos do solo e integrar propriedades ecológicas do sistema solo-planta.

A importância desses anelídeos como bioindicadores para a bioacumulação de metais pesados em ecossistemas terrestres é amplamente reconhecida, pois há uma correlação entre ambientes contaminados e alterações na biomassa das minhocas, sua abundância (MENZIE et al., 1992; SPURGEON et al., 1996; DOUBE & SCHMIDT, 1997) e comportamento.

Ao escavar e ingerir solo ou serapilheira contaminados, os anelídeos entram em contato com poluentes, dissolvidos na solução do solo ou adsorvidos nas partículas minerais e na matéria orgânica. No caso das minhocas endogeicas, por se alimentarem de grandes quantidades de solo e conseqüentemente, manter contato mais intenso com as soluções do solo, são mais propícias à absorção de contaminantes, por meio de contato direto dermal ou via aparelho digestório, podendo ocasionar intoxicação, mortalidade, incorporação ou bioacumulação desses poluentes nos tecidos dos animais (BENGTSSON & TRANVIK, 1989; VISWANATHAN, 1994; CORTET et al., 1999; VANDECASTEELE et al., 2004). Diversos autores evidenciam a alta capacidade das minhocas em armazenar grandes quantidades de metais em seus tecidos (MORGAN & MORGAN, 1998, 1999; KIZILKAYA, 2004; FRÜND et al., 2011; DUARTE et al., 2014).

O conhecimento das concentrações de metais pesados sobre os tecidos das minhocas é essencial para avaliação de risco ambiental, na transferência de poluentes para outros níveis tróficos (LANNO et al., 2004; VANDECASTEELE et al., 2004) Segundo Wong & Ma (2008), a mistura e quebra dos agregados do solo, materiais húmicos e detritos no intestino das minhocas aumentam a imobilização dos metais.

Conforme demonstrado em estudos realizados por Usmani et al. (2017), a bioacumulação é uma medida biológica direta da biodisponibilidade de um metal, quantificando a real absorção de metal pela minhoca durante a exposição ao substrato. O fator de bioacumulação (FBA) para metais varia amplamente com o

metal específico, o organismo específico, a idade do indivíduo e circunstâncias da exposição. Os metais têm diferentes propriedades químicas e as diferentes espécies de minhocas têm seus comportamentos fisiológicos específicos sob diferentes estágios de vida. A combinação desses fatores contribui para a variação na bioacumulação de metais entre espécies de minhocas.

2.5. *Pontoscolex corethrus* (Müller, 1857) (Rhinodrilidae, Clitellata)

A *P. corethrus*, também conhecida como “minhoca-mansa” ou “rabo-de-escova” (devido ao tamanho e disposição das cerdas pontiagudas na região posterior), é originária do Platô das Guianas (RIGHI, 1984), possui distribuição pantropical e peregrina. A mais de 160 anos, o naturalista alemão Fritz Müller descreveu a espécie e apontou como sendo a mais comum das minhocas no Brasil, podendo ser encontrada em quase todos os torrões de solo arável (MÜLLER, 1857).

A espécie apresenta comportamento generalista (RIGHI, 1984; LAVELLE et al., 1987; BROWN et al., 2006) e já foi encontrada em solos arenosos ou argilosos, com pH básico ou ácido, baixo a alto conteúdo orgânico, em pastagens, savanas, plantações de árvores ou florestas secundárias (KNÄPER & PINTO PORTO, 1979; LAVELLE et al., 1981; FRAGOSO, 1985; LAVELLE et al., 1987). Devido a sua capacidade em adaptar-se às condições ambientais variadas, a *P. corethrus* é considerada uma espécie de grande relevância ecológica para recuperação de solos tropicais, beneficiando-se de nichos desocupados e aumentando suas populações (LAVELLE et al., 1987; BROWN & DOMINGUEZ, 2010; BUCH et al., 2011).

A espécie é endogeica com hábitos que variam entre polihúmica e mesohúmica (RIGHI, 1984; LAVELLE, 1981; LAVELLE et al., 1987; BROWN et al., 2006), possui o corpo com uma média de 166 a 210 segmentos (NAIR et al., 2009), comprimento entre 7 a 10 cm, diâmetro entre 3 a 4 mm, é apigmentada e a biomassa de um adulto varia entre 0,6 a 3,5 g (LAVELLE et al., 1987).

Diferente da maioria das minhocas, a *P. corethrus* é uma espécie partenética (clonal), podendo em alguns casos ocorrer fecundação cruzada, contudo um indivíduo introduzido pode gerar uma nova população (LAVELLE et al., 1987; DUPONT et al., 2012). A excelente capacidade de colonização devido a sua estratégia reprodutiva ajuda a explicar a invasão bem sucedida de espécie nos trópicos (FRAGOSO et al., 1999).

Grupos diferentes de minhocas apresentam formas distintas de interação com os ambientes. A *P. corethrurus*, tem preferência pela matéria orgânica particulada (fração leve), é uma espécie que convive bem a concentrações baixas de nutrientes, incluindo o nitrogênio e matéria orgânica (LAVELLE et al., 1987). Em cultivos de populações desta espécie, Hernández-Castellanos et al. (2010), observaram que a produção de coprólitos foi maior nos solos com menor teor de matéria orgânica. Estudos realizados por Bartz et al. (2010), com a espécie em diferentes sistemas de manejo, constataram o aumento nos valores de pH e coprólitos significativamente enriquecidos em COT (Carbono Orgânico Total), fósforo (P) e enxofre (S) e com capacidade de troca catiônica (CTC) mais alta do que o entorno.

A eficiência e resiliência deste grupo funcional pode advir da capacidade da espécie em selecionar o solo ingerido (BAROIS et al., 1999). Observações de populações de minhocas em áreas superficialmente contaminadas, indicaram que os anelídeos se alimentavam preferencialmente de material de solo menos poluído do perfil e mais profundos (YEATES et al., 1994).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de Estudo

As amostras de solo e rejeito foram coletadas no município de Rio Doce, onde está instalada a Usina Hidrelétrica (UHE) Risoleta Neves/Candonga. Os pontos de amostragem dos materiais distanciam-se aproximadamente 12 km à montante da UHE ($20^{\circ}15'24.93''\text{S}$, $42^{\circ}54'25.13''\text{O}$) e 65 km a jusante da origem do desastre (Figura 2).



Figura 2. Imagem de satélite da área de estudos e pontos de coleta dos materiais para o experimento. Fonte: Google Earth (2017).

As amostras de rejeito foram coletadas em um banco (ilha), formada pelo refluxo do material na Hidrelétrica, com três pontos de coleta em blocos inteiramente casualizados. O rejeito utilizado no experimento, não é um rejeito de composição idêntica ao original da barragem de Fundão, por já ter percorrido os rios Carmo e Gualaxo do Norte. O material consiste em uma mistura de rejeito e sedimentos do fundo dos rios, representando uma composição física parecida ao material que

atualmente encontra-se estagnado planícies fluviais atingidas, com a sua composição única daquele ponto de coleta (Figura 3b). Os solos de referência foram coletados das baixas encostas adjacentes, que não continham traço de contaminação pelo rejeito, em três blocos inteiramente casualizados, representando os horizontes superficiais. De acordo com EMBRAPA (2013), o solo foi classificado como Cambissolo Háplico Tb Distrófico latossólicos (Figura 3a).



Figura 3. Materiais coletados para o experimento: a) *Topsoil* - Cambissolo da região; b) Rejeito. Fonte: A autora.

Em maio de 2017 foram coletados aproximadamente 200 kg de rejeito e solo e encaminhados ao laboratório de Matéria Orgânica do Departamento de Solos da UFV, para a preparação do material. Amostras de rejeito e solo foram coletadas em dias diferentes da mesma semana, evitando o contato dos materiais no transporte e preparação. Os materiais coletados foram destorroados, peneirados a 4 mm, homogêneos, secos ao ar e armazenados. Amostras dos materiais iniciais foram separadas e encaminhadas para análises físicas e químicas, para obtenção da caracterização testemunho dos materiais, comparados posteriormente aos substratos resultantes dos ensaios biológicos.

Durante o processamento dos materiais foram encontradas larvas de coleópteros no rejeito e minhocas do gênero *Amyntas* no solo. O material biológico foi separado e descartado para evitar contaminação do experimento.

3.2. Ensaio Biológico

Para realização do experimento crônico foram construídos 15 aquários, em vidro temperado (8mm de espessura) com dimensões de 30 x 30 x 40 cm, permitindo a introdução de um volume de 27 mil cm³ de material em cada unidade

experimental (Figura 4a). O peso total dos aquários variou entre os tratamentos (substratos) por consequência da densidade dos materiais. O volume do material acrescido aos aquários preencheu enquanto secos 30 cm do perfil, em todas as unidades experimentais (Figura 4g). A escolha do vidro para realização do experimento se deu por possibilitar a avaliação tridimensional da evolução dos processos e por ser o material mais aconselhável em ensaios com elementos traço, não adsorvendo estes elementos (Figura 4e). Para evitar a retenção de umidade nos aquários, todos foram perfurados embaixo e uma camada de brita zero foi disposta ao fundo entre duas telas de sombrite (Figura 4b, c, d), visando auxiliar a drenagem nas unidades experimentais.

Nos aquários colocou-se substratos preparados com proporções crescentes de rejeito, variando entre 0%, 25%, 50%, 75% e 100% misturados ao solo, totalizando cinco tratamentos, em triplicata (Figura 4g, i). Previamente os substratos foram homogeneizados manualmente em caixas plásticas, durante aproximadamente 30 minutos cada, com o acréscimo de um dm^3 de esterco bovino curtido, peneirado a 4 mm e desfaunado, em três ciclos consecutivos de congelamento e descongelamento (PESARO et al., 2003).

O volume acrescido de esterco foi o equivalente a aproximadamente 3% do volume total de substrato para cada unidade experimental. Esta quantidade foi suficiente para manter as populações de minhoca, sem escassez de alimento e sem a necessidade de manejo durante o experimento. Como o material do rejeito continha pouco material orgânico, optou-se em uniformizar a quantidade para todas as unidades experimentais, utilizando o mesmo procedimento das misturas.

Durante o preenchimento dos aquários, sensores de umidade e temperatura do solo (CCS 655[®]) foram instalados nos aquários, em uma das repetições de cada tratamento, nas profundidades de 10 e 20 cm, totalizando 10 sensores. O sistema de monitoramento foi programado com o minidatalogger CR3000[®] (Campbell, 2007) e realizadas leituras de hora em hora (Figura 4h).

Cada unidade experimental foi cuidadosamente montada para não haver compactação do substrato nos aquários sobre a base de drenagem. Como os valores da capacidade de campo dos materiais eram variáveis (entre 0,30 kg kg^{-1} para o solo e 0,19 kg kg^{-1} para o rejeito) padronizou-se a quantidade de água para todas as unidades experimentais. Após os substratos terem sido adicionados aos aquários, cada um recebeu 10 L de água deionizada, tomando-se o cuidado de

umedecer todas as regiões das unidades experimentais da forma homogênea, com auxílio de um regador, mantendo todos os substratos a sua capacidade de campo.

Os aquários foram deixados para estabilização do material, por um período de uma semana e monitoradas quanto aos valores de umidade e temperatura. Para evitar o efeito de fototropismo sobre o comportamento dos animais, os aquários foram cobertos por lona durante todo o experimento (Figura 4i).



Figura 4. Sequência de montagem das unidades experimentais: a) Aquários montados e lavados com orifício de circular para drenagem da água; b) Primeira camada de sombrite; c) Camada de brita; d) Segunda camada de sombrite; e) Aquários dispostos para montagem; f) Peneiramento do material do rejeito; g) Primeira linha experimental montada; h) Sensores de acompanhamento instalados; i) Linhas experimentais prontas (período de estabilização) cobertas de lona preta. Fonte: A autora.

As matrizes de minhocas foram obtidas junto à empresa Minhobox[®], sendo os animais submetidos a dois estágios de aclimação após sua chegada. No primeiro momento os animais foram deixados no solo originário da cidade de Rio Doce por uma semana, para expurgo do conteúdo intestinal fornecido pela empresa, descrito como semissintético (Figura 5a). Em um segundo momento, 18 grupos de 27 indivíduos adultos foram selecionados manualmente por estágio de maturação (clitelo evidente), peso e tamanhos semelhantes (Figura 5b, c, d), lavados com água limpa e 15 grupos (Figura 5e, f), dispostos nas superfícies das unidades experimentais para mais um dia de aclimação em cada substrato. Outros três grupos de 27 indivíduos foram separados como grupos testemunhos, pesados (Figura 5g), deixados em água deionizada para a eliminação do conteúdo intestinal

(Figura 5h), congelados em ultrafreezer e macerados para posterior abertura e leitura do material (Figura 5i). Cada grupo foi pesado com balança semi analítica de precisão antes da introdução no experimento e as populações padronizadas em pesos que variaram entre 16 e 17 g por grupo. Os animais mortos na superfície, no período de aclimação foram substituídos por indivíduos com as mesmas características.



Figura 5. Etapas iniciais dos procedimentos com as minhocas: a) Chegada dos animais e colocação nos substratos para aclimação; b) Retirada dos grupos aclimatados no solo da região; c) Separação dos indivíduos com auxílio da peneira; d) Escolha dos animais adultos; e) Separação por populações; f) Animais separados, prontos para colocação nas unidades experimentais; g) Pesagem dos grupos testemunhos; h) Expurgo do conteúdo intestinal dos animais; i) Maceração dos animais após congelamento, para abertura da amostra. Fonte: A autora.

Semanalmente, os aquários foram observados, fotografados (Nikon, D80[®]) e verificados os conteúdos de umidade e temperatura com o auxílio do minidatalogger.

Na sexta semana após a introdução dos anelídeos, 1 L de água deionizada foi acrescida em cada aquário, para padronizar a umidade e avaliar as alterações entre profundidades do efeito da pedobioturbação já realizada até o momento e a partir dele.

O ensaio biológico foi acompanhado durante 12 semanas (84 dias), avaliando-se semanalmente novas estruturas biogênicas formadas ao longo do período experimental e aspectos comportamentais visíveis através dos aquários (Apêndice C). Ao final, investigou-se a influência do aumento da concentração das misturas de rejeito, no desenvolvimento das populações de minhocas. Para avaliação e comparação de parâmetros biológicos entre as populações, analisou-se a reprodução, biomassa total, taxa de letalidade, aspectos morfológicos e comportamentais e organismos autóctones encontrados.

Os testes reprodutivos consistiram em submeter os organismos a diferentes concentrações de rejeito e após 12 semanas, os efeitos na reprodução avaliados pela contagem do número de descendentes, como sugerido pelo método ISO 11268-2 (2012).

Para avaliação da letalidade, ao final do experimento os indivíduos adultos foram contabilizados, comparando-se o valor encontrado com o número adicionado no início do experimento. A morfologia e comportamento dos animais sobreviventes foram avaliados. As minhocas e casulos encontrados foram avaliados separando-os por estágio de maturação em três grupos: indivíduos adultos iniciais (clitelados), indivíduos juvenis (não clitelados) e casulos, para isso a coleta manual e cuidadosa foi realizada, averiguando-se criteriosamente cada parte dos substratos. Os adultos foram lavados em água limpa, secos em papel toalha e pesados com a mesma balança de precisão utilizada no início do estudo, para obtenção da biomassa fresca das populações. Para o cálculo da biomassa, a quantidade de animais que não sobreviveram durante ao experimento foram descritos e descontados.

Posteriormente os animais foram deixados 24 h em água deionizada para a eliminação do conteúdo intestinal. Após esse período, os anelídeos foram secos em papel toalha e separados por população de cada aquário, pesados, congelados em ultrafreezer, liofilizados e macerados com auxílio de almofariz de ágata para digestão e leitura em ICP-OES (Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente) de teores químicos totais.

Amostras dos substratos e coprólitos (visíveis na superfície) foram retiradas e separadas por unidade experimental, para digestão e leitura em ICP-OES de teores químicos totais (200 mesh) e para a quantificação dos teores totais de C e N (100 mesh).

Posterior ao processamento e leitura dos materiais, foram analisadas e comparadas alterações químicas entre as populações, relacionadas aos substratos e coprólitos e entre tratamentos, sendo possível observar tendências de bioacumulação entre teores obtidos. Optou-se pela utilização da normativa internacional OECD 317 (2010) para cálculos do Fator de Bioacumulação (FBA). Segundo a OECD 317 (2010), para obtenção do FBA, divide-se os teores em mg/kg^{-1} de material de minhoca ou coprólito em razão dos teores obtidos em mg/kg^{-1} de substrato.

3.3. Caracterização Física

As análises físicas (EMBRAPA, 2017) compreenderam avaliações antes e após o término do experimento, quando foram coletadas em cada aquário (unidade experimental) quatro amostras indeformadas (Figura 6a, b) e 500 g de amostra deformada, em duas profundidades (0,10–0,15 e 0,20–0,25 cm) dos substratos. Durante a coleta de minhocas, as amostras indeformadas foram coletadas em cilindros de aço de aproximadamente 5 cm de altura e diâmetro, no centro e na lateral dos aquários. Para a caracterização física inicial, uma amostra deformada de 500 g dos materiais originários de solo e rejeito foi coletada após o peneiramento em laboratório, para comparação aos substratos finais.

Nas amostras indeformadas foram determinados: densidade do solo (D_s), resistência mecânica do solo à penetração (RP), condutividade hidráulica do solo saturado (CH) e curva característica de água no solo (CRA). As amostras deformadas foram utilizadas para a obtenção da densidade de partículas (D_p), granulometria, e estabilidade de agregados (EA) em via úmida, obtendo-se os índices diâmetro médio geométrico (DMG) e diâmetro médio das partículas (DMP). Com as variáveis D_s e D_p foi calculada a porosidade total (PT) do solo.

A RP foi determinada em laboratório com um penetrômetro de bancada (Marconi, MA 933[®]) conectado a um computador. As amostras indeformadas foram previamente equilibradas a -10 kPa de sua capacidade de campo (Figura 6c), como sugerido por Petter (1990). Após o período de equilíbrio das amostras, os anéis foram dispostos no equipamento que mede a relação entre tempo e força de penetração nas amostras, como cada amostra tem 5 cm, os primeiros e últimos centímetros foram desprezados nos cálculos para evitar erros na obtenção de dados. Os cálculos da RP foram expressos em MPa (BUSSCHER, 1990).



Figura 6. a) Coleta de amostra indeformada em profundidade de 10 cm; b) Exemplo de amostragem pronta para encaminhamento ao laboratório; c) Amostras sendo equilibradas para a primeira análise; d) Avaliação da CH das amostras; e) Medidor de pressão câmara de Richards; f) Mesa de tensão com as amostras. Fonte: A autora.

Para avaliação da CH do solo saturado com permeâmetro de carga constante, foi utilizado o método proposto por Klute & Dirksen (1986) (Figura 6d). A CRA foi obtida por meio da exposição das amostras a diferentes potenciais de água no solo: -6, -10, -33, -100, -300, -500 e -1500 kPa, em mesa de tensão e câmara de Richards (Figuras 6e, f).

Na determinação da Dp utilizou o método do balão volumétrico, com álcool etílico como líquido penetrante.

A avaliação da agregação do solo foi realizada via agitação úmida, com amostras deformadas. Após agitação em água, as amostras foram passadas em cinco peneiras de malhas diferentes, que recolheram diferentes classes de agregados. Com a massa dos agregados, após secagem em estufa, calcularam-se os índices DMP (VAN BAVEL, 1949) e DMG (GARDNER, 1956).

A granulometria das amostras foi obtida após dispersão lenta com NaOH, sendo obtidas as frações areia grossa (2 a 0,2 mm), areia fina (0,2 a 0,05 mm), silte (0,05 a 0,002 mm) e argila (<0,002 mm). Também foi determinada a argila dispersa em água (ADA) seguindo-se mesmo procedimento da granulometria, salvo o uso do dispersante químico. O Índice de Dispersão (ID) foi calculado através dos valores obtidos da ADA em relação a argila total.

3.4. Caracterização Química

3.4.1. Atributos de Fertilidade

As análises de fertilidade das amostras testemunhos e substratos foram realizadas no Departamento de Solos da UFV, onde se avaliou segundo EMBRAPA (2017): pH em água e em solução de KCl 1 mol L⁻¹ relação 1:2,5; acidez trocável (Al³⁺), Ca²⁺ e Mg²⁺ - extraídos por KCl e quantificados por espectrofotometria de absorção atômica (Ca²⁺ e Mg²⁺) e por titulação com solução NaOH 0,025 mol L⁻¹ (Al³⁺); P, K, Fe, Na, Zn, Mn, Cu, Cd, Pb, Ni e Cr, extraídos em solução Mehlich (HCl 0,05 mol L⁻¹ + H₂SO₄ 0,0125 mol L⁻¹); sendo quantificados por fotometria de chama (P e K) e absorção atômica; acidez potencial (H+Al) - extraída com acetato de cálcio (0,05 mol L⁻¹) a pH 7.

A partir desses resultados, calcularam-se a soma de bases trocáveis (SB), capacidade de troca catiônica efetiva (t) e capacidade de troca catiônica potencial a pH 7,0 (T). Na extração do enxofre (S) foi utilizado o fosfato monocálcico em ácido acético, e na do boro (B), foi usado água quente como extrator. O fósforo remanescente (P-rem) foi determinado com solução de CaCl₂ 10 mol L⁻¹ e posteriormente calculado o P-relativo (disponível).

3.4.2. Teores totais de C e N

Os teores de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT), utilizados no cálculo do teor de matéria orgânica (MO), foram titulados após oxidação em via úmida com aquecimento, com solução de $K_2Cr_2O_7$ em meio ácido (YEOMANS & BREMNER, 1988).

Os teores totais de C e N nos substratos e nos coprólitos, foram analisados pelo método de ignição em Analisador Elementar (Perkin Elmer, Serie II 2400[®]) de combustão seca (WALKLEY & BLACK, 1934).

3.4.3. Teores químicos totais

Para análise da composição de teores dos elementos químicos totais, realizou-se a digestão dos materiais testemunhos, substratos, tecidos dos anelídeos, coprólitos e esterco, após abertura das amostras. Os elementos selecionados para análise foram quantificados para ferro (Fe), alumínio (Al), manganês (Mn), zinco (Zn), vanádio (V), cobre (Cu), cromo (Cr), níquel (Ni), bário (Ba), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), mercúrio (Hg) e arsênio (As).

O método para abertura das amostras utilizado foi o EPA 3051A da *United States Environmental Protection Agency* (USEPA, 2007), que consiste na digestão de 0,500 g de amostra em solução 3:1 de ácido nítrico e clorídrico, respectivamente, após trituração em almofariz de ágata e peneirados a 200 mesh, em peneira com abertura de 74 μ m. A digestão das amostras foi realizada em forno de microondas, modelo Anton Paar[®] (Multiwave ECO, 2003) e resfriadas à temperatura ambiente. Os extratos foram filtrados em papel de filtro quantitativo, transferidos para balões volumétricos aferidos em 50 mL, completando-se o volume com água ultrapura. Todos os ácidos apresentavam pureza analítica e provenientes da Merck[®].

A quantificação de todos os elementos foi realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), em equipamento modelo Optima 8300 da Perkin Elmer[®]. As curvas de calibração foram preparadas na mesma matriz utilizada na digestão das amostras. Para controle de qualidade das análises, a cada digestão utilizou-se 0,500 g de amostras certificadas de *NIST SRM 2709a - San Joaquin Soil (Baseline Trace Element Concentrations)*. Após a quantificação, os dados foram cálculos, ajustados às médias das triplicatas e os brancos descontados.

As análises dos testemunhos, substratos e esterco foram realizadas em triplicata por unidade experimental, totalizando nove amostragens verificadas. As amostras de tecido de minhoca e coprólitos foram geradas em duplicata por unidade experimental, devido à quantidade reduzida de materiais ao final do experimento, totalizando seis amostragens por unidade experimental.

No caso específico do Fe, sabendo-se que rejeito e solo são abundantes quanto ao elemento, para haver leitura diluiu-se as alíquotas do resultante dos testemunhos e substratos 25 vezes em água ultrapura, dos coprólitos em 10 vezes e realizada a leitura em absorção atômica. Ao final das leituras todos os valores foram ajustados às médias.

As análises de quantificação totais de Hg foram mensuradas apenas para os substratos dos tratamentos, utilizando espectrômetro de absorção atômica (Lumex RA-915[®]), com unidade de pirólise (RA-915M), onde a matriz da amostra é incinerada e os átomos de Hg quantificados.

Para a verificação dos Fatores de Bioacumulação (FBA) (OECD 317, 2010) referentes ao Fe, Al, Mn, Zn, V, Cu, Cr, Ni, Ba, Cd, Pb, Co e As, utilizou-se os teores encontrados nos tecidos das minhocas e nos coprólitos, entre substratos (tratamentos), como descrito ao final do Item 3.2.

Os teores de elementos químicos presentes nas amostras testemunhos, substratos e coprólitos foram comparados com os Valores de Referência de Qualidade (VRQ) para solos de Minas Gerais (COPAM 166/2011) e para solos do Brasil (CONAMA 460/2013) (Apêndice A).

3.5. Análises Estatísticas

Para a análise dos dados, utilizou-se estatística não paramétrica. Para análises de indivíduos de minhoca e letalidade, foram realizados os testes de normalidade Shapiro Wilk e Komorogov, a 5% de significância, com auxílio do software estatístico Action Stat 3[®] e todos os gráficos plotados, utilizando o programa SigmaPlot[®], versão 12.0-Systat[®]. Para as outras variáveis biológicas e teores de C e N totais os gráficos também foram plotados utilizando-se o programa SigmaPlot[®], versão 12.0-Systat[®] e realizada a análise descritiva.

Para variáveis físicas, os testes representam triplicadas de cada unidade experimental, avaliados nove vezes para cada atributo e apresentadas as médias, os dados foram apresentados em tabela ou gráficos tipo *boxplot* e posteriormente

submetidos à análise multivariada PCA (*Principal Component Analysis*), no programa estatístico R[®] e realizadas as análises descritivas. Gráficos de acompanhamento de temperatura e umidade, também foram plotados através do R[®] (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

Os dados relativos aos parâmetros de fertilidade, atributos físicos e teores químicos totais foram plotados em tabelas e realizada a análise descritiva.

Os dados dos fatores de bioacumulação são apresentados em gráficos tipo *boxplot*, apresentando as médias em linhas horizontais, as variações entre tratamentos dentro de caixas e o coeficiente de variação em linhas verticais. Os gráficos foram gerados pelo programa estatístico R[®] (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação das populações

4.1.1. Reprodução

As maiores taxas de reprodução nos aquários, identificadas pelos números de casulos e indivíduos jovens, ocorreram nas faixas intermediárias de rejeito 50% e 75% (Figura 7).

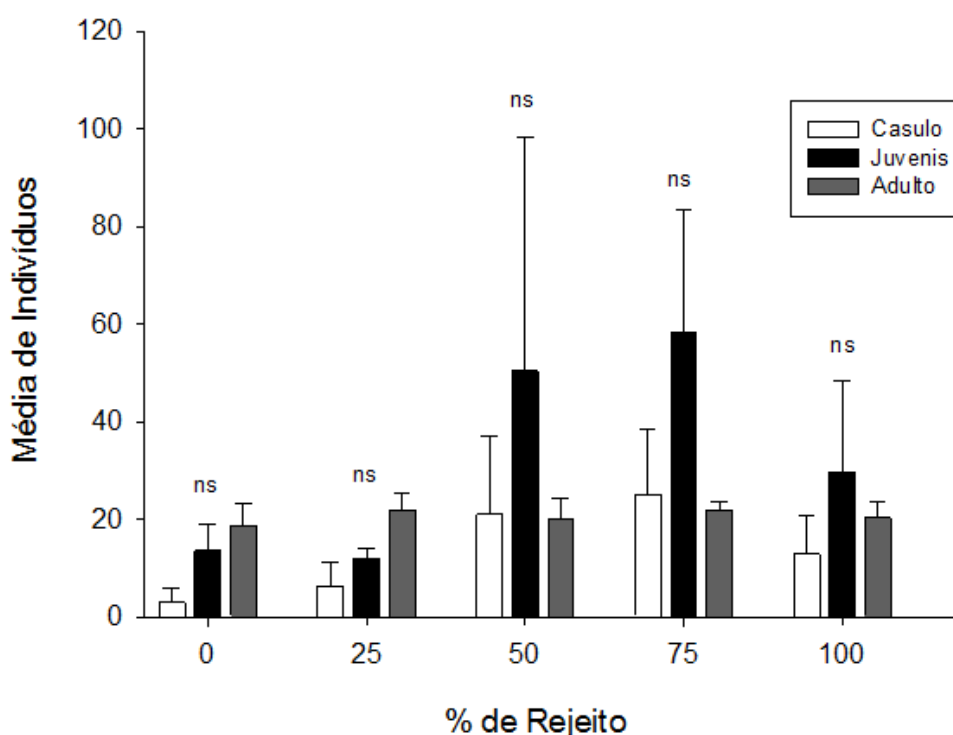


Figura 7. Número de indivíduos de *P. corethrus* encontrados em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos.

Segundo Bhattacharjee & Chaudhuri (2002), em condições ideais e controladas de temperatura e umidade a *P. corethrus* tem uma taxa média de produção anual de 118 casulos por indivíduo. De acordo com Buch et al. (2011), o período de formação do casulo é de aproximadamente quatro dias. O experimento foi acompanhado por 12 semanas, portanto, esperava-se em condições ideais, uma taxa de produção de pouco mais de 25 casulos por indivíduo, totalizando quase 800

estruturas reprodutivas, entre casulos e indivíduos recém-eclodidos por população, ao longo do experimento.

Segundo diversos estudos com a espécie, o tempo de incubação dos casulos (da colocação até sua eclosão) varia entre 21 e 52 dias, em temperaturas entre 19,2°C e 32°C (ARUNACHALAM, 1978; GARCÍA & FRAGOSO, 2002; BHATTACHARJEE & CHAUDHURI, 2002). Buch et al. (2011), encontraram em ambiente controlado, uma média de tempo de maturação variando entre 31 e 34 dias, com tempos de incubação de casulos mais rápidos em temperaturas mais elevadas (FERRAZ & GUERRA, 1983; BUCH et al., 2011). Outros estudos relacionam o crescimento da minhoca a temperaturas entre 20°C e 30°C, sendo o crescimento duas vezes mais rápido em 25°C do que a 20°C e a atividade reprodutiva restrita a faixas acima de 23°C (LAVELLE et al., 1987; FRAGOSO, et al., 1999).

As temperaturas monitoradas entre tratamentos, não demonstraram grandes variações, diferenciaram-se entre os meses do experimento (Apêndice B). O primeiro mês (julho) apresentou leituras pouco propícias à atividade dos animais e o último (setembro), denotou temperaturas mais adequadas à atividade reprodutiva. Este acompanhamento revela que a temperatura foi um dos fatores que influenciou negativamente na atividade reprodutiva das minhocas, em todos os tratamentos, corroborando os estudos citados.

Tabela 1. Temperaturas mínimas e máximas registradas por tratamento durante o período experimental (Compilação do Apêndice B).

Temperatura	Substratos				
	0%	25%	50%	75%	100%
Mínima	13°C	13°C	13°C	13°C	13°C
Máxima	26°C	25°C	25°C	26°C	25°C

Outros fatores considerados limitantes a espécie podem estar relacionados à influência dos substratos (físico e químico) e a qualidade da matéria orgânica (FRAGOSO et al., 1999). Satchell (1967), considera haver uma estreita correlação entre o número de casulos produzidos por algumas espécies e a intensidade com que estas foram expostas a fatores ambientais adversos.

Com relação à umidade, acompanhada durante todo experimento (Item 4.2), de acordo com Lavelle et al. (1987), a *P. corethrurus* é totalmente ativa quando o solo encontra-se acima de sua capacidade de campo, fato que ocorreu durante o

presente estudo em todas as unidades experimentais, evidenciando que a umidade não foi fator limitante a atividade dos animais. Fragoso e Lavelle (1992), complementam que a densidade das populações e flutuações na biomassa são dependentes do regime hídrico.

A maior reprodução verificada em quantidades intermediárias (50% e 75%) de rejeito, podem ter ocorrido devido ao aumento das proporções de rejeito, mais arenoso que o solo (Tabela 3). O material mais arenoso pode ter criado ambientes fisicamente mais adequados para *P. corethrurus*, visto que as mesmas se desenvolvem melhor nos solos arenosos (VANDECASTEELE et al., 2004).

Contraditoriamente, nos tratamentos com mais rejeito, o ambiente não foi favorável ao comportamento natural das minhocas. Comportamentos de estresse (enovelamento e mucosidade em excesso), típicos dos anelídeos, foram detectados exclusivamente nas proporções de 75% e 100% de rejeito. Em todos os indivíduos adultos enovelados havia excesso de muco em volta do corpo (Figuras 8e, f). Essas alterações não foram verificadas em outras dosagens de rejeito.

De acordo com Moberg (1987), uma das respostas biológicas a situações estressantes é a alteração comportamental. Os registros de enovelamento ou excesso de excreção de muco são desencadeados por diferentes tipos de estresses. Diversos estudos, com várias espécies diferentes de minhocas, associam estações secas ao período de diapausa, levando os animais a um baixo estado metabólico e ausência de atividade reprodutiva, quando se enovelam em câmaras de estivação, voltando a atividade normal nas estações chuvosas (DARWIN, 1881, HENSEN, 1877, ABELOOS & AVEL, 1928; BOUCHÉ, 1972, 1984; EVANS & GUILD, 1948; LEE 1951, 1985; SAUSSEY, 1966; SATCHELL 1967; MORGAN & WINTERS 1991; JIMÉNEZ et al, 2003, BARTZ et al, 2010). Todos estes estudos associam este comportamento às condições sazonais do ano, contudo, o presente estudo demonstra que o comportamento das minhocas não foi associado às flutuações no regime de umidade ou temperatura, mas às condições edáficas limitantes as quais foram submetidas.

Caso as condições ambientais não se reestabeleçam, o comportamento letárgico registrado, segundo Margalef (1974) e Magalhães & Ferrão Filho (2008), representa uma manifestação que antecede a letalidade dos invertebrados: a imobilidade. As Figuras 8a, b, c e d, representam estruturas encontradas no

tratamento 0% de rejeito e os indivíduos das Figuras 8e e f, no rejeito 75% e 100% respectivamente.

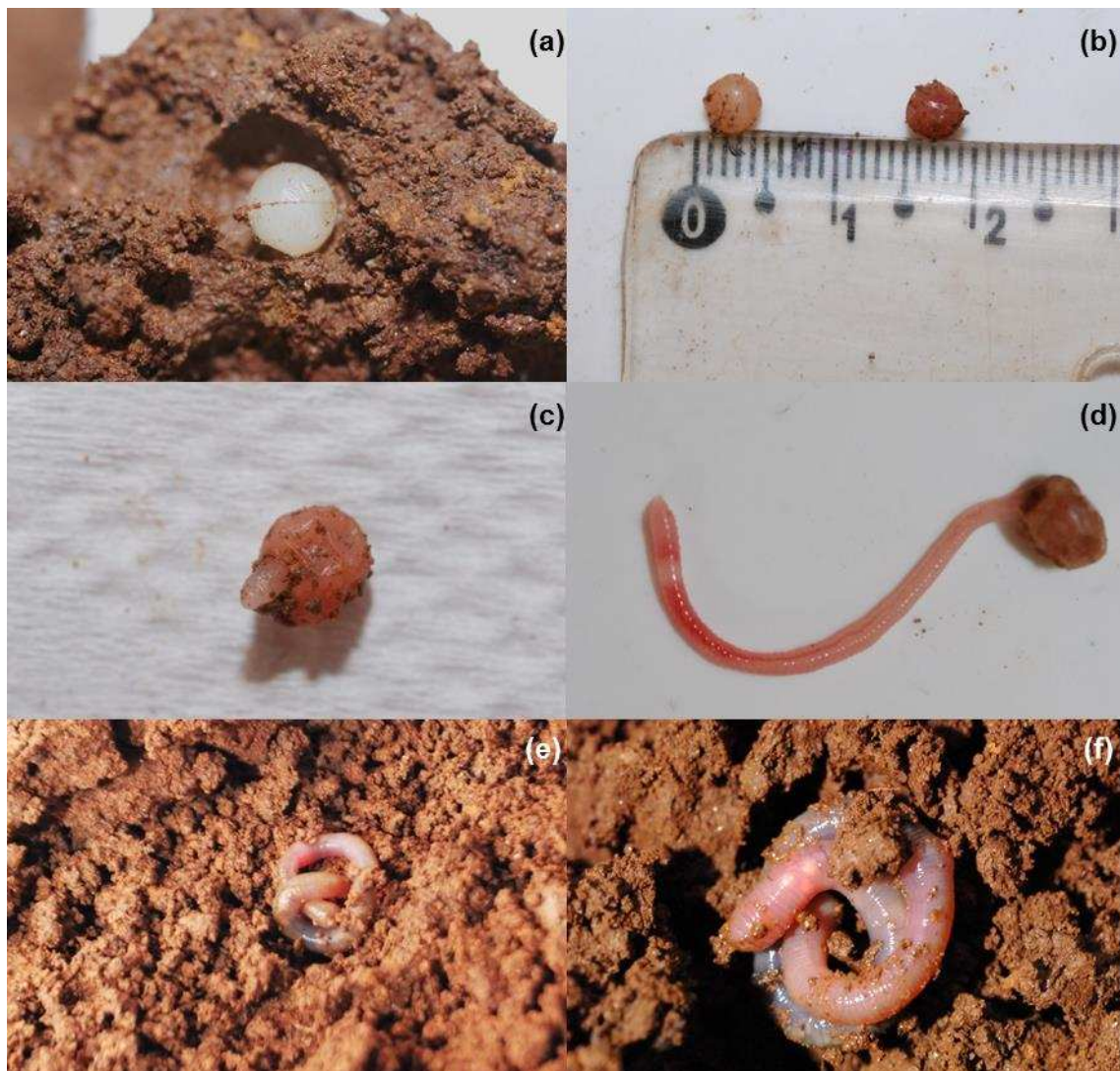


Figura 8. a) Estrutura biogênica com casulo b) Comparação de dois casulos em estágios de maturação média e avançada; c) Casulo da foto anterior eclodindo; d) filhote de *P. corethrus* recém eclodida; e) Indivíduo de *P. corethrus* adulto apresentando comportamento de enovelamento na dosagem 75% de rejeito e f) Indivíduo de *P. corethrus* adulto apresentando comportamento de enovelamento na dosagem 100% de rejeito. Fonte: A autora.

Considerando o conjunto de fatores resposta aos ambientes, como reprodução e comportamento, o tratamento em 50% de rejeito apresentou-se menos problemático para o desenvolvimento dos animais. Cabe destacar que em condições *in-situ*, resultados diferentes seriam encontrados, devido à manutenção das condições do solo (não destorroados), interações com outros organismos da pedofauna e a própria permanência dos animais, que tendem a migrar quando se encontram em situação de estresse (MOREIRA et al., 2012).

4.1.2. Biomassa adulta

Para a comparação da biomassa fresca antes e depois da imposição dos tratamentos, na Tabela 2 são apresentadas a biomassa média das populações e indivíduos iniciais, seguido das médias das populações sobreviventes e a biomassa média das populações e indivíduos adultos (g.g) finais, descontando-se os indivíduos letalizados para o cálculo dos valores de biomassa. Como descrito anteriormente, todas as populações iniciais foram de 27 indivíduos.

Tabela 2. Comparação entre biomassa fresca das minhocas em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos.

Tratamento	Biomassa por população inicial (g.g)	Biomassa por indivíduo inicial (g.g)	Indivíduos sobreviventes	Biomassa por população final (g.g)	Biomassa por indivíduo final (g.g)
0% de Rejeito	16,12	0,60	16	8,27	0,52
25% de Rejeito	17,41	0,64	19	9,45	0,50
50% de Rejeito	16,79	0,62	18	12,81	0,71
75% de Rejeito	17,33	0,64	19	10,52	0,55
100% de Rejeito	17,02	0,63	17	10,69	0,63

No início do experimento os adultos de minhoca selecionados apresentavam uma biomassa média de 0,6 g por indivíduo. Observou-se entre tratamentos que houve uma perda pequena de biomassa em 25% > 75% > 0% de rejeito, respectivamente. O tratamento em 100% de rejeito manteve-se sem alteração e em 50% de rejeito, foi verificado um leve aumento na biomassa.

Segundo Lavelle et al. (1987), os animais variam em biomassa individual adulta entre 0,6 a 3,5 g. A Tabela 2, demonstra que entre tratamentos, as populações e indivíduos não apresentaram alterações relevantes quanto à biomassa.

4.1.3. Taxa de letalidade

A Figura 9 apresenta as taxas de letalidade registradas ao final do experimento, apresentada em valores percentuais das médias registradas.

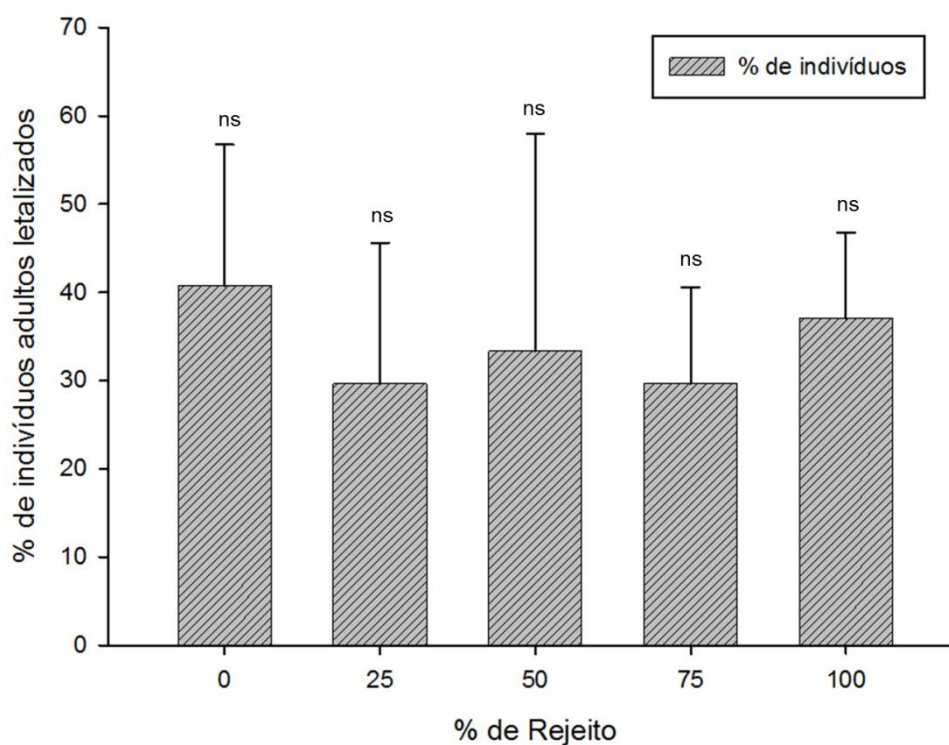


Figura 9. Letalidade média das populações adultas de *P. corethrurus* encontrados em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos.

A taxa de letalidade variou de 29 a 40% (Figura 9) entre tratamentos. As maiores taxas de letalidade, comparadas às populações iniciais, foram encontradas nas dosagens de 0% > 100% > 50% > 75% = 25% de rejeito, respectivamente. Os resultados demonstram que as dosagens intermediárias de rejeito influenciaram menos as populações adultas, com relação à letalidade. A concentração letal (CL_{50}), indicada em diversos estudos toxicológicos não foi alcançada em nenhum tratamento, no período de 12 semanas. A CL_{50} é significativa quando 50% da população exposta ao contaminante não sobrevive, como sugerido na padronização ISO 11268-1 (2012).

As condições dos tratamentos levaram à morte de alguns indivíduos, mas a taxa de letalidade entre adultos, ao que pode ser analisado, não foi afetada diretamente pela dosagem de rejeito. Dentre os indivíduos sobreviventes para todos os tratamentos, não verificou-se alterações morfológicas.

4.1.4. Indivíduos autóctones

Na Figura 10 são apresentados os números de indivíduos de anelídeos que não foram inseridos propositalmente nos aquários.

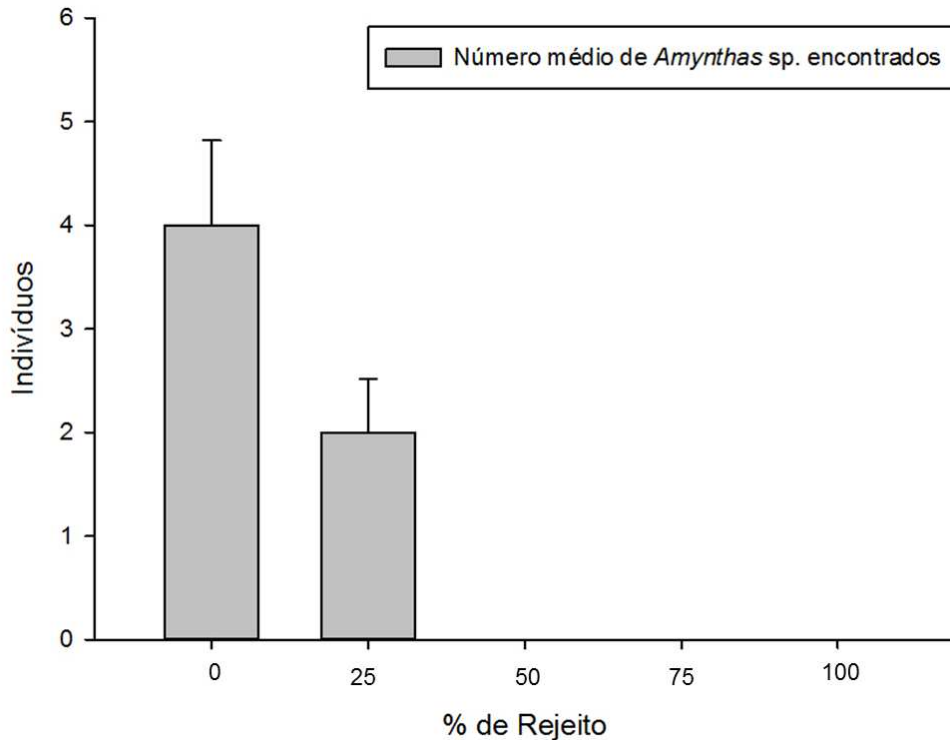


Figura 10. Número de indivíduos de *Amynthes* sp. encontrados nos aquários em função de doses crescentes de rejeito de mineração em misturas com solos.

Ao final do experimento foi registrada a presença de indivíduos da minhoca *Amynthes* sp. (Megascolecidae) (KINBERG, 1867), nas dosagens de 0% e 25% de rejeito, vulgarmente conhecida como “puladeira”, do mesmo gênero encontrado no início do experimento e descartadas.

Possivelmente as espécies autóctones de minhoca encontravam-se no solo utilizado para o preenchimento dos aquários. Mesmo os solos tendo sido bem secos e armazenados após o peneiramento, os casulos dessa espécie são bem menores quando comparados aos da *P. corethrurus* (Figura 8a) e possuem coloração muito próxima ao solo, fatores estes que presumivelmente possibilitaram a eclosão dos casulos dessa espécie, que não foram notados durante o processamento do material. A *Amynthes* tem hábito epigeico, alimentando-se de material orgânico em fase de decomposição inicial, diferenciando-se da *P. corethrurus*, que apresenta hábito geófago (JAMES et. al., 2014). Os indivíduos autóctones foram encontrados em fase juvenil, mostrando-se sadios e sem alterações morfológicas evidentes ou comportamento estranho ao padrão da espécie “puladeira”, indicando adaptação nos solos em 0% e 25% de rejeito. Entretanto, com o incremento das doses, os indivíduos não foram mais detectados, desaparecendo das unidades experimentais, podendo indicar intolerância ao rejeito quando em dosagens mais altas.

Registrou-se também a presença de outros organismos nas unidades experimentais que utilizaram os substratos para desenvolvimento de algum estágio da vida. A presença de moscas e quilópodes (lacraias) (Figura 11e) foi observada durante e ao final do experimento, em todos os tratamentos.

As moscas, possivelmente atraídas pelo esterco, utilizaram restos dos casulos da *P. corethrurus* para colocar seus ovos (Figura 11c), indicando que a presença de uma população de minhocas nestes ambientes, pode gerar novos espaços para entrada e desenvolvimento de outros organismos. A presença das moscas foi notada em todos os tratamentos.

Foi registrada uma densidade muito alta de indivíduos de quilópodes em diversos estágios de maturação. A presença dos indivíduos decresceu com as dosagens de rejeito, quase não sendo notados no tratamento com 0% de rejeito. Devido à elevada abundância dos invertebrados (principalmente em 75% e 100% de rejeito) não foi possível contabilizá-los, toda via foi perceptível a diferença no número de indivíduos. Estes invertebrados possuem hábito noturno e se favorecem de áreas úmidas desocupadas que propiciem seu estabelecimento.

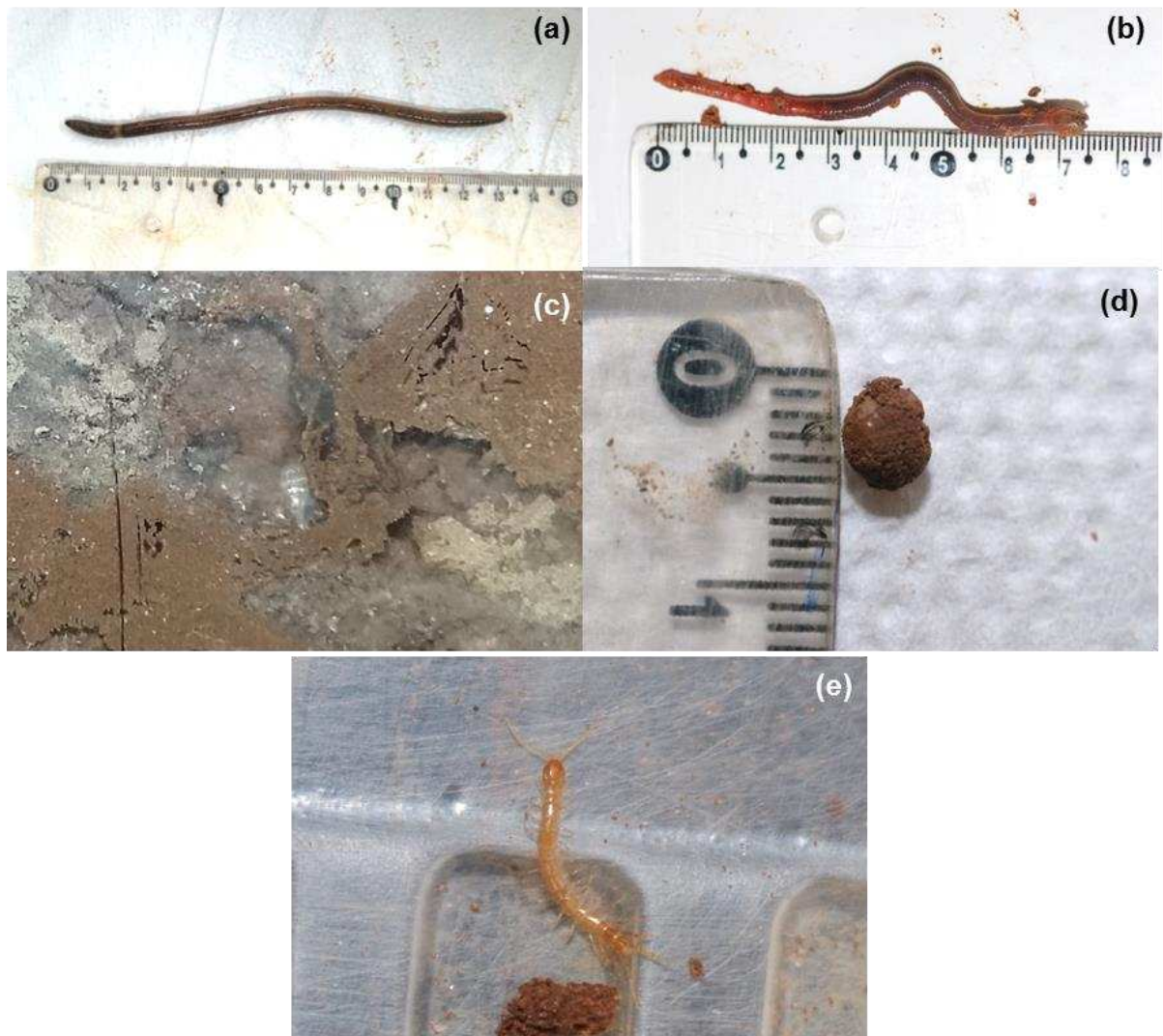


Figura 11. a) Indivíduo de *Amynthes* sp. encontrado no início do experimento; b) Indivíduo adulto de *P. corethrurus* ao final do experimento; c) Larvas de invertebrados utilizando o substrato de 100% de rejeito para reprodução; d) Estrutura oval produzida por invertebrados, preenchida internamente por substrato; e) Indivíduo juvenil de lacraia, coletada em alta densidade nos tratamentos com maior densidade de rejeito. Fonte: A autora.

Cada tratamento aportou diferentes graus de diversidade e abundância de invertebrados autóctones, com hábitos diferentes de ocupação de nichos ecológicos. Comparativamente a minhoca do gênero *Amynthes* é seletiva quanto ao hábitat, diferentemente dos nichos ocupados por quilópodes e moscas. As diferenças encontradas entre os invertebrados de cada aquário apontam que em quantidades menores de rejeito, a fauna mais seletiva quanto ao ambiente é mais propícia a se estabelecer. Enquanto nas dosagens mais concentradas de rejeito invertebrados mais generalistas se aproveitaram dos espaços recém-abertos pelos anelídeos inseridos no experimento. Essa observação pode apontar para uma maior

dificuldade de reestabelecimento da vida nos solos na presença de rejeito em altas concentrações, enquanto dosagens mais diluídas facilitam a diversificação da fauna.

4.2. Monitoramento da umidade e temperatura

A Figura 12 demonstra os valores de umidade registrados durante o período experimental em profundidades de 10 e 20 cm em todos os tratamentos.

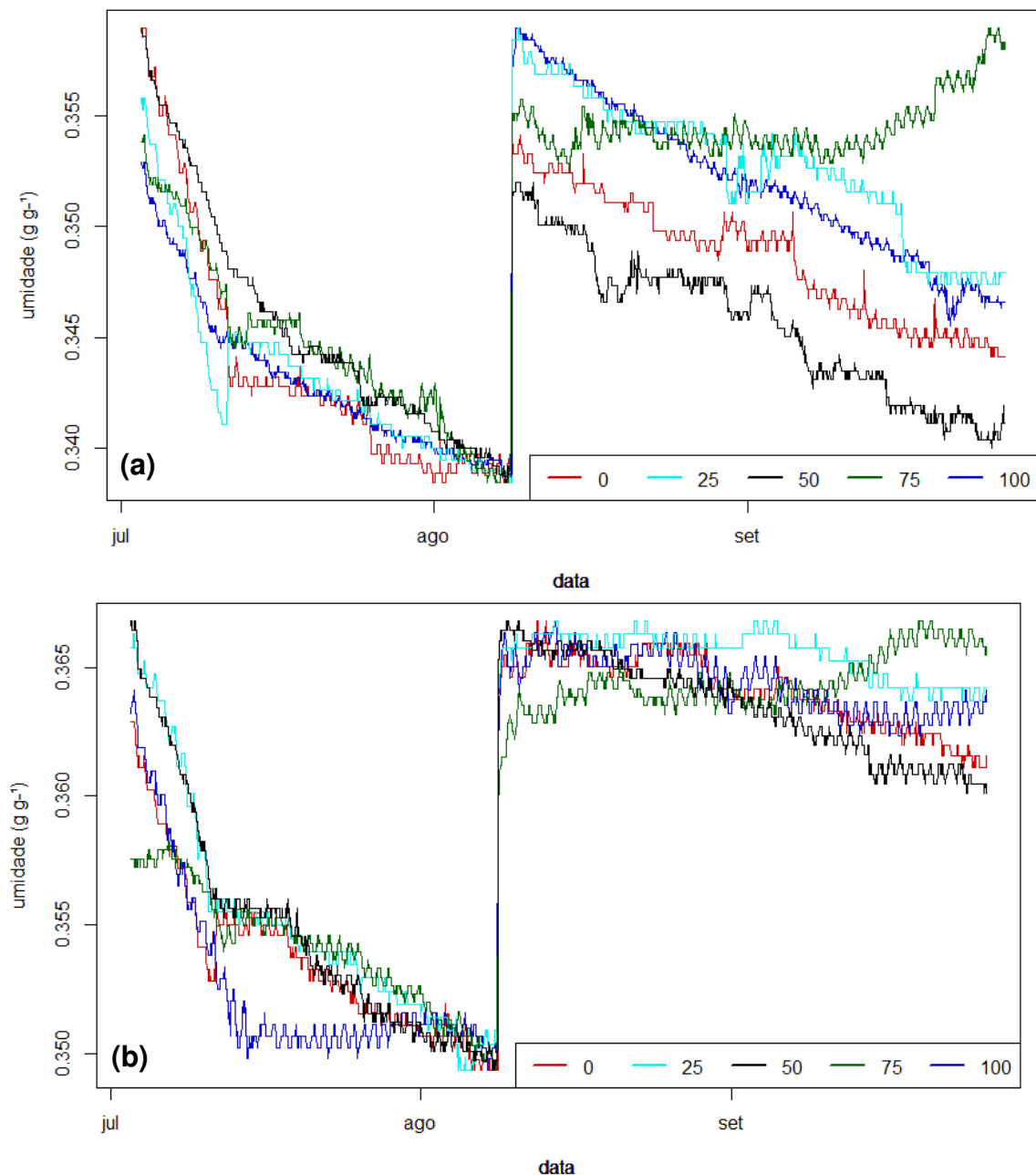


Figura 12. Monitoramento da umidade no período experimental em duas profundidades dos perfis dos substratos: (a) 10 cm de profundidade entre tratamentos; (b) 20 cm de profundidade entre tratamentos.

As Figuras 12a e b representam as variações de umidade nas profundidades de 10 e 20 cm dos perfis dos substratos. Os valores de umidade variaram entre 0,34 e 0,37 g.g⁻¹ durante o período de acompanhamento. Observou-se decréscimo da umidade no primeiro mês, com pequenas variações entre tratamentos, estabilizando-se na primeira semana de agosto para as duas alturas acompanhadas, quando as unidades experimentais foram novamente umedecidas.

Após a adição de 1 L de água deionizada em todos os tratamentos, houve pequenas diferenças de escoamento da água nos substratos, principalmente mais à superfícies. Denotaram evaporação relativamente homogênea, exceto para o tratamento 75% de rejeito, que apresentou maiores valores de umidade, chegando a reter água no substrato nas últimas semanas.

A redução geral verificada na umidade foi associada à atividade biológica, evaporação e percolação. A umidade manteve-se favorável ao desenvolvimento das minhocas durante todo o período experimental, em todos os tratamentos.

A disposição das unidades experimentais impediu o efeito da radiação solar direta que, em condições de campo (*in-situ*), levaria à obtenção de resultados distintos, como discutido no item 4.1.1., sobre reprodução dos anelídeos.

4.3. Parâmetros físicos

4.3.1. Efeitos na textura dos substratos

A classificação textural (Tabela 3) dos testemunhos de solo, rejeito e dos substratos variou de Argilosa (solo) a Franco-Arenoso (rejeito). A areia fina apresentou um acréscimo de 4% do solo testemunho para o substrato de 0% de rejeito e 6% no rejeito testemunho para o substrato 100% de rejeito. Teores de argila sofreram redução de 3% para o solo testemunho e tratamento a 0% de rejeito e 7% para o rejeito testemunho em relação ao tratamento 100% de rejeito. A granulometria no tratamento constituído apenas por 100% de rejeito indica teores de 9, 46, 41 e 4% para areia grossa, areia fina, silte e argila, respectivamente. A adição das doses crescentes de rejeito, alterou a classificação textural das misturas, saindo-se de Argilo-Arenosa no 0% de rejeito para Franco-Argilo-Arenosa em 25% de rejeito e alcançando a classe Franco-Arenosa nos demais tratamentos.

Os substratos utilizados para o cultivo dos anelídeos indicam que a composição do rejeito é predominantemente constituída de areia fina e silte, com baixas quantidades de areia grossa e argila.

Tabela 3. Composição granulométrica e textural do solo, rejeito e substratos pedobioturbados em diferentes %.

	Testemunhos		Substratos				
	Solo	Rejeito	0%	25%	50%	75%	100%
Areia grossa	24%	10%	25%	19%	16%	12%	9%
Areia fina	20%	40%	24%	32%	37%	41%	46%
Silte	12%	39%	10%	21%	28%	36%	41%
Argila	44%	11%	41%	28%	19%	12%	4%
Classificação textural	Argila	Franco-Arenosa	Argilo-Arenosa	Franco-Argilo-Arenosa	Franco-Arenosa	Franco-Arenosa	Franco-Arenosa

Para a *P. coretrurus*, sabe-se que uma composição predominante arenosa proporciona melhores condições ao desenvolvimento das populações (VANDECASTEELE et al., 2004), contribuindo para a quebra das partículas minerais ingeridas (SUZUKI et al., 2003). Entretanto, a pouca argila presente no rejeito reduz a capacidade de adsorção e armazenamento de nutrientes nos substratos, condição vital para o desenvolvimento de vida nos sistemas edáficos.

O efeito indesejado na proporção de argila para o rejeito testemunho comparado ao tratamento em 100% de rejeito deve ser melhor averiguado, visto que a quantidade de argila no rejeito originalmente já é muito baixa e sua redução pode piorar a qualidade geral dos substratos. O efeito pode ter se dado pela percolação da água acrescida aos tratamentos, concentrando doses de argila no fundo das unidades experimentais.

O acréscimo paulatino de areia fina e silte nos tratamentos com maiores dosagens de rejeito revelam sua constituição extremamente susceptível ao efeito de compactação natural, ou *hard setting*, evidenciado pelo aumento da resistência à penetração de acordo com o aumento na proporção de rejeito nos substratos (Figura 13a). Isto pode ser um problema a ser enfrentado nesses substratos futuramente, pelos impactos diretos e negativos na estrutura do solo consequentes desta composição.

4.3.2. Efeitos nos parâmetros físicos dos substratos

O impacto na porosidade total (PT) foi especialmente notado em relação ao solo testemunho quando comparado aos substratos (Tabela 4).

Tabela 4. Densidade do solo (Ds), Densidade de Partículas (Dp) e Porosidade total (PT) dos controles e substratos.

	Testemunhos		Substratos				
	Solo	Rejeito	0%	25%	50%	75%	100%
Ds (g/cm³)	1,02	1,59	1,36	1,47	1,44	1,42	1,54
Dp (g/cm³)	2,55	2,92	2,48	2,57	2,69	2,47	2,70
PT (%)	60%	45%	49%	53%	46%	42%	42%

Para a densidade do solo (Ds), foi verificado que a presença das minhocas pode ter auxiliado no aumento do parâmetro, quando comparado o solo testemunho ao tratamento em 0% de rejeito, apresentou aumento de 0,34 g/cm³, causando efeito indesejável. Quanto maior a densidade do solo, maior é a propensão de compactação e maiores as restrições para o desenvolvimento radicular de plantas. Como discutido anteriormente, a espécie de minhoca estudada pode causar este efeito nos substratos (BLANCHART et al., 1999; DUARTE et al., 2014). Para a densidade de partículas (Dp) foram verificadas alterações pouco significativas.

Alterações na PT ocorrem devido ao arranjo e volume dos poros, valores aproximados de 50%, são considerados equilibrados para solos agricultáveis (KLEIN, 2014). No rejeito testemunho para o tratamento 100% de rejeito, foi observada uma pequena redução de 3% no valor final, enquanto o testemunho do solo foi reduzido em 11% em relação ao substrato com 0% de rejeito. Como demonstrado por Blanchart et al. (1999), esta categoria de minhoca tende a reduzir a PT dos solos, modificar a distribuição de tamanho dos poros e conseqüentemente diminuem a taxa de infiltração, melhorando a capacidade de retenção de água, efeito desejável em solos naturais e indesejável no material do rejeito, visto que a retenção de água neste material é ocasionada e distribuída de forma diferente do solo natural, criando lâminas d'água e causando efeito contrário. De acordo com Blanchart et al. (1990), quando essas minhocas estão presentes nos solos sem diversidade, com alta biomassa ou densidade, o solo torna-se compacto, a infiltração é impedida e as minhocas morrem.

A redução da PT também contribuiu diretamente para o aumento da resistência mecânica à penetração (RP) (Figura 13a) com o aumento de dosagens de rejeito. As elevações nos valores de RP identificados podem ajudar a justificar o enovelamento verificado no experimento nas duas maiores dosagens de rejeito, como demonstrado por Paula (2018) (dados não publicados), evidenciando que a dificuldade de locomoção dos anelídeos pode estar associada com a dificuldade de penetração e escavação nos substratos.

Na Figura 13, são apresentados os parâmetros de resistência a penetração (RP), estabilidade de agregados (Diâmetro Médio Geométrico e Diâmetro Médio das Partículas - DMG e DMP), argila dispersa em água (ADA) e o índice de dispersão de argila (ID) em quadros comparativos entre tratamentos.

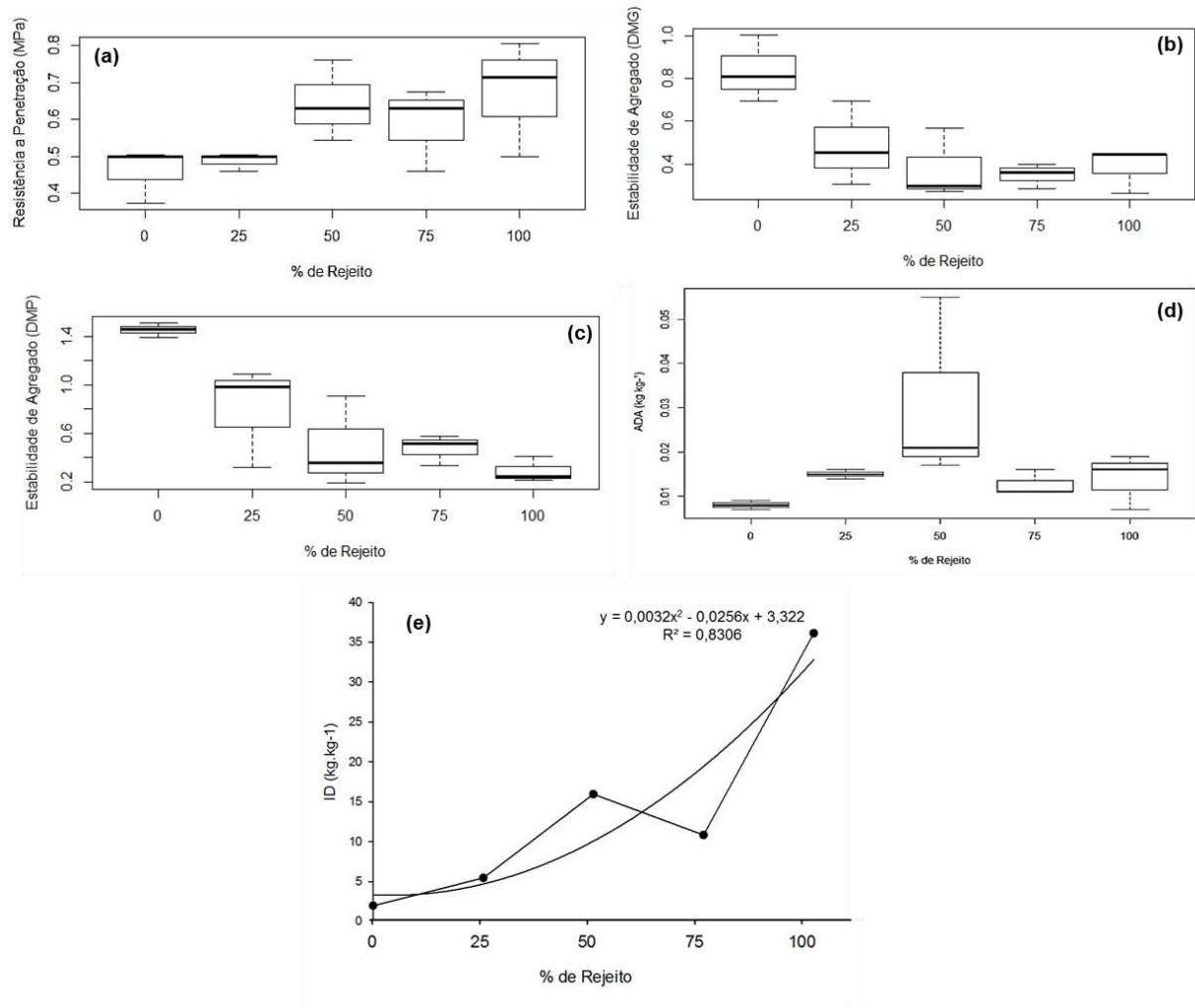


Figura 13. a) Resistência a Penetração (RP); b) Estabilidade de Agregados (DMG); c) Estabilidade de Agregados (DMP); d) Argila dispersa em água (ADA), e) Índice de Dispersão de Argila (ID)

A espécie de minhoca testada pode contribuir com a compactação dos solos e na elevação da argila dispersa em água (ADA) (DUARTE et al., 2014). Neste

sentido, foi verificado neste estudo, em experimento com *P. corethrurus*, o aumento da ADA em coprólitos em relação ao solo original. A capacidade dos anelídeos de desestruturar os agregados do solo ao ingeri-los (BAROIS et al, 1999), ocasiona o aumento da quantidade de argila dispersa (DUARTE et al., 2014). Por se tratar de uma minhoca endogeica, que acumula seus coprólitos tanto na superfície, quanto nos canais e túneis por onde se locomove, isto pode ser considerado como um efeito negativo para a qualidade física do solo. A destruição dos agregados ocorre pela trituração do solo na moela e no intestino, pelo aumento do conteúdo de água e polissacarídeos que funcionam como um agente de diluição e dispersão (BAROIS et al., 1993).

Embora todos os tratamentos tenham apresentado teores de ADA inferiores a 2,5%, os maiores valores entre tratamentos (Figura 13d), foram verificados em 50% de rejeito, onde foi possível observar maior atividade dos anelídeos, podendo corroborar no aumento da ADA, com a presença dos animais. Teores de ADA mais elevados indicam tendência de menor estabilidade de agregados e menor resistência aos processos erosivos, com a obstrução de poros no solo (GROHMANN & VAN RAIJ, 1977; LIMA et al., 1990).

Por sua vez, as análises dos índices de dispersão (ID) (Figura 13e), parâmetro relacionado aos valores de ADA e argila total, indicando a facilidade do solo em desestruturar devido à ação da água, evidenciaram efeito negativo com o aumento das dosagens do rejeito, quanto maior é a quantidade de rejeito, maior o índice de dispersão e menor é a estabilidade dos agregados (DMP e DMG) (Figuras 13b, c). Dados que corroboram a baixa estruturação física do rejeito.

Corroborando os dados apresentados acima, a Condutividade Hidráulica (CH), representa a funcionalidade do sistema poroso, englobando propriedades relacionadas com a sua porosidade, como tamanho, morfologia e orientação dos poros (GONÇALVES & LIBARDI, 2013). Os parâmetros de CH e CRA (Curva de retenção de água) são apresentados na Figura 14.

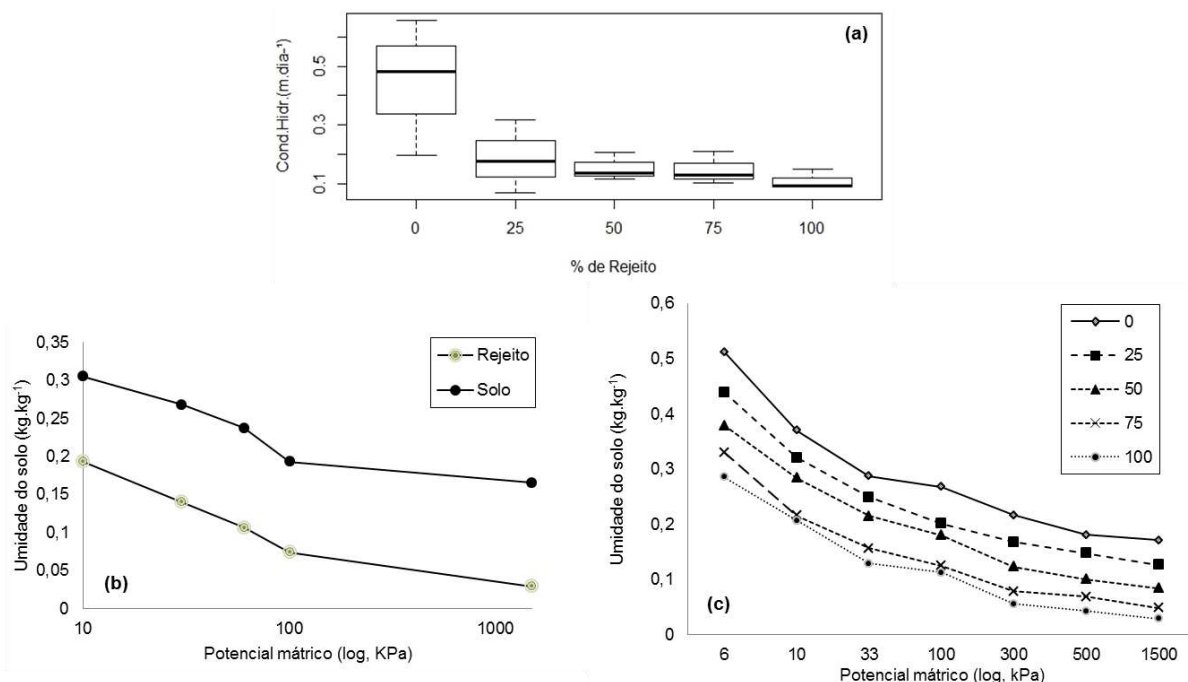


Figura 14. a) Condutividade Hidráulica (CH) entre tratamentos; b) Curva de retenção de água (CRA) dos testemunhos de solo e rejeito; c) CRA resultante dos tratamentos.

Alterações na estrutura do solo afetam diretamente a CH e a CRA. Observou-se redução em ambos os parâmetros com o incremento das dosagens de rejeito, fatores que dificultam a infiltração de água nos solos e consequentemente a nutrição das plantas e animais que o habitam.

Entre tratamentos (Figura 14c) é possível observar que a retenção de água nos substratos é afetada negativamente pelo acréscimo de rejeito. Quando comparados aos testemunhos (Figura 14b), os resultados apontam para a melhoria da CRA, auxiliado pelo trabalho das minhocas e acréscimo de material orgânico, afetando positivamente a CRA e em menor escala, no rejeito. A CRA do solo testemunho, para o tratamento 0% de rejeito, em -10 kPa, foi de 0,19 para 0,37 (kg.kg^{-1}) no final do experimento, apontando que a atividade biológica e *input* de matéria orgânica quase dobrou a capacidade de retenção no solo originário do município de Rio Doce. Já no rejeito testemunho, comparado ao tratamento 100% de rejeito, não foi verificada uma melhoria efetiva, variando a CRA inicial de 0,19 para a final de 0,2 (kg.kg^{-1}).

O aumento na CRA é desejável, por disponibilizar uma quantidade maior de água para o sistema, indicando uma melhor estruturação dos materiais. Entretanto, o efeito do acúmulo de água tem respostas diferentes para o solo (mais estruturado) e para o rejeito (menos estruturado). No solo (testemunho e 0% de rejeito), o

parâmetro de PT (Tabela 4) evidencia condições mais favoráveis à retenção de água no solo, enquanto no rejeito, como averigado nos valores de PT e na composição granulométrica, a estruturação é comprometida, ocasionando encharcamento do material.

4.3.1.1. Análise de componentes principais (PCA) dos atributos físicos dos substratos

Para verificação e melhor compreensão da distribuição dos dados, foi realizada uma análise de componentes principais. A PCA permite verificar as variáveis correlacionadas e tendências entre tratamentos.

As variáveis apresentadas na Figura 15 demonstram as relações entre os atributos físicos e a presença de indivíduos de minhoca e estruturas reprodutivas como variáveis respostas aos tratamentos. As siglas apresentadas na figura são explicitadas na discussão acima (Item 4.3.). A análise levou em consideração os resultados obtidos nos tratamentos em resposta a presença das minhocas, por isso representa a fase experimental e suas correlações.

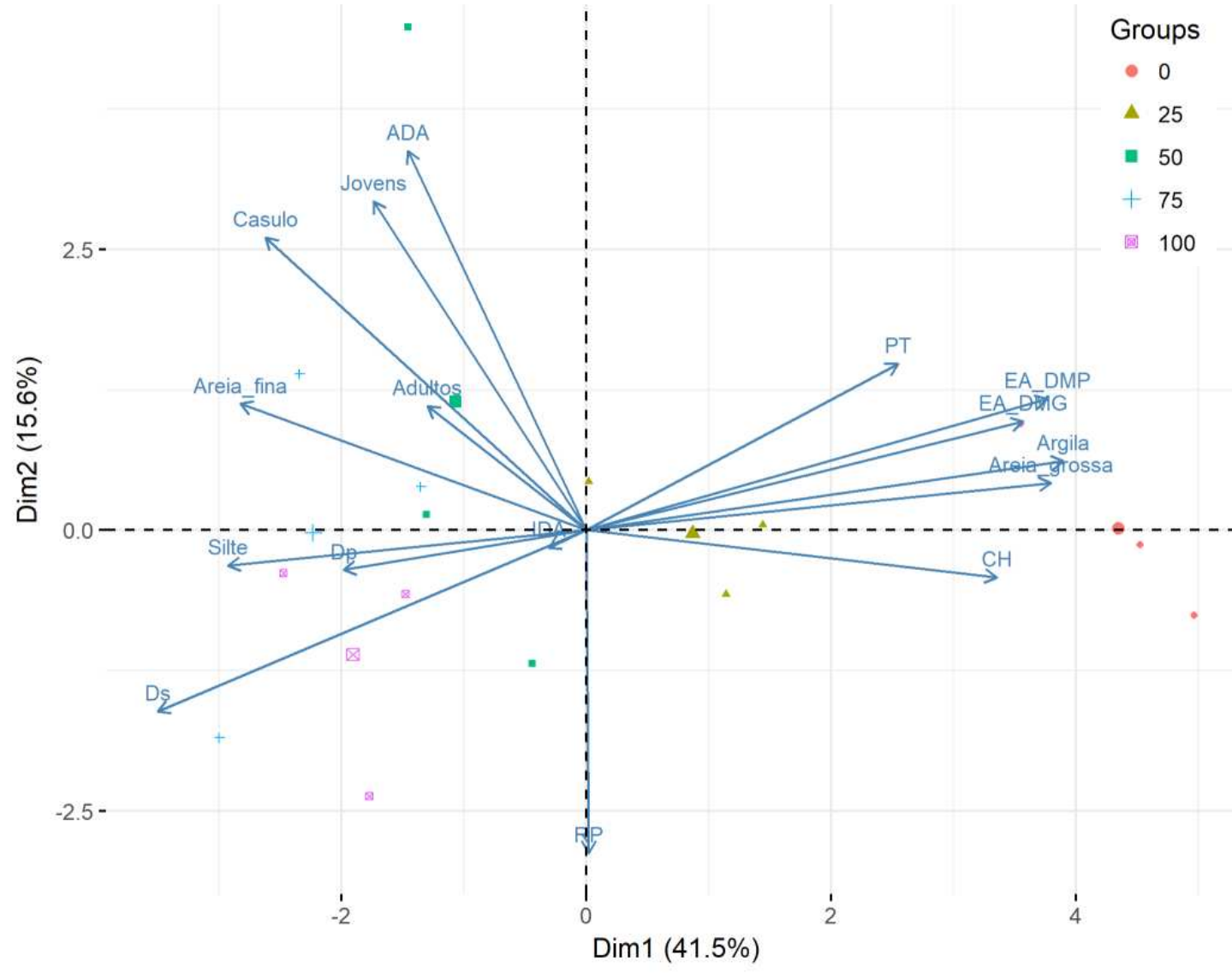


Figura 15. PCA de atributos físicos dos substratos e minhocas

As tendências observadas na análise referente aos atributos físicos associados aos substratos corroboram com as discussões anteriores, indicando que de maneira geral os solos com melhor qualidade física, por exemplo com PT em torno de 50% e maior estabilidade de agregados, correlacionam-se melhor com os substratos onde há menor quantidade de rejeito. Como já era esperado, atributos como a Dp e Ds, foram associados a quantidades maiores de rejeito entre tratamentos, dada a composição do material, bem como a areia fina e silte.

Observou-se nas variáveis respostas (população de minhocas), que a presença de minhocas em diferentes estágios de maturação não foram correlacionadas quanto a atributos importantes para solos bem estruturados, como a PT, CH e EA nos tratamentos. Em contra ponto, houve correlação positiva da presença das populações de minhoca com a ADA, principalmente para dosagem de 50% de rejeito, como discutido anteriormente. O efeito na elevação da ADA deve ser aprofundado em estudos futuros, já que em longo prazo, o aumento da ADA pode contribuir na compactação dos solos.

As correlações demonstradas na PCA corroboram o comportamento de estresses ocasionado pelo conjunto de fatores físicos limitantes da composição e estruturação do rejeito.

4.4. Caracterização Química dos substratos, minhocas e coprólitos

4.4.1. Alterações na disponibilidade de macro e micronutrientes nos testemunhos, substratos e esterco

Segundo o MPF (2016), a composição do rejeito é preocupante em relação à qualidade química, apresentando valores extremamente baixos dos principais nutrientes e de matéria orgânica, o que compromete diretamente a CTC do solo. As médias dos resultados da caracterização química dos parâmetros de fertilidade dos tratamentos, esterco e testemunhos são apresentadas na Tabela 5, realizadas em triplicata para cada substrato (tratamento) em suas repetições e em triplicata para os testemunhos e esterco.

Tabela 5. Caracterização dos atributos de fertilidade nos testemunhos, esterco e substratos.

Tratamento	pH		P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB ¹	t ²	T ³
	H ₂ O	KCl										
Solo testemunho	6,24	5,68	1,7	44	-	3,37	1,19	0	1,5	4,67	4,67	6,17
0% de Rejeito	5,75	5,66	7,4	43	26,2	3,81	1,07	0	0,9	5,12	5,12	6,22
25% de Rejeito	5,89	5,77	9,8	45	24,2	3,61	0,9	0	0,6	4,71	4,71	5,37
50% de Rejeito	6,2	6,03	11,1	57	24,2	2,92	0,64	0	0,3	3,79	3,79	4,29
75% de Rejeito	6,35	6,15	14,9	80	22,2	2,46	0,44	0	0,2	3,17	3,17	3,48
100% de Rejeito	6,68	6,46	18,5	149	36,1	2	0,27	0	0	2,81	2,81	2,81
Rejeito testemunho	7,04	6,35	6,8	30	-	1,18	0,09	0	0,7	1,35	1,35	2,05
Esterco	6,3	6,35	486	632	-	8,85	2,2	0	1,8	12,67	12,67	14,47

Tratamento	MO ⁴	COT ⁵	N ⁶	P-Rem	S ⁷	B ⁸	Mn	Fe	Cu	Zn
		dag/kg		mg/L			mg/dm ³			
Solo testemunho	1,96	1,14	0,099	18,1	-	-	82,4	185,7	1,75	4,55
0% de Rejeito	2,02	1,17	0,070	24,4	5,8	0,12	44,3	39,5	3,39	4,33
25% de Rejeito	1,48	0,86	0,030	31,9	8,2	0,13	53,7	47,1	2,94	3,79
50% de Rejeito	1,34	0,78	0,090	34,2	11,3	0,15	77,6	86,6	3,19	5,42
75% de Rejeito	1,07	0,62	0,050	43,3	11	0,11	90,8	117,4	3,2	5,27
100% de Rejeito	0,81	0,47	0,070	44,9	8,9	0,10	87,5	110,9	3,02	3,94
Rejeito testemunho	0,39	0,23	0,020	37,3	-	-	146,2	373	1,01	1,04
Esterco	21,54	12,49	-	55,4	-	-	50,1	138,5	23,28	37,55

^{1/}Soma de Bases (SB) Trocáveis; ^{2/}CTC – Capacidade de Troca Catiônica efetiva; ^{3/}CTC a pH 7 (T); ^{4/}Matéria Orgânica do solo, ^{5/}Carbono Orgânico Total; ^{6/}Nitrogênio; ^{7/}Enxofre; ^{8/}Boro.

As variações no pH em KCl (5,66 a 6,46), não apresentaram alterações em relação aos testemunhos e os tratamentos em 0% e 100% de rejeito, respectivamente, contudo fica evidente na Tabela 5 que os incrementos das doses de rejeito elevaram o pH em água e em KCl. Em termos agronômicos, o pH em água foi classificado como bom (acidez média) para os tratamentos 0% e 25% de rejeito, alto (acidez fraca) para os tratamentos de 50%, 75% e 100% de rejeito e testemunho de solo e muito alto (neutro) para o testemunho de rejeito. O pH do solo é considerado fator influente para a absorção de metais pesados e toxicidade na abundância de anelídeos (MA et al., 1983; MUYS & GRANVAL, 1997). O aumento deste parâmetro pode influenciar a dissociação dos grupos funcionais presentes na matéria orgânica do solo (WEIGAND & TOTSCHE, 1998; BALCKE et al., 2002). Em ambientes naturais, estudos de populações de minhocas relacionadas ao pH, autores demonstram que esse parâmetro pode ser tolerado em altas variações (4,7 a 8,5) pela espécie estudada (FRAGOSO, 1985; BAROIS & LAVELLE, 1986; LAVELLE et al., 1987; CHENG & WONG, 2002; LAGENBACH et al., 2002).

A microbiota no intestino das minhocas desempenha um papel importante na aceleração e/ou degradação de minerais (BASKER et al, 1994; SUZUKI et al., 2003; CARPENTER et al., 2007, 2008; EDWARDS & BOHLEN, 1996, TIAN et al., 2000). Processos, decorrentes de uma relação mutualística entre a biota intestinal e os anelídeos aceleram o intemperismo dos minerais, alterando o pH e complexando íons orgânicos (BANFIELD et al., 1999; SANZ-MONTERO & RODRIGUEZ-ARANDA, 2009; LIU et al, 2011). A atividade fisiológica dos animais, somada ao acréscimo de material orgânico possivelmente auxiliaram na leve redução notada nos valores de pH em água entre tratamentos e testemunhos.

Entre tratamentos, é possível observar o aumento progressivo nas quantidades de P com o aumento das dosagens de rejeito. Comparando-se o solo testemunho ao tratamento de 0% de rejeito, constatou-se o acréscimo de quase sete vezes mais P no substrato (1,7 para 7,4) e para o rejeito testemunho e tratamento 100% de rejeito, o mesmo efeito foi observado, saindo de valores em 6,8 para 18,5 mg/dm³. Apesar do acréscimo, de acordo com Ribeiro et al. (1999), os valores detectados de P, condicionados aos valores de % de argila de cada tratamento, foram classificados como muito baixo para os testemunhos de solo e rejeito, baixo para todos os tratamentos (0% a 100% de rejeito) e muito bom para o esterco.

Evidencio-se que a elevada presença de P no esterco influenciou positivamente para o aparecimento do elemento em maiores quantidades, nos tratamentos. Contudo a ação das minhocas não pode ser descartada na distribuição do nutriente, que é amplamente discutida na literatura, demonstrando que o trânsito intestinal, estimula de forma significativa na mineralização e disponibilização de P (SHARPLEY & SYERS, 1976; JAMES, 1991; LOPEZ-HERNÁNDEZ et al., 1993; CHAPUIS & BROSSARD, 1995; BROSSARD et al., 1996; BAROIS et al., 1999), principalmente evidenciado em estudos de coprólitos desta espécie, que levam a modificações na textura e estrutura do solo, ocasionando em uma redistribuição de formas de P entre as partículas e frações químicas do substrato ingerido (CHAPUIS & BROSSARD, 1995; CHAPUIS et al., 1996).

Para o K, observou-se valores mais elevados em concentrações mais altas de rejeito entre tratamentos. Não foram constatadas alterações entre o tratamento 0% e 25% de rejeito e solo testemunho. Para o tratamento 100% de rejeito e rejeito testemunho, foram detectados valores até cinco vezes maiores de K (30 para 149 mg/dm³) após o período experimental. Segundo Ribeiro et al. (1999), os níveis de K encontrados foram enquadrados como baixo para o rejeito testemunho, médio para o solo testemunho e tratamentos de 0%, 25% e 50% de rejeito e bom para 75% de rejeito. Oposto ao seu testemunho, o tratamento com 100% de rejeito foi classificado como muito bom, bem como o esterco. Comparados os testemunhos de solo e rejeito aos substratos equivalentes (0% e 100% de rejeito), não fica evidente a influência direta do acréscimo de K relacionado ao esterco.

A influência da turbação realizada pelas minhocas nos íons de K foi estudada por diversos autores. Teores de K disponíveis são aumentados em solos povoados por minhocas de maneira significativa, quando comparados com o mesmo tipo de solo desprovido de minhocas, esse efeito foi observado após passagem no intestino dos animais (BASKER et al., 1992; BASKER et al., 1994). Basker et al. (1992), indicaram que a passagem pelo trato intestinal dos animais pode deslocar o equilíbrio entre as formas de K relativamente indisponíveis, para formas mais disponíveis. Outros estudos demonstram que os anelídeos são capazes de promover o intemperismo de minerais com auxílio de microrganismos simbióticos, liberando K para o ambiente, com valores variáveis de acordo com as condições ambientais (LIU et al., 2011). O acréscimo deste nutriente por anelídeos também foi

observado em estudos parecidos (LEE, 1985; SRINIVASARAO et al., 1997, LAGENBACH et al., 2002; BARTZ et al., 2010).

Os estudos supracitados demonstram a capacidade das minhocas em alterar as condições de disponibilidade do K para o ambiente, contudo, o experimento recebeu uma dosagem alta de material orgânico, rico nos elementos P e K. A ingestão dos substratos com esterco pelas minhocas foi entendido como fator de alteração nos níveis detectados, principalmente quanto aos tratamentos maiores que 50% de rejeito para o K.

A quantificação de Na foi realizada apenas entre tratamentos. A presença do íon foi mais representativa para o tratamento de 100% de rejeito (36,1 mg/dm³), variando entre os outros tratamentos. A presença maior de Na no sistema com rejeito auxilia na compreensão da baixa taxa de estabilidade de agregados em doses mais elevadas de rejeito, verificadas no item de parâmetros físicos, possivelmente devido à ação dispersante do íon.

Em tendência oposta aos P e K, os íons de Ca²⁺ e Mg²⁺, apresentaram redução com o acréscimo de rejeito, podendo estar associada a queda da soma de bases (SB) encontradas nos substratos com maiores proporções de rejeito. As alterações mais significativas para o Ca²⁺ e Mg²⁺ foram evidenciadas entre o testemunho de rejeito e o tratamento em 100% de rejeito, ambos apresentando incremento nos teores dos nutrientes.

De acordo com Ribeiro et al. (1999), os valores do cátion de cálcio encontrados podem ser classificados como baixo para o rejeito testemunho, médio para os tratamentos 75% e 100% de rejeito, bom para o solo testemunho e tratamentos entre 0% e 50% de rejeito e muito bom para o esterco. Ainda segundo os autores, os valores de Mg²⁺ encontrados, foram considerados muito baixos para o testemunho de rejeito, baixos para os tratamentos 75% e 100% de rejeito, médios para os tratamentos 25% e 50% de rejeito, bom para o solo testemunho e 0% de rejeito e muito bom para o esterco.

De acordo com Barois et al (1999), os cátions de Ca²⁺, Mg²⁺, K e Na, são afetados pela ação dos anelídeos, especialmente notadas em coprólitos. Nos trópicos existem evidências demonstrando a disponibilização dos íons e melhoria na absorção das plantas quanto aos nutrientes, pelo resultante da ação das minhocas (DE VLEESCHAUWER & LAI, 1981; MULONGOY & BEDORET, 1989). Barois et al. (1999), relacionaram a melhoria nos teores de Ca²⁺, Mg²⁺, K e Na a qualidade

textural dos solos, ou seja, em solos mais bem estruturados o impacto da minhoca na liberação dos cátions trocáveis é mais significativa do que em solos com textura grosseira, como é o caso do rejeito. Fator que pode ajudar a explicar a menor quantidade de Ca^{2+} e Mg^{2+} encontrados em dosagens mais elevadas de rejeito. Além disso, para o Ca ingerido pelas minhocas, o processamento é relacionado à ação das glândulas calcíferas que são envolvidos na produção de CaCO_3 (BAROIS et al, 1999), coincidindo com o efeito observado de elevação do Ca^{2+} disponível entre o solo testemunho e o tratamento 0% de rejeito. Os valores de Ca^{2+} e Mg^{2+} , por tanto, foram influenciados pelo conjunto de fatores co-relacionados de incremento de material orgânico, somado a textura dos substratos e ação dos animias.

As análises de acidez trocável (Al^{3+}) apresentaram valores iguais à zero para todos os materiais testados. Valores de pH acima de 5,5 tendem a precipitar Al^{3+} , cátion gerador de acidez mais abundante nos solos tropicais, fazendo com que a acidez trocável assumia valores nulos no pH das amostras em questão.

Os parâmetros do solo relacionados à SB, CTC efetiva (t) e CTC a pH 7,0 (T), estão intimamente correlacionados entre si (Tabelas 5 e 6), por aferirem valores de capacidade de troca iônica dos materiais. Os resultados foram comparados aos valores de recomendação para solos de Minas Gerais (RIBEIRO et al., 1999) na Tabela 6. Ambos os parâmetros sofreram decréscimo com o aumento das porcentagens de rejeito entre tratamentos. Os efeitos notados de elevação do número de bases trocáveis do material do rejeito testemunho para 100% de rejeito, possivelmente foram ocasionados pela adição de matéria orgânica e ação das minhocas. Como podem ser averiguados na Tabela 6.

Tabela 6. Parâmetros de fertilidade para SB, t e T

	Solo testemunho	Rejeito testemunho	0% de Rejeito	25% de Rejeito	50% de Rejeito	75% de Rejeito	100% de Rejeito	Esterco
SB	Bom	Baixo	Bom	Bom	Bom	Médio	Médio	Muito bom
t	Bom	Baixo	Bom	Bom	Médio	Médio	Médio	Muito bom
T	Médio	Baixo	Médio	Médio	Baixo	Baixo	Baixo	Bom

O material do rejeito, como já discutido anteriormente, possui baixa concentração de matéria orgânica do solo. Na Tabela 5 é possível observar os

valores de MO e COT dos materiais testados. De acordo com a recomendação para solos de Minas Gerais (RIBEIRO et al., 1999), a MO e o COT encontrados nos materiais testados seguem a seguinte classificação: muito baixa para o rejeito testemunho, baixa para o solo testemunho e todos os tratamentos, à exceção do 0% de rejeito, classificado com médio e muito bom para o esterco. Os valores dos parâmetros também foram detectados em ordem decrescente ao *input* de rejeito.

Entre os testemunhos de solo e rejeito para os tratamentos 0% e 100% de rejeito, respectivamente, foram detectados um pequeno acréscimo dos parâmetros, presumivelmente ocasionados pela presença do esterco. Os valores encontrados reafirmam a capacidade dessa minhoca de selecionar o material orgânico na solução dos solos.

A matéria orgânica apresenta compostos húmicos com superfície de carga negativa capazes de adsorver analitos por atração eletrostática (STEVENSON, 1994), elevando valores de CTC, servindo como um condicionante para as condições edáficas, acrescentando e favorecendo o crescimento de microorganismos, aumentando a porosidade do solo, abrindo novos sítios de troca, dentre outros benefícios. A necessidade do acréscimo de material orgânico de qualidade nos ambientes atingidos é de extrema importância, considerada fator fundamental e potencializador na disponibilidade de nutrientes fundamentais para o reestabelecimento da vida nas áreas atingidas.

Os teores de N, quando balizados pelo solo original do município de Rio Doce (testemunho), verificando-se variações entre todos os tratamentos, sem tendência relacionada às quantidades de rejeito nos substratos. Nesse sentido, pode ser interessante a presença de minhocas nos sistemas atingidos, visto que elas aumentam a mineralização do N da matéria orgânica através de efeitos diretos e indiretos da comunidade microbiana presente em seus intestinos (BAROIS et al., 1999; BARTZ et al., 2010; HERNÁNDEZ-CASTELLANOS et al., 2010; DUARTE et al., 2014) e pela ação de seus nefrídios (BAROIS et al., 1999).

Para o nitrogênio, foram notadas elevações no conteúdo para rejeito testemunho em relação ao tratamento 100% de rejeito e redução para o solo testemunho, comparado ao substrato 0% de rejeito. O substrato em 50% de rejeito foi o que apresentou valores mais elevados do nutriente entre tratamentos, fator que pode estar relacionado à presença de uma população maior de minhocas neste tratamento.

Com base nos valores de P-rem, calculou-se o P-relativo (disponível) para classificação quanto à fertilidade dos solos. Para o cálculo, utiliza-se a % de argila de cada amostra relacionado ao P-rem, como sugerido por Saadi et al. (2000). Foram encontradas doses muito baixas de P-relativo no rejeito (15%) e solo (35%) testemunhos. Entre tratamentos houve um acréscimo contínuo de P-relativo para os tratamentos de 0% a 100% de rejeito, classificados com 54%>59%>63%>68%>82%, respectivamente, sendo todos considerados de baixa disponibilidade, a exceção do 100% de rejeito, que foi classificado como médio. Materiais mais argilosos e com maiores teores de MO (solo testemunho em relação ao rejeito testemunho), tendem a adsorver mais P, efeito contrário ao observado no experimento, onde o rejeito apresentou níveis maiores do elemento disponível, evidenciando haver algum retrabalho do material pelos animais e/ou alterações pelo acréscimo de teores de material orgânico nas unidades experimentais. O P-relativo encontrado nos teores de esterco foi classificado como muito alto, apresentando valores de 1764%.

Em relação aos nutrientes (S, B, Mn, Fe, Cu, Zn) testados no experimento (Tabela 5 e 7), verificou-se quanto aos parâmetros de fertilidade em Minas Gerais (RIBEIRO et al., 1999) que os valores de S variaram entre tratamentos, apresentando valores muito baixos e baixos, denotando a necessidade de acréscimo do elemento nos sistemas, visto que o enxofre é essencial a formação de proteínas nas plantas. O B foi classificado como muito baixo para todos os tratamentos. Os valores de S e B (Tabela 5) apresentaram valores maiores nas dosagens de 50% de rejeito, embora não denotarem diferenças com relação disponibilidade para nutrição de plantas (Tabela 7).

Tabela 7. Classificação dos micronutrientes segundo os parâmetros de fertilidade para solos de MG

Micro nutrientes	Solo testemunho	Rejeito testemunho	0% de Rejeito	25% de Rejeito	50% de Rejeito	75% de Rejeito	100% de Rejeito	Esterco
S	-	-	Baixo	Baixo	Médio	Médio	Muito baixo	-
B	-	-	Muito baixo	Muito baixo	Muito baixo	Muito baixo	Muito baixo	-
Mn	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto
Fe	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto
Cu	Bom	Médio	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto
Zn	Alto	Médio	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto

-Valores não verificados

O aumento na disponibilidade de Cu e Zn disponíveis do rejeito testemunho em relação ao tratamento 100% de rejeito foram expressivos, aumentando valores de Cu de 1,01 para 3,02 mg/dm³ e de Zn de 1,04 para 3,94 em mg/dm³. O microelementos apresentaram teores variáveis entre tratamentos e encontrados em abundância no esterco. Pela tendência natural de adsorção pelos colóides inorgânicos do solo, possivelmente grande parte do Cu foi complexado à matéria orgânica, elevando seus teores nos tratamentos.

Apresentando comportamentos diferentes aos descritos acima, o Fe e o Mn disponíveis sofreram redução quando comparados entre solo testemunho e 0% de rejeito e entre o rejeito testemunho e 100% de rejeito (Tabela 5) os valores de ambos os elementos foram consideravelmente menores. Entre tratamentos, como era esperado, apresentaram valores crescentes com o aumento nas dosagens de rejeito. A redução dos teores encontrados entre os grupos testemunhos e tratamentos por essa análise (Mehlich), podem indicar a adsorção dos elementos pela matéria orgânica acrescida aos substratos. Dado o material de origem do rejeito, o efeito foi considerado desejável para melhoria da qualidade química dos substratos, mesmo denotando valores mais altos que os desejáveis.

O excesso destes elementos no sistema também causam efeito direto na disponibilidade de Ca²⁺ e Mg²⁺, macronutrientes que são adsorvidos pelo Fe e Mn. Esta reação possivelmente influenciou nos resultados, observando-se que quanto mais rejeito nos tratamentos, menor foi a disponibilidade desses macronutrientes.

Como já evidenciado em estudos anteriores, a composição química do rejeito é muito baixa em termos nutricionais para plantas, capaz de afetar diretamente o crescimento e desenvolvimento de raízes e partes aéreas (GUERRA et al., 2017; ANDRADE et al., 2018). Evidenciando-se novamente a necessidade de adubação criteriosa, cuidadosa e precisa nos locais atingidos para melhoria dos sedimentos estagnados.

4.4.2. Teores totais de C e N nos coprólitos e substratos

Ao final do experimento os substratos foram comparados aos coprólitos quanto ao acréscimo de C e N totais e apresentados na Figura 16, evidenciando o enriquecimento do material nos coprólitos em relação ao substrato ingerido.

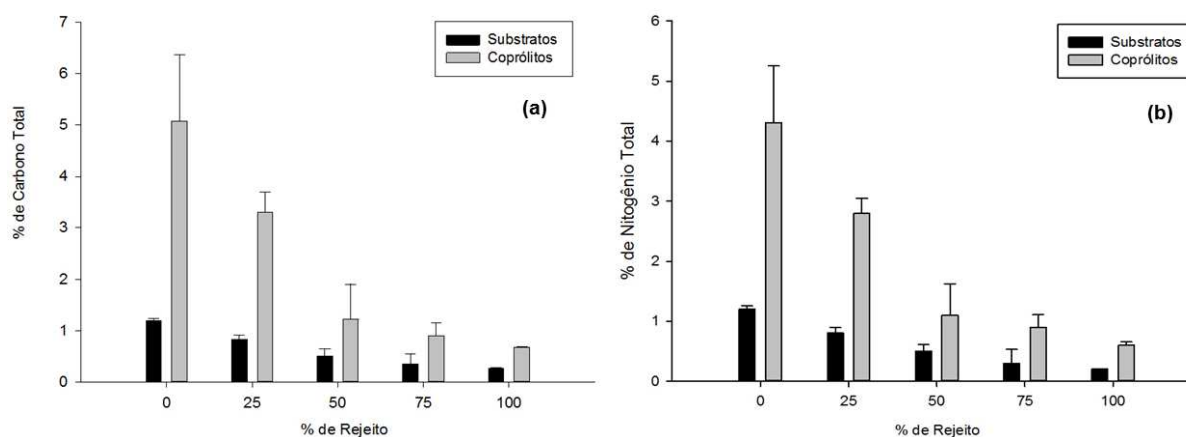


Figura 16. Teores totais nos substratos comparados aos coprólitos de a) Carbono Total; b) Nitrogênio Total.

Os incrementos de C total denotaram valores entre 100 e 400 vezes maiores nos coprólitos, quando comparados aos substratos, em comportamento muito semelhante aos teores encontrados para o N total. Estes dados revelam a que a pedobioturbação, com incremento de matéria orgânica pode exercer um papel importante nos ambientes atingidos, quanto ao *input* da relação C e N totais para melhoria química do rejeito estagnado ao longo das planícies do rio Doce.

Barois et al. (1999), ressaltam em seus estudos que minhocas endogeicas parecem ser capazes de reconhecer micro regiões dentro da solução dos solos com altos teores de C para alimentação. Hernández-Castellanos et al. (2010), observaram aumento dos teores de N total nos coprólitos de *P. corethrurus* e os associou a ação dos nefrídeos e a atividade microbiana intensa no intestino das minhocas.

A disponibilização de C e N para os sistemas atingidos é de fundamental importância, estes elementos desempenham diferentes papéis e se comportam de maneiras variadas nos sistemas, podendo se complexar a compostos químicos, participar de vias metabólicas dos organismos, compor aminoácidos, proteínas, etc. Por tanto, o aumento de ambos os teores é de grande relevância ecossistêmica para o balanço mais adequado à vida dos animais e plantas.

Como as minhocas endogeicas tendem a distribuir os nutrientes dentro dos perfis do solo de forma mais homogênea, depositando seus coprólitos tanto na superfície dos solos, quanto nos túneis e canais construídos por elas, a presença da categoria funcional (endogeica), apresentou-se como agente efetiva na melhoria das relações C/N detectadas.

4.4.3. Teores de metais totais nos controles, substratos e esterco

Para determinação de teores totais de Fe, Al, Mn, Zn, V, Cu, Cr, Ni, Ba, Cd, Pb, Co, Hg e As, foram avaliadas amostras de solo e rejeito testemunhos, esterco e substratos. Os teores obtidos, foram amostrados em triplicatas por repetição de tratamento e são apresentados abaixo na Tabela 8.

Tabela 8: Teores químicos totais (mg/kg⁻¹) encontrados nos testemunhos, substratos e esterco.

Tratamento	Fe	Al	Mn	Zn	V	Cu	Cr	Ni	Ba	Cd	Pb	Co	Hg
	mg/kg ⁻¹												
Solo testemunho	77562	48248	461	48,77	167,00	30,06	88,28*	20,25	105,8	7,59**	14,46	-	-
0% de Rejeito	922	56895	429,71	65,08	169,67	30,45	89,60*	22,88	107,1	0,14	17,64	12,92	0,120
25% de Rejeito	1776	28854	483,66	56,867	98,95	18,42	51,29	13,22	76,15	0,12	<i>22,63</i>	10,28	0,098
50% de Rejeito	2205	15997	515,78	34,315	55,06	11	30,79	8,41	51,66	0,18	<i>21,09</i>	8,13	0,086
75% de Rejeito	2315	10306	538,42	18,476	36,85	8,34	22,62	6,68	40,43	0,11	<i>21,57</i>	7,56	0,077
100% de Rejeito	2330	4681	559,55	12,04	21,9	6,27	15,71	4,61	31,34	0,09	<i>21,08</i>	6,32	0,070
Rejeito testemunho	137271	2699	479	9,75	19,47	N/D	14,78	2,58	24,42	16,23***	14,79	-	-
Esterco	30190	22648	495	287,81	59,10	227,22**	44,12	12,27	93,60	1,97	5,32	-	-

*Valores acima do limite de Prevenção estabelecidos pelo CONAMA 460/2013.

**Valores acima do limite de Investigação Agrícola estabelecidos pelo CONAMA 460/2013.

***Valores acima do limite de Investigação Residencial estabelecidos pelo CONAMA 460/2013.

-Não testados

-N/D – Não detectados

Como já evidenciado na discussão anterior e em outros estudos (GUERRA et al., 2017; ANDRADE et al., 2018), teores elevados de Fe, Al e Mn foram detectados no rejeito, o mesmo foi verificado para o solo testemunho, devido ao material de origem dos solos da região.

Os valores de referência (Apêndice A) para qualidade química dos solos de MG, não apresentam valores limites para presença dos elementos Fe, Al, Mn e V, devido às condições naturais e grandes variações encontradas no estado, apresentando valores diversificados desses elementos naturalmente, dependentes do local de origem, não sendo possível aferir níveis de contaminação ambiental destes elementos segundo as normativas para solos de Minas Gerais. Contudo, a influência desses elementos em maiores quantidades causam toxicidade às raízes de plantas (ANDRADE et al., 2018) e possivelmente alteram a fisiologia dos animais que habitam os solos. Sendo assim, estudos específicos de concentrações destes elementos, impactando as diversas formas de vida e reverberações, devem ser considerados quando se trata da recuperação dos ambientes atingidos, apontando novos desafios para elucidação de processos biogeoquímicos.

Os teores de Fe comparados entre os testemunhos de solo e rejeito em relação aos tratamentos 0% e 100% de rejeito, demonstraram a redução do elemento nos tratamentos. Observou-se que o acréscimo de rejeito influenciou diretamente nos teores de Fe detectados, apresentando-se entre tratamentos na ordem de 100%>75%>50%>25%>0% de rejeito.

O Al é um elemento abundante nas soluções dos solos, altos níveis do elemento podem causar toxidez em plantas e segundo Moreira et al. (2012), sensibilidade em *P. corethrurus* quanto a presença em excesso do elemento, causando fuga dos animais. Teores de Al foram detectados em maior quantidade nos tratamentos com maior dosagem de solo e em teores regressivos entre tratamentos, se apresentando em maiores concentrações no ordenamento de 0%>25%>50%>75%>100% de rejeito. Observou-se que os teores de Al entre os testemunhos de solo e rejeito para os tratamentos 0% e 100% de rejeito foram elevados com a imposição do experimento. Os teores mais elevados de Al no solo podem estar relacionados à granulometria do solo testemunho, contendo maiores teores de argila em relação ao rejeito, propiciando um ambiente de maior presença do elemento. O acréscimo também foi associado à adição de esterco nos substratos.

Os teores de Mn foram reduzidos entre o testemunho de solo e o tratamento 0% de rejeito e entre o testemunho de rejeito em relação ao tratamento 100% de rejeito foi verificado acréscimo. Entre tratamentos o comportamento do elemento foi semelhante ao Fe, apresentando maiores concentrações em dosagens mais elevadas de rejeito. O Mn é um metal pesado, considerado importante indicador de contaminação ambiental, sua suscetibilidade permite antever condições que propiciam a mobilidade de metais pesados com maior toxicidade (MELLO & PÉREZ, 2009). Como discutido por Carvalho Filho (2008) e Davila (2018), o Mn demonstra grande variabilidade de valores encontrados nas regiões atingidas diretamente e no entorno.

Os teores de Zn do solo e rejeito testemunhos para os tratamentos de 0% e 100% de rejeito apresentaram incremento. Nos tratamentos observou-se que quanto maior a dosagem de rejeito, menor foram as concentrações detectadas do elemento. Os valores de Zn foram expressivos no esterco, possivelmente causando o acréscimo do elemento nos tratamentos. Em consonância com os teores mais elevados, como constado por Bartz et al. (2010), a elevação de teores de Zn em coprólitos (espalhados por todos os substratos) podem estar relacionadas a interações entre as minhocas e os microrganismos associados à matéria orgânica, podendo ter ocorrido, por tanto, influência da atividade das minhocas nas alterações detectadas para o elemento.

O V não apresentou alterações significativas nos teores detectados entre o solo testemunho e o tratamento com 0% de rejeito, no rejeito testemunho para o tratamento em 100% de rejeito cerca de 2 mg/kg^{-1} foram acrescidos ao substrato. As alterações notadas foram mais significativas entre tratamentos, onde houve decréscimo do elemento com o aumento das dosagens de rejeito. O vanádio foi o elemento que apresentou valores mais coesos entre testemunhos e tratamentos, sendo detectado nas concentrações em 0% > 25% > 50% > 75% > 100% de rejeito. Não sendo possível observar diretamente a interferência do elemento influenciado pelo esterco ou pelas minhocas, mas pelo incremento de dosagens de solo ao rejeito.

Em relação ao Cu, foram detectados teores elevados no esterco, a níveis acima dos valores limites para *Investigação Agrícola* (Apêndice A). O elemento apresentou teores de $30,06 \text{ mg/kg}^{-1}$ para o solo testemunho e não foi detectado no rejeito testemunho. As doses elevadas do elemento no esterco influenciaram na

contaminação dos tratamentos pelo elemento. Em teores menores que o V, o Cu apresentou o mesmo comportamento de regressão com as dosagens de rejeito.

Os teores de Cr encontrados, não sofreram grandes alterações quando comparados os testemunhos aos tratamentos de 0% e 100% de rejeito. As leituras de Cr evidenciaram a presença do elemento em concentrações acima do limite de *Prevenção* (75 mg/kg^{-1}), para o solo testemunho e tratamento em 0% de rejeito ($88,28$ e $89,6 \text{ mg/kg}^{-1}$, respectivamente). O Cr não é considerado um elemento essencial ao desenvolvimento de plantas (CASTILHOS et al., 2001), contudo se presente em excesso na solução dos solos, pode ser absorvido pelas plantas, resultando em danos como clorose, redução de crescimento foliar e radicular e morte (MERTZ, 1969), a depender da tolerância de cada planta ao elemento. Em estudos relacionados ao elemento no rejeito, Pires et al. (2003), encontraram nos resíduos do complexo de Germano valores do elemento acima do limite de *Prevenção Residencial* (300 mg/kg^{-1}), evidenciando a presença elemento no rejeito, que eventualmente não foi detectado no presente estudo, devido ao local de coleta das amostras.

Os teores de Ni apresentaram leve incremento comparados os testemunhos aos tratamentos respectivos. Entre tratamentos foram detectados na seguinte ordem de concentração: $0\% > 25\% > 50\% > 75\% > 100\%$ de rejeito. Segundo diversos autores, as quantidades encontradas não apresentam risco de toxicidade, contudo, os teores detectados nos tratamentos com rejeito em maiores dosagens, demonstram valores baixos do elemento, os quais podem causar deficiência nutricional em alguns cultivares (BERTRAND & WOLF, 1968; ROVERS et al., 1983, UREN, 1992).

Nas leituras para teores de Ba foi constatada uma leve elevação entre o solo testemunho ($105,8 \text{ mg/kg}^{-1}$) e o tratamento 0% de rejeito ($107,1 \text{ mg/kg}^{-1}$). Para o rejeito testemunho em relação ao 100% de rejeito houve acréscimo de $6,92 \text{ mg/kg}^{-1}$ do elemento. Entre tratamentos o padrão de seguiu a ordenação de detecção do Ni, sendo mais presente no solo reduzindo gradativamente sua concentração com aumento das dosagens de rejeito.

O Cd é conhecido pela sua alta toxicidade e mobilidade em comparação a outros metais potencialmente tóxicos (ZHAO et al., 2009, 2010) e foi o elemento que apresentou maior discrepância nas leituras. No testemunho de rejeito o elemento foi detectado em dosagens acima do limite de *Investigação Residencial* em $16,23 \text{ mg/kg}^{-1}$, alcançando valores próximos ao de *Investigação Industrial* (20 mg/kg^{-1}).

Para o solo testemunho os teores detectados estão acima do limite de *Investigação Agrícola*, com teores médios de $7,59 \text{ mg/kg}^{-1}$. Entre tratamentos e no esterco, os teores encontrados não foram preocupantes, apresentando-se variáveis. Possivelmente a diluição do material do rejeito com solo, somado ao acréscimo de material orgânico, água e ação dos anelídeos, influenciaram positivamente na adsorção e/ou imobilização do Cd. O elemento foi detectado em menores quantidades nos substratos comparados aos anelídeos e coprólitos (Tabela 9). Tendo em vista que o metal não foi detectado nas populações de minhocas testemunho, as leituras denotaram a transferência do metal para os animais, por consequência da imposição do experimento (PAULA, 2018 – dados não publicados). Não foi possível averiguar as relações entre metais e outros componentes dos substratos com o Cd, para explicar os valores anômalos detectados entre tratamentos e testemunhos.

Para os valores de referência que definem a qualidade natural do solo de Minas Gerais, a concentração de Pb é de $19,5 \text{ mg/kg}^{-1}$. Os teores de Pb encontrados nos testemunhos de solo e rejeito variaram pouco entre si ($14,46$ e $14,79 \text{ mg/kg}^{-1}$, respectivamente) e o esterco apresentou valores baixos do elemento. O metal pesado apresentou teores maiores nos substratos finais comparados aos testemunhos. Entre tratamentos não foi verificada tendência. O elemento foi detectado nas leituras de minhocas submetidas aos tratamentos e coprólitos, mas não foi verificado no grupo testemunho de minhoca (Tabela 9), como ocorreu com o Cd, denotando a transferência do metal para os animais, por consequência da imposição do experimento (PAULA, 2018 – dados não publicados).

Ao contrário do Cd, que foi verificado em quantidades maiores nos testemunhos, o Pb foi encontrado em valores menores, quando comparados aos tratamentos. Possivelmente a origem da contaminação foi advinda dos materiais de solo e rejeito, contudo não foi possível explicar seu acréscimo, relacionado à dinâmica dos substratos com esterco e minhocas, necessitando de estudos mais aprofundados sobre a mobilidade dos elementos, fisiologia dos animais quanto à presença dos elementos e interferências nos métodos de detecção.

O Cd e Pb são adsorvidos por materiais presentes no rejeito e solo da região, expressivos principalmente na fração argila como óxidos de Fe, Al e Mn (DAVILA, 2018), que além de apresentar afinidade com os metais citados, são propensos a adsorver outros metais pesados.

Segundo Dong et al. (2000), óxidos de Mn expressam afinidade pela adsorção de Pb. Para o Cd, de acordo com Pierangeli et al. (2007), a adsorção é mais propensa quando relacionada aos óxidos de Fe. Diversos estudos relacionados a adsorção de metais pesados, demonstram haver outras possibilidades de mobilidade de metais, por exemplo, através da matéria orgânica (PIERANGELI et al., 2007) e reações ligadas a alterações no pH, CTC, teor de argila, água, dentre outros fatores. Sabendo-se que cada tipo de solo possui composição única e variações locais, conseqüentemente apresentarão relações diferentes com a adsorção destes e outros metais.

O Co e o Hg não foram verificados quanto aos testemunhos e esterco. As leituras de Co demonstraram haver tendência de diluição do elemento com o acréscimo de rejeito, sendo o elemento mais presente no solo e se apresentando em teores entre tratamentos na ordem de 0% > 25% > 50% > 75% > 100% de rejeito.

Teores de Hg foram detectados em todos os tratamentos com valores entre os de Referência para o Estado e de Prevenção (0,05 e 0,5 mg/kg⁻¹, respectivamente) (Apêndice A), não sendo constatada sua presença a níveis de relevância toxicológica. Entre tratamentos foi verificado o acréscimo correlacionado a diluição com solo, onde se verificou os maiores teores.

Os valores de As não são apresentados na Tabela 8 por não terem sido detectados nas leituras em ICP-OES em nenhuma amostra.

Todos os teores foram comparados aos valores estabelecidos pelo COPAM 166 (2011) e CONAMA 460 (2013) (Apêndice A).

Por este estudo tratar da análise de reações biogeoquímicas, foram evidenciadas relações complexas e interconectadas, entre os materiais testados. Para a compreensão precisa das alterações nos valores, há necessidade de estudos mais específicos sobre a interação fisiológica da fauna e flora nos ambientes atingidos, bem como sua biomagnificação trófica, em condições de variações ambientais (*in-situ*), visando a melhor compreensão dos impactos e medidas a serem tomadas.

4.4.4. Teores de metais totais nos tecidos e coprólitos das minhocas

Para determinação de teores totais de Fe, Al, Mn, Zn, V, Cu, Cr, Ni, Ba, Cd, Pb, Co e As, foram avaliadas amostras de tecidos das minhocas adultas (as mesmas colocadas inicialmente no experimento) e coprólitos. Não sendo possível

averiguar o conteúdo de Hg nestas análises, visto que o material resultante do experimento foi insuficiente. Os valores apresentados na Tabela 9 representam as médias das amostragens de teores químicos totais. Como ocorreu nas análises anteriores, o método não detectou As, por isso ele não é apresentado.

Estudos relacionados à dinâmica nutricional e biorremediação, demonstraram haver uma grande variação entre a bioacumulação em diferentes espécies de minhocas, dependendo de diferenças interespecíficas nas exigências de espécies químicas, características fisiológicas e morfológicas, tipo de espécie, categoria ecológica, substrato, estação e outros fatores (USMANI et al, 2017). Sendo assim, não há um padrão de referência específica para averiguação em *P. Coretrurus*, como há para solos. Por tanto, para balizar os teores médios de referência para a minhoca, foram utilizados os grupos de minhocas testemunho do experimento, comparando-se as alterações químicas detectadas posteriormente à retirada das populações das unidades experimentais. Por apresentarem composição parecida ao dos substratos circundantes, os coprólitos foram comparados aos valores de referência de qualidade para solos (VRQ's) de MG.

Tabela 9: Teores químicos totais (mg/kg⁻¹) encontrados nos tecidos das populações minhocas adultas ^{/1} e coprólitos ^{/2}.

Populações de minhocas ^{/1}	Fe	Al	Mn	Zn	V	Cu	Cr	Ni	Ba	Cd	Pb	Co
	mg/kg ⁻¹											
Minhocas testemunho	-	-	195	346,12	91,10	83,06	61,83	9,46	364,62	N/D	N/D	-
0% de Rejeito	45	8084	113,40	524,99	20,16	14,60	10,79	4,50	225,52	2,74	4,71	6,59
25% de Rejeito	64	5012	126,47	686,34	11,99	13,10	6,32	3,19	262,57	3,04	2,35	6,36
50% de Rejeito	190	7223	230,26	439,05	22,17	12,36	12,92	4,34	205,21	1,90	7,43	6,36
75% de Rejeito	156	2344	213,27	436,92	7,43	10,64	4,75	2,30	150,68	2,17	6,20	5,84
100% de Rejeito	196	2046	588,20	427,31	7,48	10,83	5,68	2,52	192,42	1,93	5,42	4,98

Coprólitos ^{/2}	Fe	Al	Mn	Zn	V	Cu	Cr	Ni	Ba	Cd	Pb	Co
	mg/kg ⁻¹											
0% de Rejeito	602	32800	376	149,50	101,41	41,84	57,46	17,33	94,99	0,14	213,86*	11,35
25% de Rejeito	1204	29654	526	91,43	101,61	36,42	56,88	16,70	96,01	0,20	48,32	13,47
50% de Rejeito	1755	19338	524	44,48	69,03	21,54	42,49	11,27	59,26	0,28	27,61	9,32
75% de Rejeito	1933	12688	554	36,90	46,86	17,06	32,37	9,53	45,46	0,23	54,98	8,31
100% de Rejeito	1961	4942	587	29,80	21,50	11,50	20,23	6,35	33,04	0,22	61,79	6,23

*Valores acima do limite de Investigação Agrícola estabelecidos pelo CONAMA 460/2013.

-Não testados

-N/D – Não detectados.

Os elementos testados nas populações de minhoca testemunho, foram representativos para Mn, Zn, V, Cu, Cr, Ni, Ba, Cd e Pb, sendo estes dois últimos não detectados nos tecidos iniciais, indicando que as concentrações obtidas de Cd e Pb nos substratos, sofreram aporte através da imposição dos tratamentos (Tabela 9).

Os tecidos analisados quanto ao Fe, verificados entre tratamentos, demonstraram uma diferença de 150 mg/kg^{-1} , entre as minhocas submetidas a 100% de rejeito, comparados ao tratamento 0% de rejeito. A variação entre tratamentos demonstra assimilação de Fe nos tecidos, em consequência das dosagens de rejeito, se apresentando em quantidades maiores na ordem de 100% > 50% > 75% > 25% > 0% de rejeito. Para os coprólitos, observou-se o mesmo padrão progressivo de acúmulo de Fe, em teores maiores que os detectados nos tecidos.

Em tendência oposta ao Fe, os teores de Al foram encontrados em maior quantidade em 0% de rejeito e menores no tratamento em 100% de rejeito para os tecidos, apresentando variação na dosagem intermediária de 50% de rejeito. Para os coprólitos, a redução do Al foi associada ao incremento de rejeito, apresentando-se na ordem de 0% > 25% > 50% > 75% > 100% de rejeito.

Para Mn entre tratamentos, os teores detectados nos tecidos demonstraram tendência de acúmulo com acréscimo de rejeito, variando nas dosagens intermediárias de 50% e 75% de rejeito. Comparados aos valores iniciais (195 mg/kg^{-1}), observou-se a redução dos teores nas dosagens de 0% e 25% de rejeito e aumento nas 50% e 75%, alcançando 300 vezes mais acúmulo na dosagem de 100% de rejeito ($588,2 \text{ mg/kg}^{-1}$) em relação ao testemunho. Para os coprólitos entre tratamentos, verificou-se tendência de aumento do elemento com o acréscimo de rejeito, com leves alterações entre tratamentos.

Para os teores de V, Cu, Cr, Ni e Ba observou-se redução quando comparados aos valores referência do grupo testemunho de minhoca.

Para os valores de Zn, Cd e Pb, observou-se acumulação nos tecidos, apresentando teores menores ou não detectados no grupo testemunho, comparativamente aos tratamentos, denotando assimilação dos elementos, principalmente Cd e Pb.

Comparados entre tratamentos, no tecido das populações, o Zn, V, Cu, Cr, Ni, Ba, Cd e Pb variaram entre tratamentos, o Co apresentou valores mais

coesos entre tratamentos sendo: 0%>25%=50%>75%>100% de rejeito. O Mn apresentou pequena variação entre os substratos 50% e 75% de rejeito, conotando tendência a acumulação pelo contato com o rejeito, sendo detectados em 100%>50%>75%>25%>0% de rejeito.

Para melhor compreensão das variações dos dados obtidos, o cálculo do fator de bioacumulação (Item 4.5) elucida melhor a transferência dos elementos para os tecidos e coprólitos.

Entre tratamentos, os teores encontrados nos coprólitos para Al, Zn, V, Cu, Cr, Ni, Ba e Co, denotaram aumento nas concentrações na ordem de 0%>25%>50%>75%>100% de rejeito. O vanádio, bário e cobalto apresentaram uma variações pouco significativas entre as dosagens de 0% e 25% de rejeito. Para as leituras de Fe e Mn nos coprólitos, foi constatado que o acréscimo de rejeito influenciou positivamente na presença dos metais. Para os teores de Cd e Pb, foi verificada uma maior variação entre tratamentos.

Os coprólitos, não detectaram problemas com relação ao risco de contaminação, à exceção do Pb, verificado acima do limite de *Investigação Agrícola* para o tratamento 0% de rejeito.

4.5. Fator de Bioacumulação (FBA)

Para avaliação da bioacumulação de elementos químicos em *P. corethrurus* e nos coprólitos, calculou-se o FBA (OECD 317, 2010). Os cálculos relativos ao fator são expressos em mg/kg^{-1} do elemento encontrado. Os valores analisados podem ser verificados nas Tabelas 8 e 9.

Nas Figuras 17 a 24 são apresentados os FBA's com teores totais encontrados para Fe, Mn, Al, Zn, Ni, Cu, Co, Ba, Cr, V, Cd e Pb, entre tratamentos. Nos gráficos tipo *boxplot*, o tamanho das caixas representa a variação dos teores obtidos, as médias são representadas pelas linhas horizontais e o desvio padrão pelas linhas pontilhadas verticais.

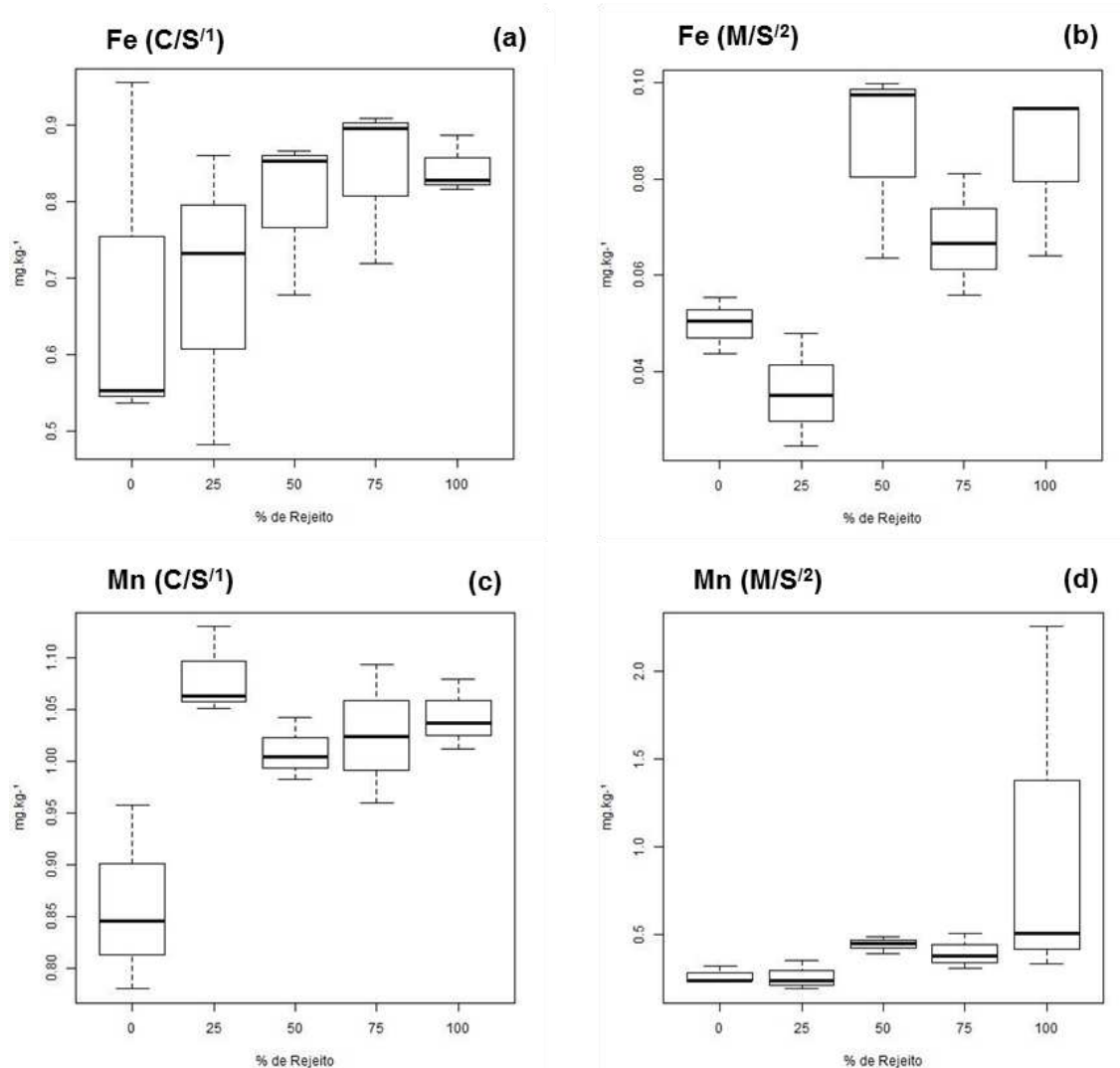


Figura 17. a) FBA de Fe para coprólitos (C/S¹); b) FBA de Fe para tecidos de minhocas adultas (M/S²); c) FBA de Mn para coprólitos (C/S¹); d) FBA de Mn para tecidos de minhocas adultas (M/S²).

Os fatores de bioacumulação (FBA's) para o Fe revelaram haver tendência de bioacumulação do elemento nos coprólitos (Figura 17a), influenciadas diretamente pelo acréscimo de rejeito. No tecido das minhocas (Figura 17b) foi observada uma tendência de acumulação, apresentando variações entre tratamentos na ordem de 50% > 100% > 75% > 0% > 25% de rejeito. A dinâmica dos elementos entre variáveis biológicas, normalmente apresentam assimetrias (anomalias) por se tratarem de sistemas complexos e interdependentes, contudo a tendência de bioacumulação foi evidenciada pelos FBA's comparados entre tratamentos. Observou-se que os animais excretam teores mais concentrados do elemento quando comparados aos acumulados em seus tecidos.

A bioacumulação do Mn foi bem evidenciada com o incremento de rejeito para os coprólitos (Figura 17c), quando comparados o tratamento 0% de rejeito aos demais. O acréscimo de rejeito aos substratos foi o fator mais discrepante para observação do acúmulo nos coprólitos, evidenciando que nos sistemas contendo alguma quantidade do material, as minhocas processam o elemento e o excretam em teores pouco maiores que os bioacumulados em seus tecidos. Observou-se que nos tecidos (Figura 17d) a acumulação de Mn menos evidenciada, apresentando mesmo que em menor proporção, tendência de acúmulo, sendo encontrados na seguinte ordem de bioacumulação 100% > 50% > 75% > 0% \cong 25% de rejeito.

No FBA para o Al nos coprólitos, representado pela Figura 18a, averiguou-se influência direta pelo acréscimo de rejeito. No tratamento de 0% de rejeito em relação aos demais, o acréscimo do material foi verificado como fator diretamente relacionado ao acúmulo.

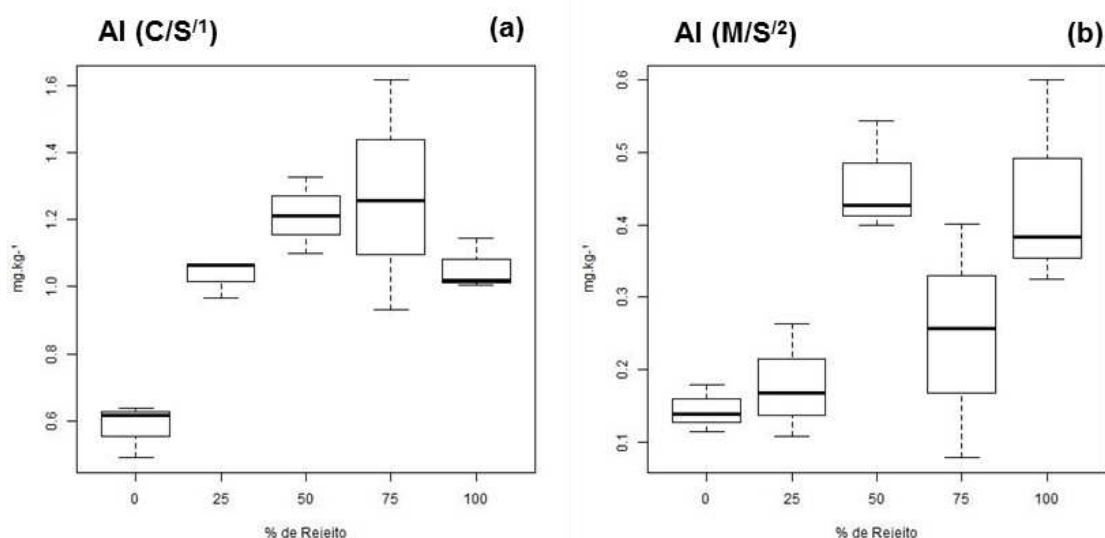


Figura 18. a) FBA de Al para coprólitos (C/S¹); b) FBA de Al para tecidos de minhocas adultas (M/S²).

Na Figura 18b, relativa ao FBA de Al nos tecidos, observou-se maiores acúmulos do elemento na dosagem de 50% de rejeito, associando o *input* de rejeito aos fatores verificados, apresentando-se na seguinte ordem por tratamento 50% > 100% > 75% > 25% > 0% de rejeito. A comparação entre coprólitos e tecidos evidenciou que as populações excretam maiores quantidades de Al, do que assimilam em seus tecidos.

O FBA para o Zn nos coprólitos (Figura 19a) apresentou-se variável entre tratamentos, indicando não haver associação direta das concentrações de rejeito no acúmulo de Zn nos excrementos, o que pode ser associado a atividade fisiológica das minhocas, como discutido no item 4.4.3. O Zn foi encontrado em excesso no material orgânico acrescido aos tratamentos, corroborando a capacidade de seleção de alimento dos animais. Nos tecidos (Figura 19b), o efeito da bioacumulação foi bem evidenciado, apresentando aumento do elemento com a adição de rejeito. Alterações pouco significantes entre os tratamentos de 25% e 50% de rejeito foram observadas. As minhocas apresentam uma maior capacidade de assimilar o Zn nos tecidos que os excretá-los.

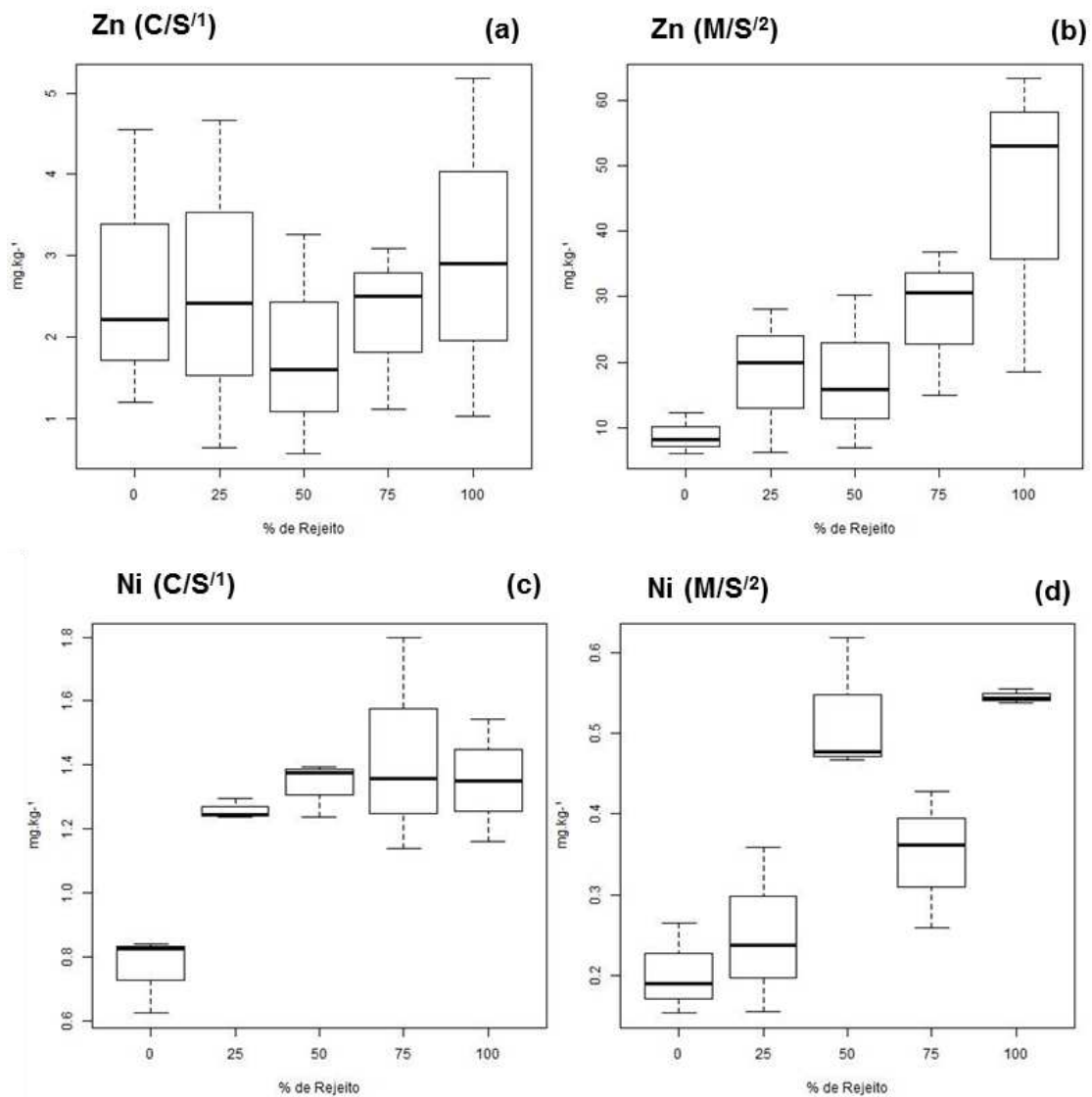


Figura 19. a) FBA de Zn para coprólitos (C/S¹); b) FBA de Zn para tecidos de minhocas adultas (M/S²); c) FBA de Ni para coprólitos (C/S¹); d) FBA de Ni para tecidos de minhocas adultas (M/S²).

Para o Ni, os fatores de bioacumulação demonstraram incremento do elemento nos coprólitos e tecidos. Nos fatores relacionados aos coprólitos (Figura 19c), evidenciou-se que a presença do rejeito influenciou no acúmulo do metal encontrado nos excrementos, com valores muito semelhantes entre os tratamentos com alguma dosagem de rejeito. Com relação aos tecidos (Figura 19d) verificou-se que o incremento de rejeito nos tratamentos também afetou positivamente o acúmulo do Ni, apesar da variação entre as dosagens, a tendência entre 0% e 100% de rejeito fica mais bem evidenciada. Os animais excretaram maiores quantidades do elemento que assimilaram em seus tecidos.

Os FBA's em coprólitos para o Cu, apresentados na Figura 20a, denotaram valores mais baixos no tratamento em 0% de rejeito em relação aos demais e variações entre 25% a 100% de rejeito, apontando para a influência do acréscimo das dosagens de rejeito no acúmulo do metal, sendo obtidos nas concentrações de 75% > 50% > 25% > 100% > 0% de rejeito.

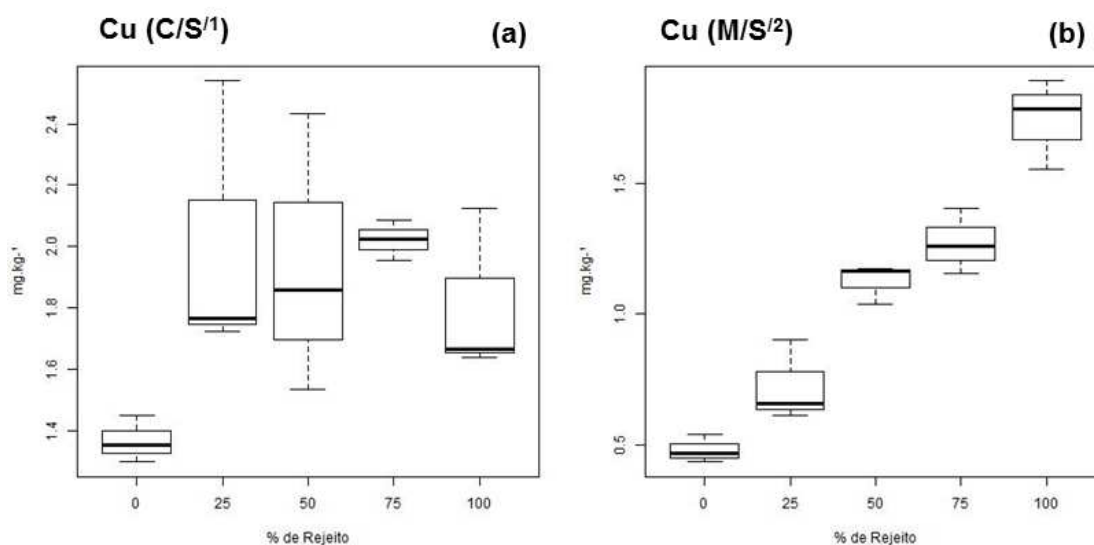


Figura 20. a) FBA de Cu para coprólitos (C/S¹); b) FBA de Cu para tecidos de minhocas adultas (M/S²).

Em relação à bioacumulação para os tecidos das minhocas (Figura 20b), o Cu foi o elemento que demonstrou uma tendência mais consistente entre o acréscimo de rejeito e o aumento da bioacumulação nos tecidos. Cabe a ressalva que os valores de Cu encontrados no esterco, utilizado no experimento, continuam elevados teores do elemento, ao passo que no rejeito testemunho o elemento não foi detectado. O esterco foi misturado na mesma padronização para todas as unidades experimentais, o que aponta para a contaminação via

esterco, contudo, ao que se pode analisar, cada substrato reagiu em maior ou menor intensidade com o esterco, causando bioacumulação do metal progressivamente às dosagens de rejeito. Comparando-se coprólitos a tecidos, evidenciou-se que as populações excretam maiores quantidades de Cu, que assimilam.

Os FBA's observados para os tecidos em relação ao Co e Ba são apresentados nas Figuras 21b e 21d. Os gráficos apontaram a tendência de bioacumulação com o incremento de rejeito nos substratos. Para o Co, fatores detectados entre as dosagens 50% e 100% de rejeito apresentaram valores médios semelhantes entre si, enquanto para o Ba evidenciou-se melhor a tendência de bioacumulação nos tecidos em razão do aumento das dosagens.

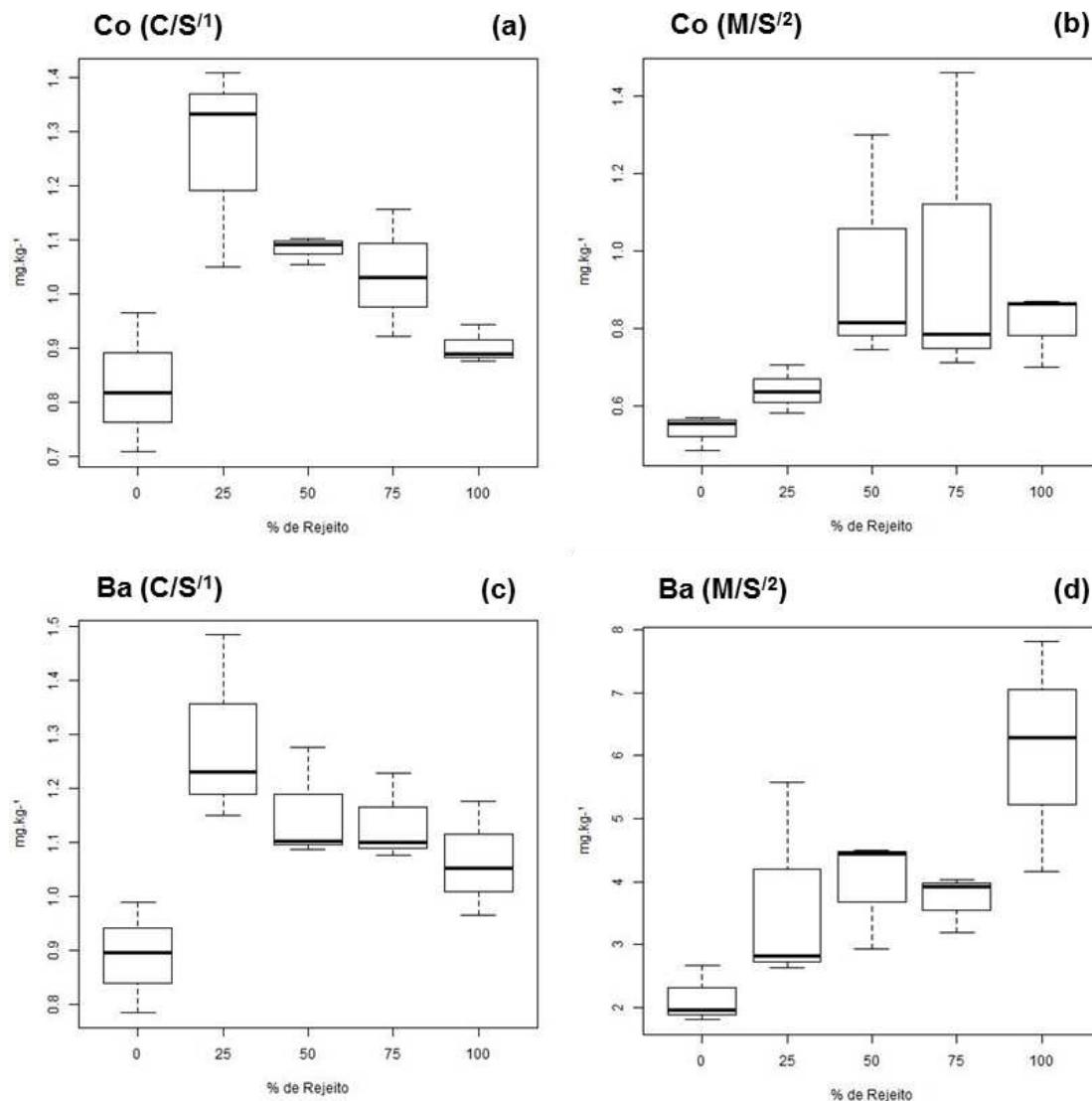


Figura 21. a) FBA de Co para coprólitos (C/S¹); b) FBA de Co para tecidos de minhocas adultas (M/S²); c) FBA de Ba para coprólitos (C/S¹); d) FBA de Ba para tecidos de minhocas adultas (M/S²).

O fator de bioacumulação para o Co e Ba nos coprólitos (Figuras 21a e 21c) apresentaram incremento com o acréscimo de rejeito nos tratamentos, apresentando picos de acumulação na dosagem de 25% de rejeito, tendendo a redução com acréscimo do material do rejeito, observou-se a seguinte ordem de bioacumulação entre tratamentos para coprólitos: 25% > 50% > 75% > 100% > 0% de rejeito. Os valores acumulados de Co e Ba apresentam maiores concentrações nos coprólitos quando comparados aos tecidos.

Os fatores de bioacumulação para o Cr e V em coprólitos e tecidos são apresentados na Figura 22.

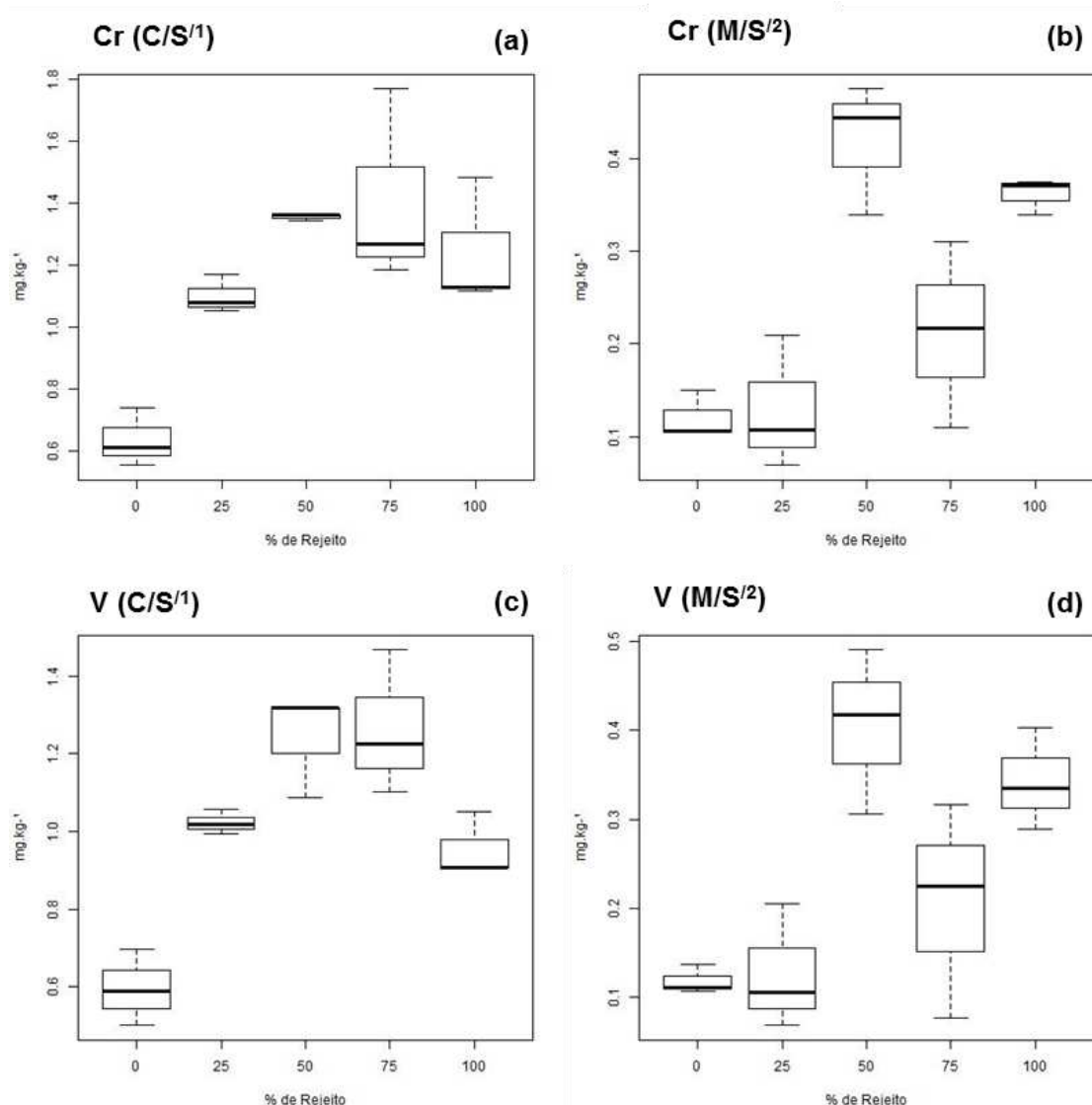


Figura 22. a) FBA de Cr para coprólitos (C/S¹); b) FBA de Cr para tecidos de minhocas adultas (M/S²); c) FBA de V para coprólitos (C/S¹); d) FBA de V para tecidos de minhocas adultas (M/S²).

Nos elementos Cr e V, observaram-se tendências muito semelhantes entre os FBA's de tecidos, coprólitos e entre tratamentos. Para os coprólitos

(Figuras 22a e 22c) observou-se incremento dos elementos a partir da dosagem de 25% de rejeito com picos de bioacumulação em 50% de rejeito, sendo averiguados na seguinte ordem de bioacumulação para o cromo: 50%>75%>100%>25%>0% de rejeito e para o vanádio em 50%>75%>25%>100%>0% de rejeito.

No tecido das minhocas (Figuras 22b e 22d) os dois elementos foram encontrados de forma mais expressiva nas dosagens acima de 50% de rejeito, tratamento que apresentou maior FBA para o Cr e V e encontrados no seguinte ordenamento de bioacumulação: 50%>100%>75%>25% \cong 0% de rejeito. Observou-se em mg/kg^{-1} que os anelídeos excretam maior quantidade dos metais nos coprólitos, quando comparados aos tecidos.

Os fatores de bioacumulação observados para o Cd são apresentados na Figura 23, mantendo-se em valores médios semelhantes para todos os tratamentos, não se verificou nenhuma tendência quanto à bioacumulação do metal nos coprólitos ou tecidos entre tratamentos.

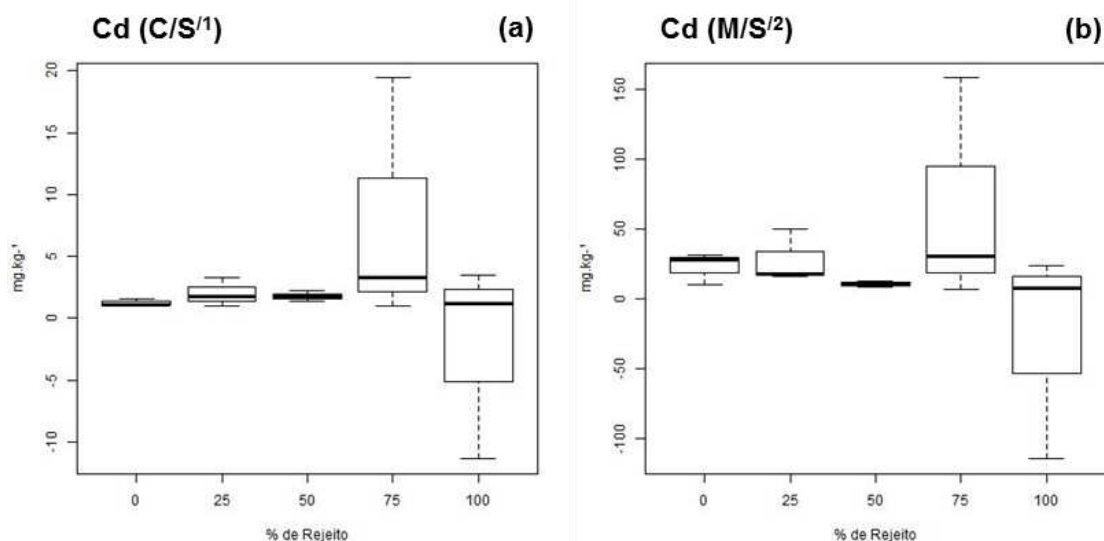


Figura 23. a) FBA de Cd para coprólitos (C/S^1); b) FBA de Cd para tecidos de minhocas adultas (M/S^2).

Nos coprólitos a bioacumulação de Pb variou entre tratamentos, como apresentado na Figura 24a. Segundo as médias obtidas do elemento, foi verificado na ordem de bioacumulação em 50%>75%>100%>0%>25% de rejeito.

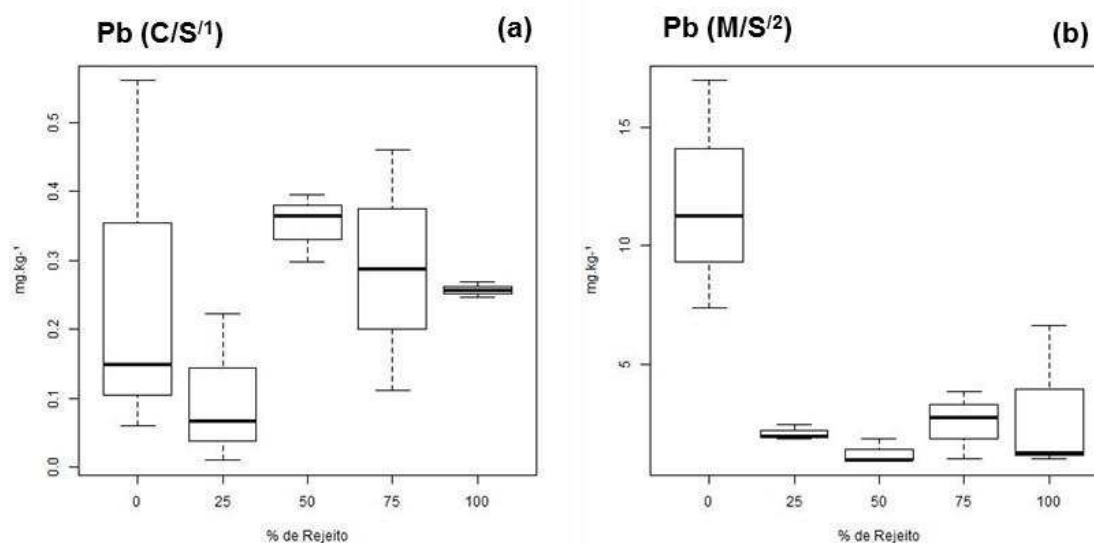


Figura 24. a) FBA de Pb para coprólitos (C/S^1); b) FBA de Pb para tecidos de minhocas adultas (M/S^2).

Os FBA's dos tecidos (Figura 24b), foram os únicos que demonstraram resposta diferente dos demais elementos testados, apresentando a média de bioacumulação maior em razão do solo sem presença de rejeito, reduzindo muito nos teores encontrados para os tratamentos acima de 25% de rejeito. Os valores apontam para uma tendência de maior assimilação nos tecidos, quando comparados aos coprólitos.

Contudo, em observância a Tabela 9, o Cd e Pb não foram detectados nos grupos de minhocas testemunho, sugerindo ter ocorrido acumulação dos metais em todas as populações nas diferentes proporções de rejeito. No solo e rejeito testemunhos (Tabela 8), foram detectadas concentrações acima dos limites de investigação para o Cd, estabelecidos pelo CONAMA 460 (2013), reduzindo abruptamente os teores quando comparados aos tratamentos. Para o Pb o efeito contrário foi observado, apresentando teores menores nos testemunhos comparados aos tratamentos. Levando-se em consideração estas informações, demonstrou-se que as populações de minhoca sofreram influência na absorção dos elementos em função do acréscimo de solo e rejeito, como discutido anteriormente.

5. CONCLUSÕES

As respostas biológicas aos tratamentos demonstraram que o tratamento em 50% de rejeito, de forma geral, foi o menos problemático ao desenvolvimento de populações de *Pontoscolex corethrurus ex-situ*. Os tratamentos em 75% e 100% de rejeito foram limitantes à vida da espécie.

Os substratos com menores concentrações de rejeito (0% e 25% de rejeito) aportaram alguma diversidade de fauna edáfica e condições para o desenvolvimento de outros anelídeos, sugerindo que a espécie (*Amyntas* sp.) tolera alguma quantidade do resíduo.

Os resultados relacionados à textura e outros parâmetros de ordem física dos substratos, evidenciaram a baixa estruturação física do material do rejeito, piorando os resultados gerais com o acréscimo paulatino do material.

A imposição dos tratamentos reduziu consideravelmente teores de argila no rejeito, fator indesejável que pode piorar a qualidade daqueles ambientes edáficos. Os resultados demonstraram que o rejeito tende a encharcar os substratos, acumulando água e dificultando sua percolação.

Os baixos valores encontrados para atributos de fertilidade do solo, no rejeito coletado (sedimentos revolvidos), estão relacionados também à sua baixa estruturação física e origem do rejeito. Cabe ressaltar, que o aporte de material orgânico adicionado aos tratamentos, ocasionando a melhoria em diversos atributos, somente foi possível *ex-situ*, visto que em ambiente natural (*in-situ*), tornaria-se inviável, exigindo quantidades enormes de material orgânico.

Os coprólitos apresentaram acréscimo eficiente e desejável aos tratamentos na relação C/N dos substratos.

Os teores químicos denotaram valores acima do limite de *Prevenção* para o Cr no solo testemunho e no tratamento 0% de rejeito. O Cd foi detectado acima do limite de *Investigação Agrícola* para o solo testemunho e acima do limite de *Investigação Residencial* para o rejeito testemunho. Valores de Pb foram encontrados nos coprólitos acima do limite de *Investigação Agrícola* para o tratamento 0% de rejeito.

Os fatores de bioacumulação para Fe, Mn, Al, Zn, Ni, Cu, Co, Ba, Cr, V, nos tecidos das populações testadas, apresentaram tendência positiva para bioacumulação em função do acréscimo das dosagens de rejeito nos substratos. Os fatores para Cd e Pb não foram conclusivos, sendo o Pb mais associado ao solo sem contaminação de rejeito (0% de rejeito).

Os fatores de bioacumulação nos coprólitos para Fe, Mn, Al, Ni, Cu, Co, Ba, Cr, V e Pb, evidenciaram relação positiva com acréscimo de rejeito. Para o Zn e Cd os resultados variaram entre tratamentos, sem tendência.

A complexidade do rejeito e suas interações com o solo e sistemas vivos é um assunto novo e complexo, como evidenciado no presente estudo e outros tantos citados. Informações como as apresentadas são de grande relevância para o manejo das áreas impactadas a nível ecossistêmico.

Por fim, minhocas como o *P. corethrurus* devem ser manejadas de forma cautelosa e com acompanhamento criterioso, por sua propensão em criar horizontes compactados e expandir com facilidade suas populações. Para melhoria efetiva nas propriedades do solo, a utilização de espécies que exerçam o efeito contrário, se torna uma boa alternativa a ser estudada de forma associada. A garantia de populações equilibradas e com alta diversidade taxonômica é conceito basilar para manutenção de ecossistemas saudáveis. Possivelmente, através da mistura já realizada nas planícies atingidas, a pedofauna carregada esteja se reestabelecendo nos sedimentos, conforme tolerância de cada táxon e espécie.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB'SABER, A. N. Domínios Morfoclimáticos e Solos do Brasil. *In: VENEGAS, V. H. A., FONTES, L. E. F., FONTES, M. P. F. (eds.) O Solo nos Grandes Domínios Morfoclimáticos do Brasil e o Desenvolvimento Sustentado.* Viçosa, MG: SBCS; UFV, 1996.
- ABELOOS, M.; AVEL, M. Un cas de périodicité du pouvoir régénérateur: la régénération de la queu chez les Lombriciens *Allolobophora terrestris* et *A. caliginosa*. *C R Soc Biol.* (99). 1928. 737-738p.
- ANA - AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil. Informe 2015. *Encarte especial sobre a Bacia do Rio Doce: Rompimento da barragem em Mariana/MG.* Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos - SPR. Brasília, DF. 2016.
- ANDRADE, G. F.; PANIZ, F. P.; MARTINS J. R. A. C., ROCHA, B. A.; LOBATO, A. K. S.; RODRIGUES, J. L.; CARDOSO-GUSTAVSON, P.; MASUDA, H. P.; BATISTA, B. L. Agricultural use of Samarco's spilled mud assessed by rice cultivation: A promising residue use? *Chemosphere.* (193) 2018. 892-902p.
- AQUINO, A. M.; ALMEIDA, D. L.; FREIRE, L. R.; DE-POLLI, H. Reprodução de minhocas (Oligochaeta) em esterco bovino e bagaço de cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.29. 1994. 161-168p.
- AQUINO, A. M.; ALMEIDA, D. L.; SILVA, V. F. Utilização de minhocas na estabilização de resíduos orgânicos: vermicompostagem. Rio de Janeiro: *Centro Nacional de Pesquisa Biológica do Solo.* Comum. Téc. 8. 1992. 13p.
- ARUNACHALAM, S. Some aspects of the biology of a tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (F. Muller). *J. Bombay Nat. Hist. Soc.* (75). 1978. 110-114p.
- ÁVILA, J. P.; SAWAYA, M. As Barragens de Rejeitos no Brasil: Sua evolução nos últimos anos. *In: MELLO, F. M. (coord.); PIASENTIN, C. (ed.) A história das barragens no Brasil, Séculos XIX, XX e XXI: cinquenta anos do Comitê Brasileiro de Barragens.* Rio de Janeiro: CBDB, 2011. 369-395p.

- BALCKE, G. U.; KULIKOVA, N. A.; HESSE, S.; KOPINKE, F. D.; PERMINOVA, I.V.; FRIMMEL, F. H. Adsorption of humic substances onto kaolin clay related to their structural features. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66. 2002. 1805-1812p.
- BANFIELD, J. F., BARKER, W. W., WELCH, S.A., TAUNTON, A. Biological impact on mineral dissolution: Application of the lichen model to understanding mineral weathering in the rhizosphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 1999. 3404-3411p.
- BAROIS, I.; LAVELLE P. Changes in respiration rate and some physicochemical properties of a tropical soil d'uring transit through *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *Soil Biol. Biochem.* (18) 1986. 539-541p.
- BAROIS, I.; LAVELLE, P.; BROSSARD, M.; TONDOH, J.; MARTINEZ, M.; ROSSI, J.; SENAPATI, B.; ANGELES, A.; FRAGOSO, C.; JIMENEZ, J.; DECAËNS, T.; LATTAUD, C. KANONYO, J.; BLANCHART, E.; CHAPUIS, L.; BROWN, G. G.; MORENO, A. A. Ecology of earthworms species with large environmental tolerance and or extended distributions. *In: (eds.) LAVELLE, P.; BRUSSAARD, L.; HENDRIX, P.; Earthworm management in tropical agroecosystems.* CABI Interntional, Wallingford, UK, 1999. 57-85p.
- BAROIS, I.; VILLEMEN, G.; LAVELLE, P., TOUTAIN, F. Transformation of the soil structure through *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta) intestinal tract. *Geoderma* (56) 1993. 57-66p.
- BARTZ, M. L. C., COSTA. A. C. S., TORMENA, C. A., SOUZA JR., I. G., BROWN, G. G. Sobrevivência, produção e atributos químicos de coprólitos de minhocas em um Latossolo Vermelho distroférrico (Oxisol) sob diferentes sistemas de manejo. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), Número Especial. v. 2. 2010. 261-280p.
- BASKER, A., KIRKMAN, J. H., MACGREGOR A. N. Changes in potassium availability and other soil properties due to soil ingestion by earthworms. *Biol Fert Soils.* (17) 1994. 154-158p.
- BASKER, A.; KIRKMAN, J. H.; MACGREGOR, A. N. The availability of potassium in soil: an incubation experiment. *Biol Fert Soils.* (14).1992. 300-303p.
- BENGTSSON, G., TRANVIK, L. Critical metal concentrations for forest soil invertebrates. A review of the limitations. *Water, Air, and Soil Pollution* (47) 1989. 381-417p.

- BERTRAND, D.; WOLF, A. *Le nickel et le cobalt des nodosites des legumineuses*. Bulletin de la Societe de Chimie Biologique. v. 36, n. 6-7, 1954. 905-907p.
- BHATTACHARJEE, G.; CHAUDHURI, P. S. Cocoon production, morphology, hatching pattern and fecundity in seven tropical earthworm species – a laboratory-based investigation. *J. Academy of Sciences. Biosci. Indian*: v. 27, n. 3. 2002. 283-294p.
- BLANCHART, E. *Rôle des Vers de Terre dans la Formation et la Conservation de la Structure des Sols de la Savane de Lamto (Côte d'Ivoire)*. Thèse de Doctorat, Université de Rennes I. 1990. 263p.
- BOUCHÉ, M. B. Les modalités d'adaptation des lombriciennes à la sécheresse. *Bull Soc Bot Fr.* (131). 1984. 319-327p.
- BOUCHÉ, M. B. *Lombriciens de France: ecologie et systematique*. INRA, Paris, Francia. 1972. 671p.
- BOUCHÉ, M. B. Stratégies lombriciennes. *In: (eds.) LOHM, U., PERSSON, T. Soil Organisms as Components of Ecosystems*. Ecological Bulletin, v. 25. Stockholm, Sweden. 1977. 122-132p.
- BROSSARD, M.; LAVELLE, P.; LAURENT, J. Y. Disgestion of a vertisol by the endogeic earthworm (*Polypheretima elongate*, Megascolecidae) increases soil phosphate extractability. *European Journal of Soil Biology.* (32). 1996. 107-111p.
- BROWN, G. G.; DOMÍNGUEZ, J. Uso das minhocas como bioindicadoras ambientais: princípios e práticas. 3º Encontro Latino Americano de Ecologia e Taxonomia de Oligoquetas (ELAETAO3) *Acta Zoológica Mexicana*. Número Especial 2. 2010. 1-18p.
- BROWN, G. G., CALLAHAM JR. M. A., NIVA, C. C., FEIJOO, A., SAUTTER, K. D., JAMES, S. W., FRAGOSO, C., PASINI, A., SCHMELZ, R. M. Terrestrial oligochaete research in Latin America: The importance of the Latin American Meetings on Oligochaete Ecology and Taxonomy. *Applied Soil Ecology* (69). 2013. 2-12p.
- BROWN, G. G.; JAMES, S. W.; PASINI, A.; NUNES, D. H.; BENTO, N. P.; MARTINS, P. T.; SAUTTER, K. D. *Exotic, peregrine, and invasive earthworms in Brazil: Diversity, distribution, and effects on soils and plants*. Caribbean journal of science, v. 42. n. 3. 2006. 339-358p.

- BUCH, A. C., BROWN, G. G., CORREIA, M. E. F., LOURENÇATO, L. F., SILVA FILHO, E. V. *Ecotoxicology of mercury in tropical forest soils: Impact on earthworms*. Science of the Total Environment. 2017.
- BUCH, A. C., BROWN, G. G., NIVA, C. C., SAUTTER, K. D., LOURENÇATO, L. F. *Life cycle of Pontoscolex corethrurus (Müller, 1857) in tropical artificial soil*. Pedobiologia 54, S19-S25. 2011.
- BUSSCHER, W. J. *Adjustment of flat-tipped penetrometer resistance data to a common water content*. Trans. Am. Soc. Agron. Eng., v. 33. 1990. 519-524p.
- CARPENTER, D., HODSON, M.E., EGGLETON, P., KIRK, C. Earthworm induced mineral weathering: Preliminary results. *Eur J Soil Biol* (43). 2007. 176-183p.
- CARVALHO FILHO, A, de. *Solos e Ambientes do quadrilátero ferrífero (MG) e aptidão silvicultural dos tabuleiros costeiros*. Tese (Doutorado em Ciência do Solo), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008. 245p.
- CASTILHOS, D. D., GUADAGNIN, C. A., SILVA, M. D., LEITZKE; V. W., FERREIRA, L. H., NUNES, M. C. Acúmulo de cromo e seus efeitos na fixação biológica de nitrogênio e absorção de nutrientes em soja. *Rev. Bras. de Agrociência*, v.7, n. 2, 2001. 121-124p.
- CHAPUIS, I.; BROSSARD, M. Modifications et stabilité du phosphore échangeable d'un ferralsol ingere par un ver géophage. *Compte Rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, Series Ila (320). 1995. 587-592p.
- CHAPUIS, I.; BROSSARD, M.; LAVELLE, P.; SCHOULLER, E. Organic and inorganic phosphorus transformations in a ferralsol ingested by a geophagous earthworm. *In: VIII Symposia on Plant Soil Interactions at low pH*. Belo Horizonte, Brazil, 1996.
- CHENG, J., WONG, M.H. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils. *Biology and Fertility of Soils* (36). 2002. 72-78p.
- CHRISTOFFERSEN, M. L. Continental biodiversity of South American oligochaetes: the importance of inventories. *Acta Zool. Mex.* (n.s.) 26. 2010. 35-46p.
- CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução n. 460, de 30 de dezembro de 2013. *Altera a Resolução CONAMA n. 420, de 28 de dezembro de 2009, que dispõe sobre critérios e valores orientadores de*

qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e dá outras providências. Brasília,DF. 2013.

COPAM - CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL. Deliberação Normativa COPAM. n. 166, de 29 de junho de 2011. *Altera o Anexo I da Deliberação Normativa Conjunta COPAM CERH n. 2, de 6 de setembro de 2010, estabelecendo os Valores de Referência de Qualidade dos Solos.* Belo Horizonte/MG. 2011.

CORTET, J., VAUFLERY, A. G. D., BALAGUER, N. P., GOMOT, L., TEXIER, CH., CLUZEAU, D. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35, 1999.115-134p.

COSTA, A. C. *Geoquímica das águas e dos sedimentos da bacia do rio Gualaxo do Norte, leste-sudeste do Quadrilátero Ferrífero (MG): estudo de uma área afetada por atividades de extração mineral.* Dissertação (Mestrado em Evolução Crustal e Recursos Naturais) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto - UFOP. 2001. 146p.

DARWIN, C. *The formation of vegetable mould through the action of worms, with observations of their habits.* Murray, Londres. 1881.

DAVILA, R. B. *Metais pesados no rejeito e em solos de planícies aluviais afetadas pelo rompimento da barragem de Fundão, Mariana (MG).* Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa – UFV, 2018.

DE VLEESCHAUWER, D.; LAI, L. R. Properties of worm casts under secondary tropical forest regrowth. *Soil Science* (132). 1981. 175-181p.

DENNEMAN, C. A. J., VAN STRAALLEN, N. M. The toxicity of lead and copper in reproduction tests using the oribatid mite *Platynothrus peltifer*. *Pedobiologia* (35) 1991. 305-311p.

DONG, D.; NELSON, Y. M.; LION, L. W.; SHULER, M. L. & GHIORSE, W. C. Adsorption of Pb and Cd onto metal oxides and organic material in natural surface coatings as determined by selective extractions: New evidence for the importance of Mn and Fe oxides. *Water Res.* (34). 2000. 427-436p.

DOUBE, B. M.; SCHMIDT, O. Can the abundance or activity of soil macrofauna be used to indicate the biological health of soils? *In:* (eds.) PANKHURST, C. E.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. *Biological indicators of soil health.* CABI Publishing: New York. 1997. 265–295p.

- DUARTE, A P.; MELO V. M.; BROWN, G. G.; PAULETTI, V. Earthworm (*Pontoscolex corethrurus*) survival and impacts on properties of soils from a lead mining site in Southern Brazil. *Biol Fertil Soils*. doi10.1007/s00374-014-0906-y. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2014.
- DUPONT, L.; DECAËNS, T.; LAPIED, E.; CHASSANY, V.; MARICHAL, R.; DUBS, F.; MAILLOT, M.; ROY, V. Genetic signature of accidental transfer of the peregrine earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Clitellata, Glossoscolecidae) in French Guiana. *European Journal of Soil Biology* (53) 2012. 70-75p.
- EDWARDS, C. A.; BOHLEN, P J. The influence of environmental factors on earthworms. *In: Biology and ecology of earthworms*. ed 3. London: Chapman & Hall, 1996. 134-154p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Manual de métodos de análise de solo*. 3.ed. rev. e ampl. Brasília, DF. 2017. 573p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.
- EVANS, A. C.; GUILD, W. J. Studies on the relationships between earthworms and soil fertility: On the life cycles of some British Lumbricidae. *Ann Appl Biol*. (35). 1948. 473-493p.
- FELIPPE, M. F., COSTA, A., JÚNIOR, R. F., MATOS, R. E. da S., MAGALHÃES JÚNIOR, A. P. Acabou-se o que era Doce: notas geográficas sobre a construção de um desastre ambiental (Cap. 3) 2015. *In: MILANEZ, B., & LOSEKANN, C (orgs.) Desastre no Vale do Rio Doce: antecedentes, impactos e ações sobre a destruição* – Rio de Janeiro: Folio Digital: Letra e Imagem, 2015. 125-162p.
- FERRAZ, J. A. N.; GUERRA, R. T. Estudo preliminar da influência da Umidade do solo sobre a reprodução de *Pontoscolex corethrurus*. *Acta amazônica*. v. 13, n. 2. 1983. 289-297p.
- FERREIRA, S. R. B. Marcas da colonialidade do poder no conflito entre a mineradora Samarco, os povos originários e comunidades tradicionais do Rio Doce. (Cap. 7). 2016. *In: MILANEZ, B., & LOSEKANN, C (orgs.) Desastre no Vale do Rio Doce: antecedentes, impactos e ações sobre a destruição* – Rio de Janeiro: Folio Digital: Letra e Imagem, 2016. 267-310p.

- FRAGOSO, C. *Ecologia general de las lombrices terrestres (Oligochaeta: Annelida) de la region boca del Chajul, Selva Lacandona*. Tese (Doutorado em Licenciatura) Faculdade de Ciências. Universidade Nacional Autônoma do México, Chiapas, México. 1985. 133p.
- FRAGOSO, C.; LAVELLE, P. Earthworm communities of tropical rainforests. *Soil Biology and Biochemistry*. (24) 1992. 1397-1408p.
- FRAGOSO, C.; LAVELLE, P.; BLANCHART, E.; SENAPATI, B. K.; JIMENEZ, J.; MARTINEZ, M.; DECEANS, T.; TONDOH, J. Earthworms communities of tropical agroecosystems: origin, structure and influence of management practices. In: LAVELLE, P.; BRUSSAARD, L.; HENDRIX, P. (eds) *Earthworms management in tropical agroecosystems*. CABI International, Wallingford, UK. 1999. 27-56p.
- FRÜND, H. C.; GRAEFE, U.; TISCHER, S. *Earthworms as bioindicators of soil quality*. Chapter 16. Ed. KARACA, A. *Biology of Earthworms*, Soil Biology 24, DOI 10.1007/978-3-642-14636-7_16. 2011. 261-278p.
- GARCIA, M. *Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions*. Ecology and Development Series; Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät, Universidade de Bonn., 2004. 281p.
- GARDNER, W. R. Representation of soil aggregate-size distribution by a logarithmic-normal distribution 1, 2. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 20, n. 2, 1956. 151-153p.
- GONÇALVES, A. D. M. A.; LIBARDI, P. L. Análise da determinação da condutividade hidráulica do solo pelo método do perfil instantâneo. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v. 37, n. 5, 2013. ISSN 1806-9657
- GROHMANN, F.; VAN RAIJ, B. Dispersão mecânica e pré-tratamento para análise granulométrica de Latossolos argilosos. *R. Bras. Ci. Solo*, (1) 1977. 52-53p.
- GUERRA, M. B. B.; TEANEY, B. T.; MOUNT, B. J.; ASUNSKIS, D. J.; JORDAN, B. T.; BARKER, R. J.; SANTOS, E. E.; SCHAEFER, C. E. G. R. Post-catastrophe analysis of the Fundão tailings dam failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils. *Water Air Soil Pollut.* 228-252p. doi.org/10.1007/s11270-017-3430-5, 2017.
- HENSEN, V. Die Tätigkeit des Regenwurms (*Lumbricus terrestris* L.) für die Fruchtbarkeit des Erdbodens. *Z Wiss Zool.* (28). 1877. 354-364p.

- HERNÁNDEZ-CASTELLANOS, B.; BAROIS, I.; BROWN, G. G., GARCÍA-PÉREZ, J. A. *Modificaciones químicas inducidas por dos espécies de lombrices geófagas em suelos de Veracruz, México*. Acta Zoologica Mexicana (nueva serie), n. esp. 2. 2010.
- IBAMA - Instituto Brasileiro Do Meio Ambiente E Dos Recursos Naturais Renováveis. *Laudo Técnico Preliminar: Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais*. 2015.
- ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality-Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida fetida*, *E. fetida andrei*). *Part 2: Determination of effects on reproduction*. ISO 11268-2. Draft. Geneva, Switzerland. 2012.
- JAMES, S. W. Soil nitrogen, phosphorus, and organic matter processing by earthworms in tallgrass prairie. *Ecology*. (72). 1991. 2101-2109p.
- JAMES, S. W.; BARTZ, M. L., BROWN, G. G. *Curso de Ecologia e Taxonomia de Minhocas* (ELAETAO). Embrapa Florestas Universidade Positivo. Curitiba-PR. mar. 2014.
- JIMÉNEZ, J. J.; BROWN, G. G.; DECAËNS, T.; FEIJOO, A.; LAVELLE, P. Diferencias en la Programación de la Diapausa y en los Patrones de Estivación de Algunas Especies de Lombriz de Tierra del Trópico. *In: JIMÉNEZ, J. J.; Thomas, R. J. (eds.) El arado natural: Las comunidades de macroinvertebrados del suelo en las sabanas neotropicales de Colombia*. Cali, CO: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Publicación n. 336. 2003. 444 p.
- KIZILKAYA, R. Cu and Zn accumulation in earthworm *Lumbricus terrestris* L. in sewage sludge amended soil and fractions of Cu and Zn in casts and surrounding soil. *Ecological Engineering*, 22, 2004. 141-151p.
- KLEIN, V. A. *Física do solo*. 3 ed. Passo Fundo. Ed. Universidade de Passo Fundo. 2014. 263p.
- KLUTE, A.; DIRKSEN, C. Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods. *In: KLUTE, A., (ed.) Methods of soil analysis*. Part 1. 2. ed. Madison, American Society of Agronomy, 1986. 687-732p.
- KNÄPER, C. F.; PINTO PORTO, R. Ocorrência de Oligoquetos nos solos do Rio Grande do Sul. *Acta Biol Leop* (1) 1979. 137-166p.

- KORASAKI, V., MORAIS, J. W, BRAGA, R. F. Macrofauna. *In*: MOREIRA, F. M. S., CARES, E. C., ZENETTI, R., STÜRMER, S. L. *O ecossistema solo: Componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal*. Lavras: Ed. UFLA. 2013. 119-139p.
- KOSSOFF, D.; DUBBIN, W. E.; ALFREDSSON, M.; EDWARDS, S. J.; MACKLIN, M. G.; HUDSON-EDWARDS, K. A. Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts, and remediation. *Appl Geochemistry*. Elsevier Ltd. (51). 2014. 229-245p.
- LANNO, R.; WELLS, J.; CONDER, J.; BRADHAM, K., BASTA, N. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57: 2004. 39-47p.
- LAVELLE, P.; SPAIN, A. V. *Soil ecology*. Dordrecht: Kluwer Academic Pub., 2001. 654p.
- LAVELLE, P. Earthworm activities and the soil system. *Biology and Fertility of Soils*. v. 6. 1988. 237-251p.
- LAVELLE, P. Stratégies de reproduction chez les vers de terre. *Acta OEcolog. Gener.* v. 2, n 2. 1981. 117-133p.
- LAVELLE, P., BAROIS, I., CRUZ, I., FRAGOSO, C., HERNANDEZ, A., PINEDA, A.; RANGEL, P. Adaptative strategies of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta), a peregrine geophagous earthworm of the humid tropics. *Biology of Fertility of Soils* (5) 1987. 188-194p.
- LEE, K. E. Earthworms: Their ecology and relations with soil and land use. *Academic Press*. London. 1985. 411p.
- LEE, K. E. Role of earthworms in New Zealand soil. *Tuatara*. (4). 1951.22-27p.
- LEE, K. E. The biodiversity of soil organisms. *Applied Soil Ecology*, v.1. 1994. 251-254p.
- LIMA, J. M.; CURI, N.; RESENDE, M.; SANTANA, D.P. Dispersão do material de solo em água para avaliação indireta da erodibilidade de Latossolos. *R. Bras. Ci. Solo*, (14). 1990. 85-90p.
- LIU, D.; LIAN, B.; WANG, B.; JIANG, G. *Degradation of potassium rock by earthworms and responses of bacterial communities in its gut and surrounding substrates after being fed with mineral*. PLoS ONE 6 (12). 2011. doi:10.1371/journal.pone.0028803.

- LIU, H.; PROBST, A.; LIAO, B. Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzhou lead/zinc mine spill (Hunan, China). *Sci Total Environ.* (339). 2005. 153-166p.
- LIU, Y.; ZHOU, Q.; XIE, X.; LIN, D.; DONG, L. *Ecotoxicology.* 19:1551. 2010. doi.org/10.1007/s10646-010-0540-x.
- LOPEZ-HERNÁNDEZ, D.; LAVELLE, P.; FARDEAU, J. C.; NIÑO, M. Phosphorus transformations in two P-sorption contrasting tropical soils during transit through *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *Soil biology and Biochemistry.* (25). 1993. 789-792p.
- MA, W. C.; EDELMAN, T. H.; VAN BEERSUM, I.; JANS, T. H. Uptake of cadmium, zinc, lead and copper by earthworms near a zinc smelting complex: Influence of soil pH and organic matter. *Bull. Environ. Contain. Toxicol.*, 30, 1983. 424-7p.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, 12 (3). 2008. 355-381p.
- MARGALEF, R. *Ecologia.* Barcelona: Ediciones Omega. 1974. 951p.
- MASSAS, I.; KALIVAS, D.; EHALIOTIS, C.; GASPARATOS, D. Total and available heavy metal concentrations in soils of the Thriassio plain (Greece) and assessment of soil pollution indexes. *Environ Monit Assess.* (185). 2013. 6751-6766p.
- MEIS, M. R. M.; MACHADO, M. B. A morfologia de rampas e terraços no Planalto do Sudeste do Brasil (médio vale do rio Doce). *Finisterra*, 13 (26). 1978. 199-219p.
- MELLO, J. W. V.; PÉREZ, D. V. Equilíbrio químico das reações no solo. *Química e Mineral. do Solo.* 2009. 151-249p.
- MENDES, I. A. S. *Adsorção individual de Cd, Cr, Cu e Pb em solos da bacia sedimentar amazônica.* Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa – UFV, 2016.
- MENZIE, C. A.; BURMASTER, D. E.; FRESHMAN, J. S.; CALLAHAN, C. A. Assessment of methods for estimating ecological risk in the terrestrial component: a case study at the Baird and McGuire superfund site in Holbrook. Massachusetts. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 11. 1992. 245-260p.

- MERTZ, W. E. Chromium occurrence and function in biological systems. *Physiology Reviews*, Baltimore, v.49, 1969. 163- 239p.
- MMA - MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. *Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros*. Brasília: MMA/SBF, 2002. 404p.
- MOBERG, G. P. Problems in defining stress and distress in animals. *J Am Vet Med Assoc* (191) 1987. 1207-1211p.
- MOREIRA, J. F.; CAMPELLO, E. F. C.; AZEVEDO, B. C.; CORREIA, M. E. F.; BIANCHI, M. O.; RESENDE, A. S.; JANTALIA, C. P. *Uso do rejeito da produção de alumina como condicionador de solos*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Documentos, 291. 2012. 40p.
- MORGAN, A. J; WINTERS, C. Diapause in the earthworm *Aporrectodea longa*: morphological and quantitative X- ray microanalysis of cryosectioned chloragogenous tissue. *Scanning Microsc.* (5). 1991. 219-228p.
- MORGAN, J. E.; MORGAN, A. J. The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (*Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa*): Implications for ecotoxicological testing. *Appl. Soil Ecol.*, 13: 1999. 9-20p.
- MORGAN, J. E.; MORGAN, A. J. The distribution and intracellular compartmentation of metals in the endogeic earthworm *Aporrectodea caliginosa* sampled from an unpolluted and metal-contaminated site. *Env. Pollut.*, 99: 1998. 167-175p.
- MPF - MINISTÉRIO PÚBLICO FEDERAL. *Procuradoria da república nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo – Força Tarefa rio Doce*. IPL n.º 1843/2015 SRPF/MG; Autos n.º 38.65.2016.4.01.3822 (Busca e apreensão); Autos n.º 3078-89.2015.4.01.3822 (Medida Cautelar); IPL Polícia Civil - MG 1271-34-2016.4.01.3822; IPL Polícia Civil - MG 1250-24.2016.4.01.3822; Procedimento Investigatório Criminal (PIC) - MPF n.º 1.22.000.003490/2015-78; Procedimento Investigatório Criminal (PIC) MPF n.º 1.22.000.000003/2016-04. 2016.
- MÜLLER, F. Description of new species of earthworm (*Lumbricus corethrurus*). *The Annals and Magazine of Natural History*. (20). doi: 10.1080/00222935709485865. 1857. 13-15p.

- MULONGOY, K.; BEDORET, A. *Properties of worm cast and surface soil under various plant covers in the humid tropics*. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 1989. 197-203p.
- MUYS, B., GRANVAL, P. Earthworms as bio-indicators of forest site quality. *Soil Biology and Biochemistry* 29 (3-4), 1997. 323–328p.
- NAIR, K. V.; MANAZHY, J.; MANAZHY, A.; REYNOLDS, J. W. Biology of cocoons of five species of earthworms (Annelida: Oligochaeta) from Kerala, India. *Megadrilogica*, v.13, 2009. 1-8p.
- NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F. Correlação entre características de Latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. V. 28. 2004. 965-971p.
- NORDBERG, G. F., FOWLER, B. A., NORDBERG, M., FRIBERG, L. *Handbook on the toxicology of metals*. ed. 4. v. 1. Elsevier. 2015.
- OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guideline for testing of chemicals. n. 317. *Bioaccumulation in terrestrial oligochaetes*, OECD, Paris. 2010.
- PACHECO, A. A. *Avaliação da contaminação em solos e sedimentos da bacia hidrográfica do rio doce por metais pesados e sua relação com o fundo geoquímico natural*. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa – UFV, 2015.
- PATUCCI, N. N. *Estudo da pedofauna como bioindicadora da qualidade de solos em fragmentos florestais urbanos*. (Dissertação) (Mestrado em Filosofia, Letras e Ciências Humanas) – Universidade Estadual de São Paulo. 2015. 134p.
- PESARO, M.; WIDMER, F.; NICOLLIER., G., ZEYER, J. Effects of freeze–thaw stress during soil storage on microbial communities and methidathion degradation. *Soil Biology & Biochemistry*. v. 35. 2003. 1049-1061p.
- PETTER, R. L. *Desenvolvimento radicular da soja em função da compactação do solo, conteúdo de água e fertilidade em Latossolo*. (Dissertação) – Mestrado em Solos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Catarina. 1990. 144p.
- PIERANGELI, M. A. P.; GUILHERME, L. R. G.; CURI, N.: T. S.; LIMA, J. M.; MARQUES, J. J. G. S. M.; FIGUEIREDO, L. F. P. Comportamento sortivo, individual e competitivo, de metais pesados em Latossolos com mineralogia contrastante. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* v.31 n. 4. Viçosa, MG. 2007.

- PINTO-COELHO, R. M. Existe governança das águas no Brasil? Estudo de caso: O rompimento da Barragem de Fundão, Mariana (MG) 2015. In: PROUS, A. *Arquivos do Museu de História Natural e Jardim BOTÂNICO*. UFMG. Belo Horizonte. v. 24, n.1, 2015. 16-43p.
- PIRES, J. M. M.; LENA, J. C.; MACHADO, C. C.; PEREIRA, R. S. Potencial poluidor de resíduo sólido da Samarco Mineração: Estudo de caso da barragem de Germano. *Rev Árvore*. v. 27. 2003. 393-397p.
- PIRH-DOCE. *Plano Integrado de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Doce e Planos de Ações para as Unidades de Planejamento e Gestão de Recursos Hídricos no Âmbito da bacia do Rio Doce*. 2010.
- POEMAS - POLÍTICA, ECONOMIA, MINERAÇÃO, AMBIENTE E SOCIEDADE. Relatório final. *Antes fosse mais leve a carga: avaliação dos aspectos econômicos, políticos e sociais do desastre da Samarco/Vale/BHP em Mariana (MG)*. UFJF: Mimeo. 2015. Disponível em: <www.ufjf.br/poemas/files/2014/07/PoEMAS-2015-Antes-fosse-mais-leve-a-carga-vers%C3%A3o-final.pdf> Acesso em 10 de jan. de 2017.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R. *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. 2011. Disponível em: <www.R-project.org> Acesso em dez de 2017.
- RADA - *Relatório de Avaliação do Desempenho Ambiental. Barragem Fundão*. Mariana-MG: Samarco Mineração. v. único: abril, 2013. 372p.
- REYNOLDS, J. W.; WETZEL, M. J. Terrestrial Oligochaeta (Annelida: Clitellata) in North America, including Mexico, Puerto Rico, Hawaii and Bermuda. *Megadrilogica*. v. 12 n. 12. 2008. 167-208p.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVARES, V. H. (eds.). *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação*. Viçosa, MG: UFV. 1999. 289-302p.
- RIGHI, G. *Pontoscolex* (Oligochaeta, Glossoscolecidae), a new evaluation. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. v.19. 1984. 159-177p.
- ROVERS, H.; CAMARGO, O. A.; VALADARES, J. M. A. S. Níquel total e solúvel em DTPA em solos no Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 7, n. 3, 1983. 217-220p.

- RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. *Zoologia dos Invertebrados*. 7ª ed. Editora Roca, São Paulo. 2005. 1145p.
- SAADI, A.; CAMPOS, J. C. F. Geomorfologia do caminho da lama: contexto e consequências da ruptura da Barragem do Fundão (novembro 2015, Mariana–MG). 2015. *In: PROUS, A. Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico – UFMG*. Belo Horizonte. v. 24, n.1, 2015. 63-103p.
- SAADI, A.; OLIVEIRA, M.; SHUMACHER, M. V.; ACCIOLY, J. O. *Desertificação*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (Boletim Informativo), v. 25. n. 1, 2000.
- SANZ-MONTERO, M. E.; RODRIGUEZ-ARANDA, J. P. *Silicate bioweathering and biomineralization in lacustrine microbialites: ancient analogues from the Miocene Duero Basin*. Spain. *Geological Magazine* (146). 2009. 527-539p.
- SATCHELL, J. E. Lumbricidae. *In: BURGESS, A.; RAW, F. (eds). Soil Biology*. Londres, Academic press, 1967. 259-322p.
- SAUSSEY, M. Contribution à l'étude des phénomènes de diapause et de régénération caudale chez *A. icterica* Sav. *Mém Soc Lin Norm.* (1). 1966. 1-158p.
- SCHAEFER, C. E. G. R.; SANTOS, E. E.; FERNANDES FILHO, E. I.; ASSIS, I. R. Paisagens de Lama: Os Tecossolos para recuperação ambiental de áreas afetadas pelo desastre da barragem do Fundão, em Mariana. *In: A ciência do solo e o desastre de Mariana*. Artigo de opinião. Boletim informativo Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS). v.42, n. 1 - Campinas. 2016. 18-23p.
- SCHAEFER, C. E. G. R.; SANTOS, E. E.; SOUZA, C. M.; DAMATO NETO, J., FERNANDES FILHO, E. I.; DELPUPO, C. Cenário histórico, quadro fisiográfico e estratégias para recuperação ambiental de Tecossolos nas áreas afetadas pelo rompimento da barragem do Fundão, Mariana, MG. 2015. *In: PROUS, A. Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico – UFMG*. Belo Horizonte. v. 24, n.1, 2015. 104-135p.
- SHARPLEY, A. N.; SYERS, J. K. Potential role of earthworms casts for the phosphorus enrichment of runoff waters. *Soil Biology and Biochemistry*. n. 8. 1976. 341-346p.
- SILVA, D. C.; BELLATO, C. R.; MARQUES NETO, J. O.; FONTES, M. P. F. Trace elements in river waters and sediments before and after a mining dam breach (Bento Rodrigues, Brazil). *Quim. Nova*, v. XY, n. 00, 2018. 1-10p.

- SILVA, D. L.; FERREIRA, M. C.; SCOTTI, M. R. O maior desastre ambiental brasileiro: de Mariana (MG) a Regência (ES). *In: PROUS, A. Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico – UFMG. Belo Horizonte. v. 24, n.1, 2015. 136-158p.*
- SOARES, T. L. *Principais distritos e municípios afetados pelo rompimento das barragens em Bento Rodrigues – Mariana – MG – Brasil. Fonte Demográfica: IBGE: Censo Demográfico, 2010. Tratamento da Informação Espacial, PUC/MG. 2016.*
- SPURGEON, D. J.; SANDIFER, R. D.; HOPKIN, S. P. The use of macroinvertebrates for population and community monitoring of metal contamination - indicator taxa, effect parameters and the need for a soil invertebrate prediction and classification Scheme (SIVPACS). *In: (eds.) VAN STRAALLEN, N. M., KRIVOLUTSKY, D. A. Bioindicator Systems for Soil Pollution. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, 1996. 95-110p.*
- SRINIVASARAO, C. H.; SUBBARAO, A.; TAKKAR, P. N. Potassium availability and release behaviour in earthworm cast and non-ingested soils. *Journal of the Indian Society of Soil Sciences. 45. 1997. 310-314p.*
- STEVENSON, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2. ed. John Willey, New York, USA. 1994. 496p.*
- SUZUKI Y.; MATSUBARA T.; HOSHINO M. Breakdown of mineral grains by earthworms and beetle larvae. *Geoderma (112). 2003. 131-142p.*
- SWIFT, M. J.; HEAL, O. W.; ANDERSON, J. M. *Decomposition in terrestrial ecosystems. Oxford: Blackwell, 1979. 372p.*
- TIAN, G.; OLIMAH, J. A.; ADEOYE, G. O.; KANG, B. T. Regeneration of earthworm populations in a degraded soil by natural, planted fallows under humid tropical conditions. *Soil Sci Soc Am J. (64). 2000. 222-228p.*
- TIUNOV, A. V.; SCHEU, S. Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae): a laboratory experiment. *Appl. Soil Ecol. (14). 2000. 17-26p.*
- TURCO, R. F.; BLUME, E. Indicators of soil quality. *In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (eds.) Inter-relação fertilidade,*

- biologia do solo e nutrição de plantas*. Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. 529-550p.
- UREN, N. C. Forms, reactions, and availability of nickel in soils. *Advances in Agronomy*, v. 48, 1992. 141-203 p.
- USEPA. *Method 3051*: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. 2007.
- USMANI, Z.; KUMAR, V.; MRITUNJAY, S. K. *Vermicomposting of coal fly ash using epigeic and epi-endogeic earthworm species: nutrient dynamics and metal remediation*. RSC Adv. (7) 2017. 4876-4890p.
- VAN BAVEL, C. H. M. Mean weight diameter of soil aggregates as a statistical index of aggregation. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, Madison, (14) 1949. 20-23p.
- VANDECASTEELE, B.; SAMYN, J.; QUATAERT, P.; MUYS, B.; TACK, F. M. G. Earthworm biomass as additional information for risk assessment of heavy metal biomagnification: a case study for dredged sediment-derived soils and polluted floodplain soils. *Environmental Pollution* (129) 2004. 363-375p.
- VEZZANI, F. M.; MIELNICZUK, J. *Uma visão sobre qualidade do solo*. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v.33, n.4. 2009. 743-755p.
- VISWANATHAN, R. Earthworms and assessment of ecological impact of soil xenobiotics. *Chemosphere*. v. 28. 1994. 413-420p.
- WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science, Baltimore*, v. 37. 1934. 29-38p.
- WEIGAND, H.; TOTSCHE, K. U. Flow and reactivity effects on dissolved organic matter transport in soil columns. *Soil Science Society of America Journal*. 62 (5). 1998. 1268-1274p.
- WOLTERS, V. Invertebrate control of soil matter stability. *Biology and Fertility of Soils*. v. 31. 2000. 1-19p.
- WONG, M. H.; MA, Y. Land Reclamation using earthworms in metal contaminated soils. In: (eds.) NAIDU, R. *Chemical bioavailability in terrestrial environment*. 2008. 719-734p.
- YEATES, G.W.; ORCHARD, V.A.; SPEIR, T. W.; HUNT, J. L.; HERMANS, M. C. C. Impact of pasture contamination by copper, chromium, arsenic timber preservative on soil biological activity. *Biology and Fertility of Soils* (18). 1994. 200-208p.

- YEOMANS, J.C., BREMNER, J.M. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. v. 19, n. 13. 1988. 467-476p.
- ZHAO, K.; LIU, X.; XU, J.; SELIM, H. M. Heavy metal contaminations in a soil-rice system: identification of spatial dependence in relation to soil properties of paddy fields. *J. Hazard. Mater* (181). 2010. 778-787p.
- ZHAO, K.; ZHANG, W.; ZHOU, L.; LIU, X.; XU, J.; HUANG, P. Modeling transfer of heavy metals in soil e rice system and their risk assessment in paddy fields. *Environ. Earth. Sci.* 59 (3). 2009. 519-527p.
- ZOU, X. Species effects on earthworm density in tropical tree plantations in Hawai. *Biol. Fertil. Soils*. (15). 1993. 627-629p.

APÊNDICES

APÊNDICE A – VALORES DE REFERÊNCIA QUÍMICA PARA SOLOS

Valores de Referência de Qualidade (VRQ's), para solos de Minas Gerais (COPAM 166/2011) e para solos do Brasil (CONAMA 460/2013) dos elementos pesquisados.

Tabela 10. VRQ's para solos (COPAM 166/2011; CONAMA 460/2013). Adaptado pela autora.

Substâncias	Referência de Qualidade	Prevenção	Investigação		
			Agrícola	Residencial	Industrial
Alumínio (Al)	-	-	-	-	-
Arsênio (As)	8	15	35	55	150
Bário (Ba)	93	150	300	500	750
Cádmio (Cd)	<0,4	1,3	3	8	20
Chumbo (Pb)	19,5	72	180	300	900
Cobalto (Co)	6	25	35	65	90
Cobre (Cu)	49	60	200	400	600
Cromo (Cr)	75	75	150	300	400
Ferro (Fe)	-	-	-	-	-
Manganês (Mn)	-	-	-	-	-
Mercúrio (Hg)	0,05	0,5	12	36	70
Níquel (Ni)	21,5	30	70	100	130
Vanádio (V)	129	-	-	-	-
Zinco (Zn)	46,5	300	450	1000	2000

APÊNDICE B – VALORES DE TEMPERATURA E UMIDADE REGISTRADAS

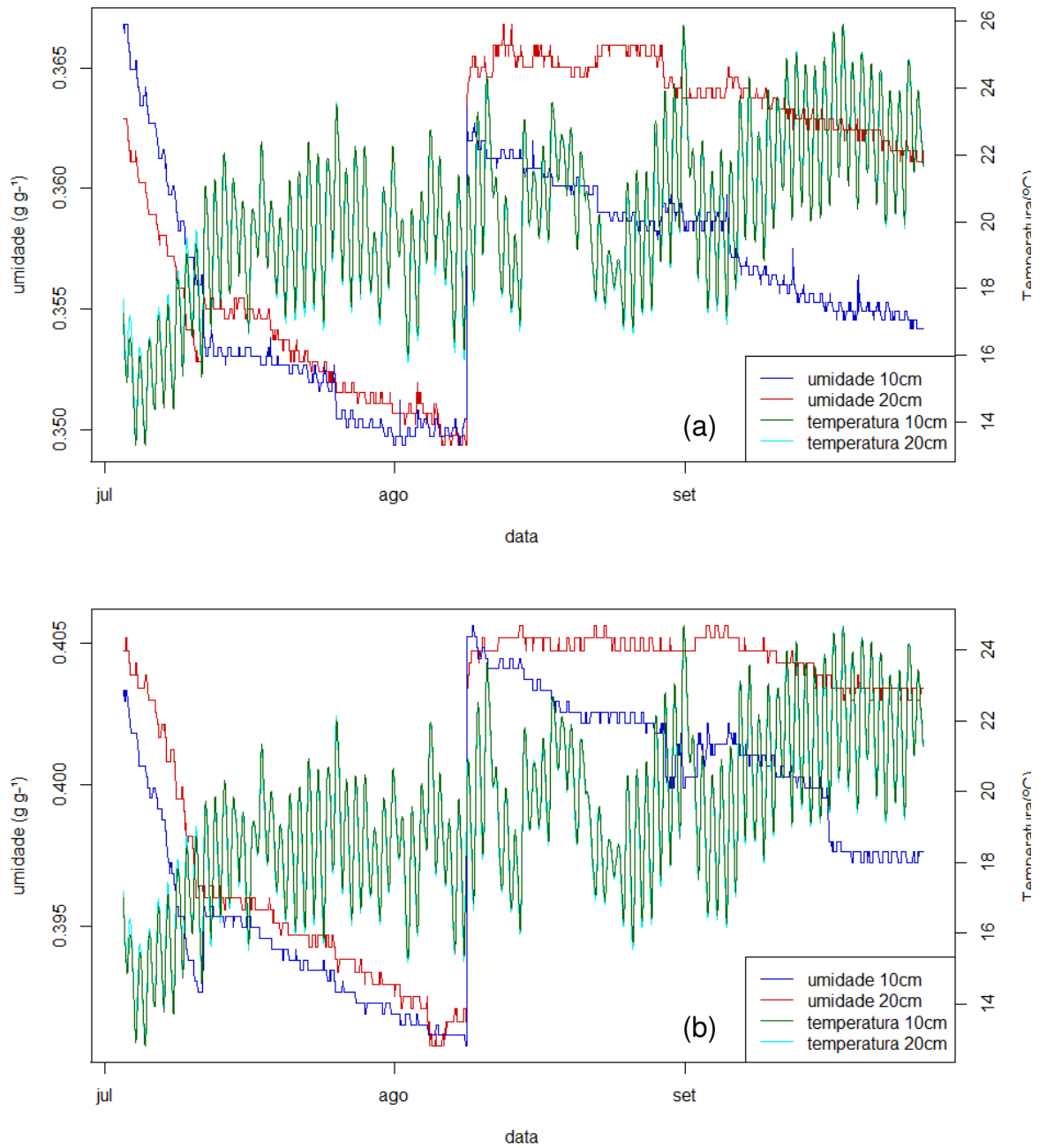


Figura 25. Monitoramento das temperaturas e umidade no período experimental nos tratamentos: a) 0% de rejeito e b) 25% de rejeito.

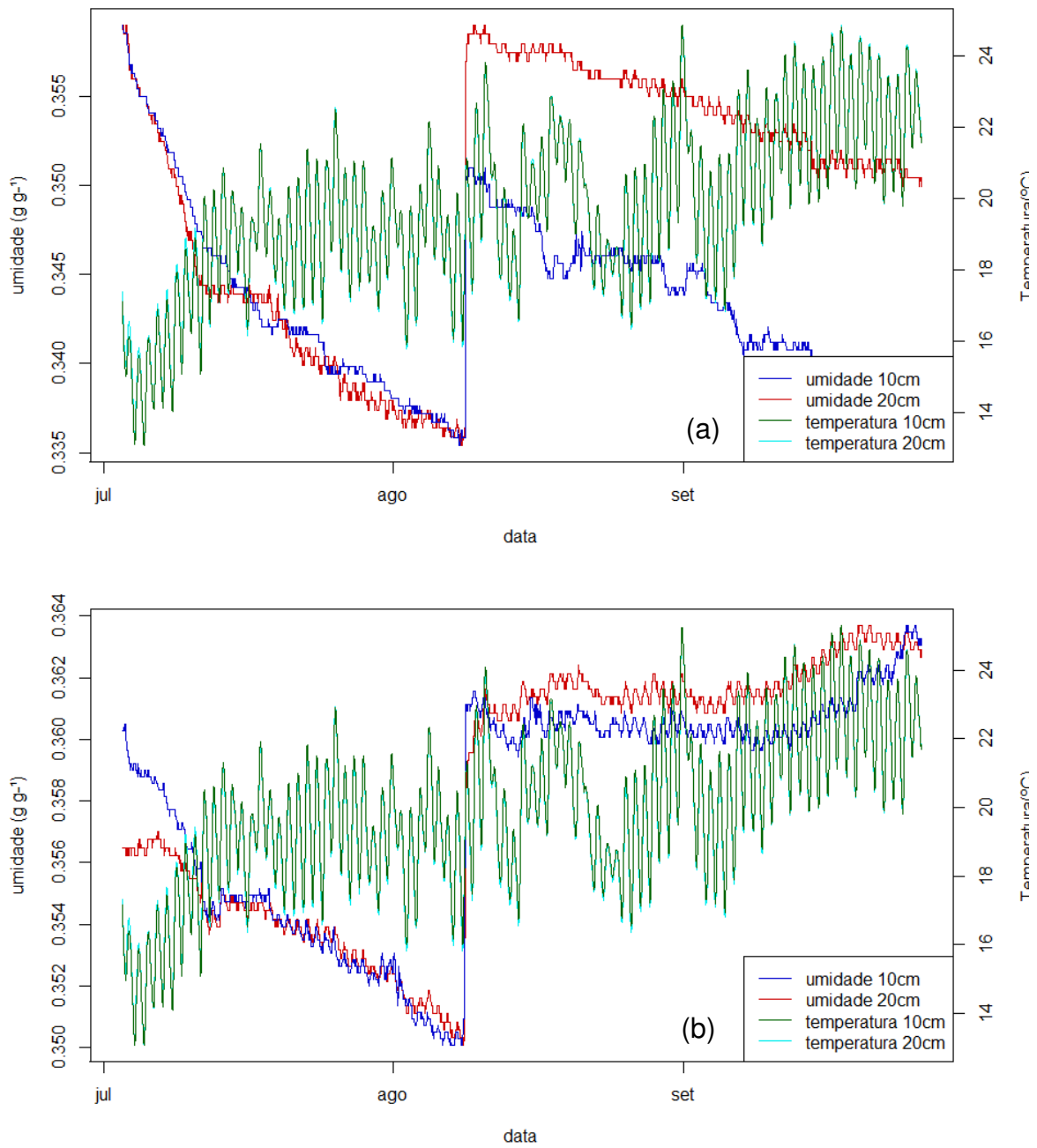


Figura 26. Monitoramento das temperaturas e umidade no período experimental nos tratamentos: a) 50% de rejeito e b) 75% de rejeito.

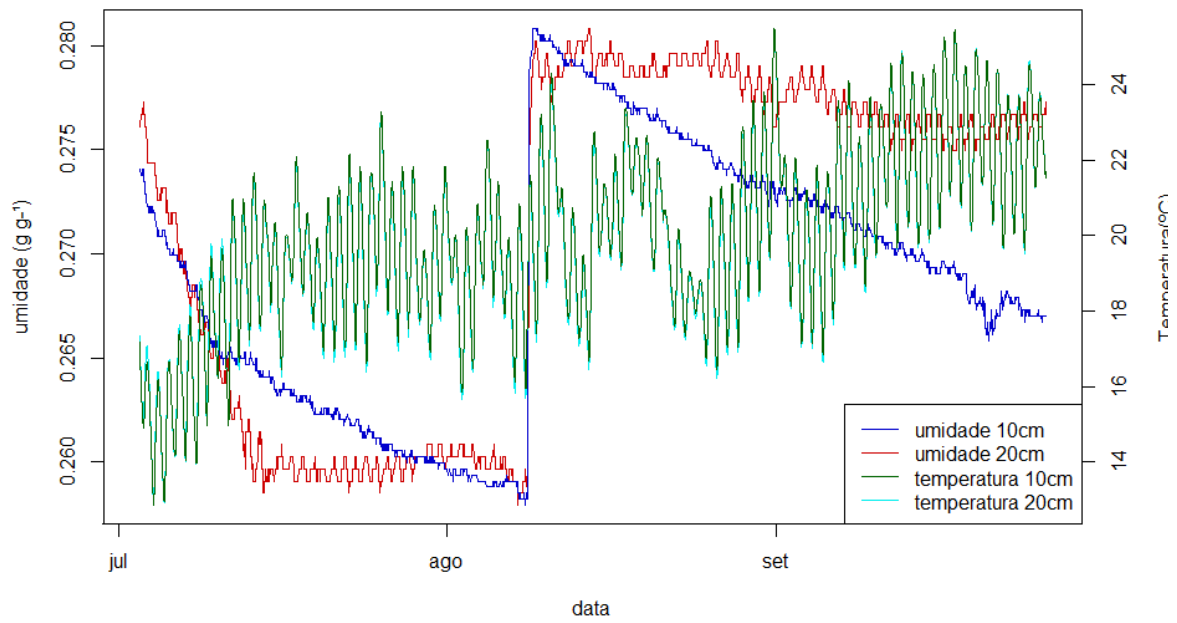


Figura 27. Monitoramento das temperaturas e umidade no período experimental no tratamento 100% de rejeito.

**APÊNDICE C – FOTOS COMPARATIVAS ENTRE OS TRATAMENTOS
(INICIAIS E FINAIS)**

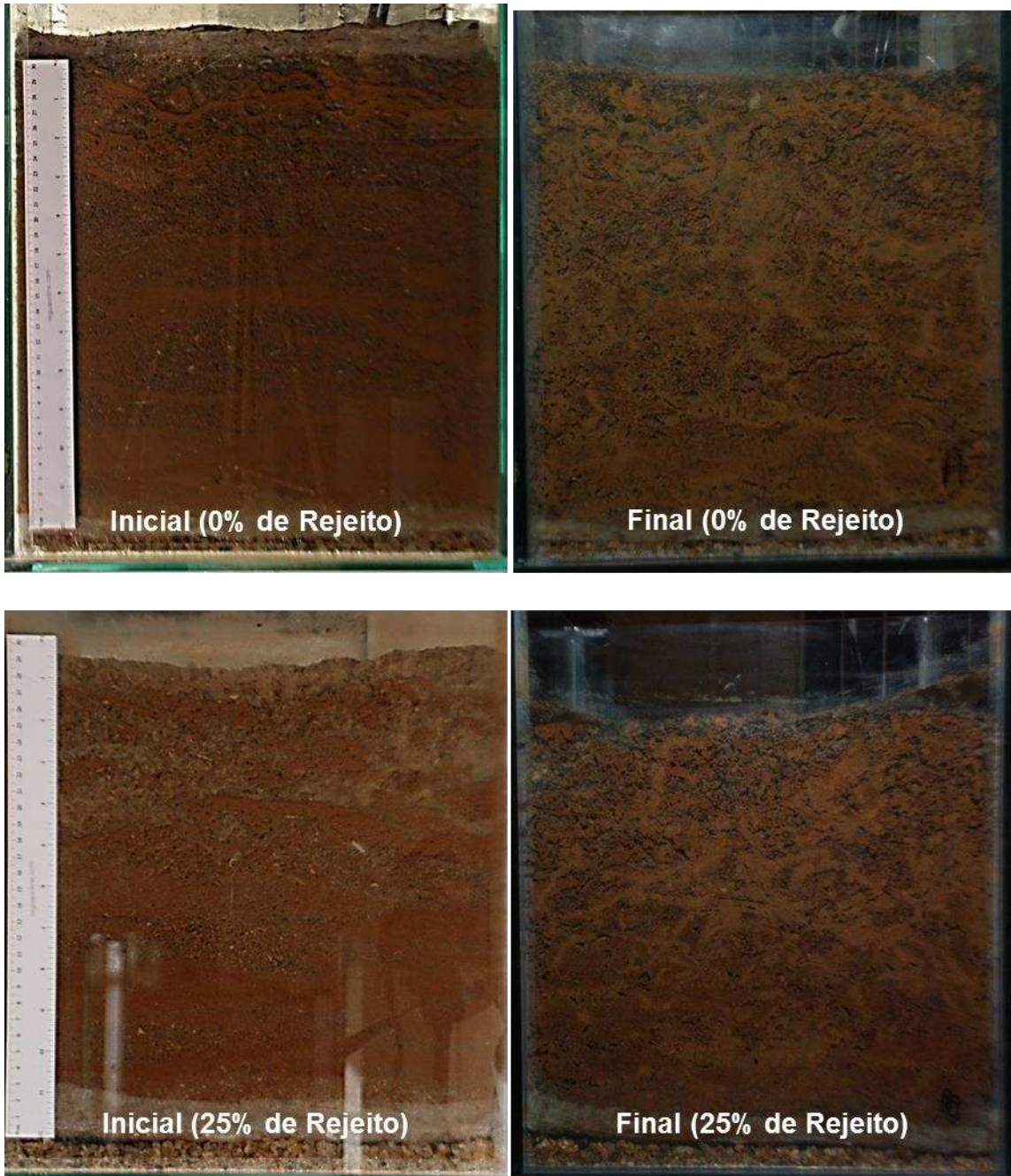


Figura 28. Fotos dos aquários antes e depois da atividade das minhocas (Tratamentos em 0% e 25%). Fonte: A autora.

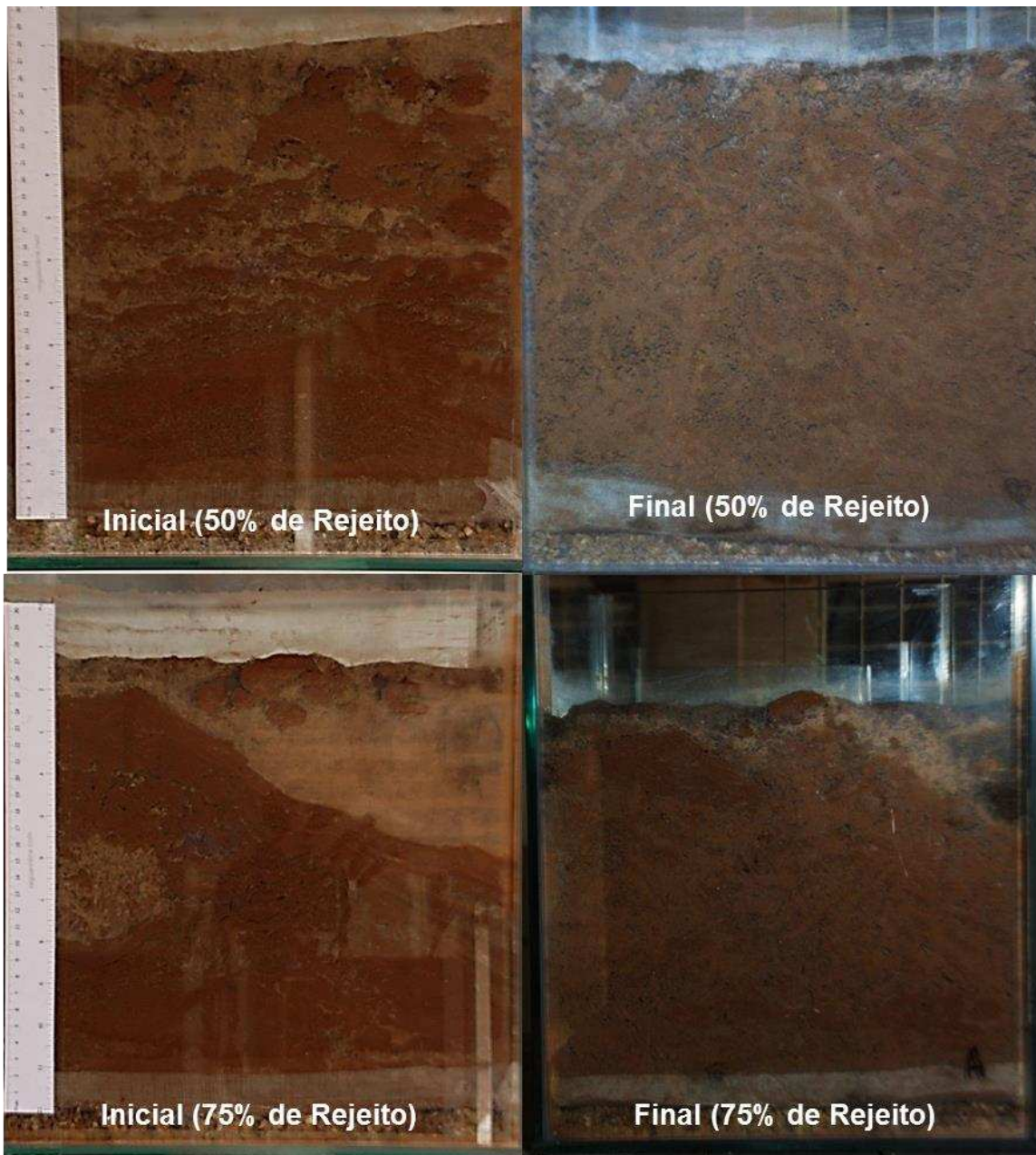


Figura 29. Fotos dos aquários antes e depois da atividade das minhocas (Tratamentos em 50% e 75%). Fonte: A autora.

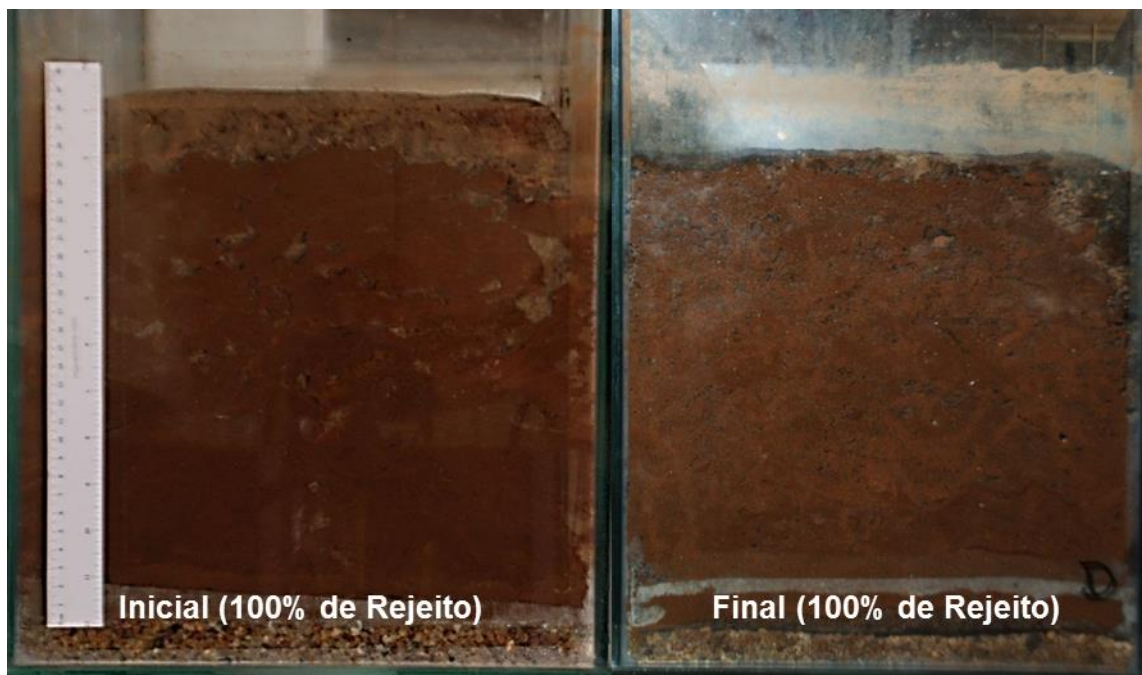


Figura 30. Fotos dos aquários antes e depois da atividade das minhocas (Tratamento em 100%).
Fonte: A autora.