

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Daiane Weiss

**USO DE DEJETOS BOVINOS E SUÍNOS COMO FERTILIZANTES: AVALIAÇÃO
DOS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS EM MINHOCAS *Eisenia andrei***

SANTA MARIA, RS
2024

Daiane Weiss

**USO DE DEJETOS BOVINOS E SUÍNOS COMO FERTILIZANTES: AVALIAÇÃO
DOS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS EM MINHOCAS *Eisenia andrei***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Área de Concentração em Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Ambiental**.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Bárbara Estevão Clasen

Coorientador: Prof. Dr. Ramiro Pereira Bisognin

SANTA MARIA, RS
2024

Weiss, Daiane
USO DE DEJETOS BOVINOS E SUÍNOS COMO FERTILIZANTES:
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS EM MINHOCAS
Eisenia andrei / Daiane Weiss.- 2024.
80 p.; 30 cm

Orientadora: Bárbara Estevão Clasen
Coorientador: Ramiro Pereira Bisognin
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Ambiental, RS, 2024

1. Biomarcadores 2. Esterco de animais 3. Estresse
oxidativo 4. Oligoquetas 5. Neurotoxicidade I. Clasen,
Bárbara Estevão II. Bisognin, Ramiro Pereira III.
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, DAIANE WEISS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Daiane Weiss

**USO DE DEJETOS BOVINOS E SUÍNOS COMO FERTILIZANTES: AVALIAÇÃO
DOS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS EM MINHOCAS *Eisenia andrei***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Área de Concentração em Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Ambiental**.

Aprovada em 26 de março de 2024

Bárbara Estevão Clasen, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Ramiro Pereira Bisognin, Dr. (UERGS)
(Coorientador)

Jossiele Wesz Leitemperger, Dra. (UFSM)

Enrico Mendes Saggiaro, Dr. (FIOCRUZ)

SANTA MARIA, RS
2024

Dedico este trabalho aos meus pais, que sob muito sol, fizeram-me chegar até aqui, na
sombra.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais por serem uma fonte constante de estímulo e apoio ao longo de toda minha jornada acadêmica e aos meus irmãos, que estiveram presentes para oferecer auxílio e suporte nos momentos de necessidade durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu companheiro, Leonardo, pela paciência e apoio incondicional durante as diversas etapas deste trabalho, inclusive auxiliando nas coletas de solo e montagem do experimento. Sua presença foi crucial para enfrentarmos juntos os desafios que surgiram. Muito obrigado por estar ao meu lado e por ser uma fonte de inspiração e força.

Ao meu melhor amigo e parceiro de pesquisa, Rafael, expresse minha profunda gratidão pela amizade e pelo incentivo mútuo que nos impulsionou a perseverar, tanto nos estudos quanto nas dificuldades que a vida nos trouxe. Além disso, agradeço pelos momentos de distração que compartilhamos juntos, seja tomando café ou aproveitando uma ida ao cinema. Sua companhia foi fundamental para mantermos o equilíbrio e a motivação ao longo dessa jornada.

Aos Professores Dr.^a Bárbara Estevão Clasen e Dr. Ramiro Pereira Bisognin, minha orientadora e coorientador, respectivamente, por compartilharem seu conhecimento e orientação ao longo deste processo e da minha jornada acadêmica. Seu apoio constante e incentivo foram essenciais para me guiar nesta jornada. Agradeço por acreditarem em mim e por me encorajarem a seguir adiante. Suas contribuições foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento acadêmico e profissional.

Aos professores da UERGS, pelos conhecimentos compartilhados desde a graduação e seguindo até o mestrado, em especial aos Prof.^a Dr.^a Danni, Prof. Dr. Robson e Prof. Dr. Eduardo, o meu muito obrigada! Também ao Hardi e a Lucila, pela assistência e suporte prestados no laboratório da UERGS. Ainda, ao Prof. Dr. Márlon minha profunda gratidão pela sua disponibilidade e apoio constante, especialmente durante as análises estatísticas e ao Prof. Dr. Redin pela colaboração, disponibilidade e pelo conhecimento compartilhado, que enriqueceram e fizeram com que este trabalho fosse executado.

A todos os pesquisadores do Grupo de Pesquisa GPTOX, em especial Doti, Greicy, Silvana, Edivania, Jaíne e Tamires, pela colaboração fundamental na coleta de dados e execução das análises. Ao Tadeu, pela valiosa consultoria oferecida de forma gratuita, contribuindo para o aprofundamento da pesquisa.

Aos professores da UFSM que, durante o mestrado, compartilharam os seus conhecimentos, em especial ao Prof. Dr. Natielo, Dr. Marcos, Dr. Elvis e Dr.^a Delmira.

A Prof.^a Dr.^a Vania Lucia Loro pela cedência do Labtaq da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, e ao LARP e ao Laboratório de Solos da UFSM pelo auxílio na realização das análises de solo, principalmente a Carina e ao Bruno Souza, pelo fornecimento de informações e pelo auxílio na coleta das amostras de solo.

Aos Professores Dr. Enrico Mendes Saggiaro e doutorando Sidney Fernandes Sales Junior da FIOCRUZ e ao Dr. Cláudio Ernesto Taveira Parente da UFRJ, pela colaboração na realização das análises de solo, parceria e pelas discussões realizadas.

À Banca avaliadora, por aceitar o convite e por contribuir com sugestões para a melhoria deste trabalho.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que contribuíram de forma significativa para a realização desta dissertação. A todos, o meu mais sincero agradecimento. Este trabalho não teria sido possível sem o apoio e colaboração de cada um de vocês.

Muito obrigado.

RESUMO

USO DE DEJETOS BOVINOS E SUÍNOS COMO FERTILIZANTES: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS EM MINHOCAS *Eisenia andrei*

AUTORA: Daiane Weiss

ORIENTADORA: Bárbara Estevão Clasen

COORDINADOR: Ramiro Pereira Bisognin

A produção global de suínos e bovinos, embora desempenhe papel importante na economia, pode gerar impactos ambientais significativos, por exemplo, associados aos dejetos gerados na produção intensiva de animais. Este estudo objetiva investigar o impacto ecotoxicológico em minhocas expostas a solos fertilizados historicamente com dejetos de suínos e bovinos, bem como os efeitos de longo prazo das aplicações no solo (argissolo). A metodologia incluiu análise de características físico-químicas do solo e avaliação de biomarcadores nos animais, como: capacidade antioxidante contra radicais peróxil (ACAP), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), peróxido, espécies reativas de oxigênio (ERO), carbonilação de proteínas, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE). As minhocas foram expostas aos seguintes tratamentos: Controle (CT), Dejetos Líquidos de Bovinos (DLB), Dejetos Líquidos de Suínos (DLS) e Cama Sobreposta de Suínos (CSS), durante 28 dias, com avaliação dos biomarcadores em 14 e 28 dias, sendo os ensaios realizados em quadruplicata. A análise estatística incluiu os testes de Kruskal Wallis e ANOVA com nível de significância de $p < 0,05$. Os resultados revelaram uma interação entre os tratamentos com dejetos, o solo e as minhocas. O aumento nos níveis de K, Ca, Mg, Cu, Zn e Mn em DLB sugere um ambiente mais fértil, mas também mais propenso ao estresse oxidativo. As enzimas antioxidantes (SOD e CAT) mostram o aumento da atividade no decorrer do tempo, mostrando uma resposta adaptativa ao dano oxidativo TBARS e carbonilação proteica, indicando um quadro de estresse oxidativo. Nesse cenário, o aumento de AChE e a inibição de BChE indicam possíveis efeitos neurotóxicos. Em DLS os níveis de P, K, Cu e Zn, mostram aumento na atividade das enzimas antioxidantes (ACAP, SOD, CAT e GST), da atividade colinérgica (AChE), inibição de GPx e BChE, aumento de H_2O_2 e manutenção dos índices dos demais marcadores de dano oxidativo. A presença de Ni em níveis mais altos também pode ter contribuído para a toxicidade e o estresse oxidativo observados. O aumento na atividade de BChE pode ser uma resposta adaptativa para contrabalançar a atividade elevada de AChE e tentar restabelecer o equilíbrio neurológico. CSS tem os níveis mais altos de CoT, NT, CTC, Cu, Zn e Mn. Esses fatores levam a um aumento significativo na atividade das enzimas antioxidantes e nos marcadores de dano oxidativo, sugerindo um alto nível de estresse oxidativo. O mesmo efeito observado para as colinesterases em DLS foi observado neste tratamento. Esses resultados indicam a alteração do funcionamento de enzimas relacionadas à função neurológica nos organismos. O aumento na atividade das enzimas antioxidantes ao longo do tempo nos tratamentos com dejetos mostra uma adaptação ao dano oxidativo ocasionado pela via das glutathionas, principalmente pela GST regenerando a GSH, com possíveis efeitos neurotóxicos e estresse oxidativo observados nos diferentes tratamentos. Logo, a aplicação de dejetos ao longo do tempo em solo pode impactar negativamente as minhocas, prejudicando suas funções ecológicas e afetando a saúde e a biodiversidade do ecossistema como um todo.

Palavras-chave: Biomarcadores. Esterco de animais. Estresse oxidativo. Oligoquetas. Neurotoxicidade.

ABSTRACT

USE OF BOVINE AND SWINE MANURE AS FERTILIZER: ASSESSMENT OF ECOTOXICOLOGICAL EFFECTS ON *Eisenia andrei* EARTHWORMS

AUTHOR: Daiane Weiss

ADVISOR: Bárbara Estevão Clasen

CO ADVISOR: Ramiro Pereira Bisognin

The global production of pigs and cattle, although playing an important role in the economy, can generate significant environmental impacts, such as those associated with waste generated in intensive animal production. This study aims to investigate the ecotoxicological impact on earthworms exposed to soils historically fertilized with pig and cattle waste, as well as the long-term effects of soil applications (argisol). The methodology included the analysis of soil physicochemical characteristics and the evaluation of biomarkers in animals, such as: antioxidant capacity against peroxy radicals (ACAP), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), hydrogen peroxide (H₂O₂), reactive oxygen species (ROS), protein carbonylation, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), acetylcholinesterase (AChE), and butyrylcholinesterase (BChE). Earthworms were exposed to the following treatments: Control (CT), Liquid Cattle Manure (DLB), Liquid Swine Manure (DLS), and Swine Deep Bedding (CSS), for 28 days, with biomarker evaluation at 14 and 28 days, with tests conducted in quadruplicate. Statistical analysis included Kruskal-Wallis and ANOVA tests with a significance level of $p < 0.05$. The results revealed an interaction between manure treatments, soil, and earthworms. The increase in levels of K, Ca, Mg, Cu, Zn, and Mn in DLB suggests a more fertile environment but also more prone to oxidative stress. Antioxidant enzymes (SOD and CAT) show increased activity over time, indicating an adaptive response to TBARS oxidative damage and protein carbonylation, indicating oxidative stress. In this scenario, the increase in AChE and inhibition of BChE indicate possible neurotoxic effects. In DLS, levels of P, K, Cu, and Zn show increased activity of antioxidant enzymes (ACAP, SOD, CAT, and GST), cholinergic activity (AChE), inhibition of GPx and BChE, increased H₂O₂, and maintenance of other oxidative damage markers. The presence of Ni at higher levels may have contributed to the observed toxicity and oxidative stress. The increase in BChE activity may be an adaptive response to counterbalance the elevated AChE activity and try to restore neurological balance. CSS has the highest levels of CoT, NT, CTC, Cu, Zn, and Mn. These factors lead to a significant increase in antioxidant enzyme activity and oxidative damage markers, suggesting a high level of oxidative stress. The same effect observed for cholinesterases in DLS was observed in this treatment. These results indicate changes in the functioning of enzymes related to neurological function in organisms. The increase in antioxidant enzyme activity over time in waste treatments shows an adaptation to oxidative damage caused by the glutathione pathway, mainly by GST regenerating GSH, with possible neurotoxic effects and oxidative stress observed in the different treatments. Therefore, the application of waste over time in the soil can negatively impact earthworms, impairing their ecological functions and affecting the health and biodiversity of the ecosystem as a whole.

Keywords: Biomarkers. Animal manure. Oxidative stress. Oligochaetes. Neurotoxicity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	MATRIZ PRODUTIVA DE SUÍNOS E BOVINOS E O POTENCIAL POLUIDOR DOS DEJETOS	15
3.2	ECOTOXICOLOGIA, BIOINDICADORES E SEU USO NA PREDIÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	COLETA E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO UTILIZADO	28
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, ORGANISMOS E EXECUÇÃO DOS TESTES	30
4.3	BIOENSAIOS E ANÁLISES ECOTOXICOLÓGICAS	32
4.3.1	Preparo das amostras	32
4.3.2	Determinação da resposta antioxidante e dano oxidativo	32
4.3.3	Determinação da resposta enzimática	33
4.3.4	Determinação da resposta neurotóxica	34
4.3.5	Determinação de proteínas	34
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	ANÁLISE DOS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE DEJETOS DE ANIMAIS NOS ATRIBUTOS DO SOLO	36
5.2	BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO, RESPOSTA ANTIOXIDANTE E NEUROTOXICIDADE EM MINHOCAS	41
6	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

No cenário global, a produção de suínos e bovinos possui grande relevância na economia, evidenciando um crescimento contínuo para atender a demanda por carne. Projeções recentes apontam para a produção de, aproximadamente, 1.249.740 milhões de suínos e 288.865 milhões de bovinos, com destaque para países como China, Estados Unidos, União Europeia, Índia e Brasil (USDA, 2024). Esses números destacam a contribuição significativa dessas matrizes para o abastecimento global de carne, ressaltando a demanda contínua por produtos de origem animal e a importância econômica do setor.

Contudo, é crucial reconhecer que a produção intensiva de animais pode gerar impactos ambientais, sendo a gestão adequada dos dejetos um desafio associado a matriz produtiva (BARROS et al., 2019; CARDOSO et al., 2015). A aplicação contínua dos dejetos na forma de fertilizantes orgânicos é uma prática comum na agricultura, especialmente em áreas de produção animal intensiva, e seus efeitos podem ser positivos ou negativos (ADAMS et al., 2020; OLIVEIRA FILHO et al., 2020; GUAN et al., 2018; MENEZES et al., 2017).

A fertilização com dejetos traz efeitos positivos ao fornecer nutrientes essenciais como nitrogênio, fósforo e potássio, aumentando a fertilidade do solo, melhorando sua estrutura, aumentando a capacidade de retenção de água e a atividade da fauna edáfica (HU et al., 2015; ADAMS et al., 2020; MARCHEZAN et al., 2020; LOURENZI et al., 2021; QASWAR et al., 2022). Contudo, a aplicação excessiva ou inadequada ao longo do tempo pode acarretar efeitos negativos, como o acúmulo de metais, fármacos e outros xenobióticos no solo (ZHAO et al., 2014; GUAN et al., 2018; GUO et al., 2018), facilitar processos de salinização, alterar as comunidades edáficas (ZHANG et al., 2014; MARTÍ et al., 2016; XUN et al., 2016; HOU et al., 2022; LIU et al., 2021), promover a contaminação da água subterrânea pela lixiviação de nutrientes e gerar impactos diretos e indiretos à produção agrícola (CARDOSO; ZHAO et al., 2014; OYAMADA; MAGNO DA SILVA, 2015; MARTÍ et al., 2016; SANTOS et al., 2016; BARROS et al., 2019), representando riscos para a saúde humana, meio ambiente e à economia.

Relacionado a isto, outro fator que corrobora a preocupação sobre os efeitos da aplicação é a variedade de compostos presentes nos dejetos. Alguns despertam interesse especial devido ao potencial impacto ambiental e a relevância para a saúde coletiva, incluindo metais como cobre, zinco, chumbo e cádmio e fármacos. Quando incorporados nos solos por meio da fertilização agrícola, esses elementos representam potenciais riscos de contaminação podendo ser biomagnificados, bioacumulados ou transportados através da cadeia alimentar (DE

CONTI et al., 2016; CAMOTTI BASTOS et al., 2018; ARAÚJO et al., 2019; BENEDET et al., 2019; GUO et al., 2018; XIE et al., 2022), expondo diversos organismos as substâncias presentes. Portanto, esta é uma preocupação multidisciplinar que exige uma abordagem cuidadosa relacionada a gestão e constatação no solo, haja vista que a aplicação continuada pode resultar na contaminação do solo, da água, dos alimentos, risco de resistência microbiana e de toxicidade dos metais, impactos a fauna edáfica e, a longo prazo, o comprometimento da segurança alimentar e a saúde pública (ZHAO et al., 2014; GUO et al., 2018; WANG et al., 2020; XIE et al., 2022).

Dentre os organismos que compõem a fauna edáfica, as minhocas pertencem a um grupo da macrofauna, sendo essenciais para processos de aeração do solo, decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, melhorando e facilitando as condições para o crescimento das plantas e a saúde do ecossistema. Esses animais se mostram sensíveis as alterações nos habitats e podem ser utilizados como bioindicadores. Portanto, qualquer interferência realizada no ambiente representa um risco potencial para a saúde e o equilíbrio do ecossistema, além de trazer impactos na fertilidade do solo e impactos indiretos na produção agrícola e a economia (UWIZEYIMANA et al., 2017; NADOLNY et al., 2020).

Para avaliar potenciais distúrbios em organismos, é possível recorrer aos biomarcadores de estresse oxidativo, que são parâmetros mensuráveis que indicam a presença ou intensidade do estresse causado por estímulos ou substâncias externas ao organismo. Esses biomarcadores abrangem produtos de oxidação de lipídios, proteínas ou ácidos nucleicos, juntamente com enzimas antioxidantes e compostos reativos ao oxigênio, presentes em praticamente todas as formas de vida, desempenhando um papel crucial no equilíbrio dos processos biológicos (TAN et al., 2014; MARKAD et al., 2015; LAMMERTYN et al., 2021; BAPAT et al., 2022; BORGES et al., 2022). O estresse oxidativo surge a partir de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a capacidade antioxidante do organismo para neutralizá-las. Embora as ERO sejam naturalmente geradas durante a respiração celular, sua produção pode ser intensificada em resposta a estímulos externos, como exposição a poluentes, radiação ultravioleta e substâncias químicas, principalmente os metais, resultando em um desequilíbrio metabólico (BEZERRA et al., 2004; CLASEN et al., 2014). Os metais contribuem para o estresse oxidativo ao catalisar a formação de radicais livres, interferir na função mitocondrial, inativar antioxidantes e induzir enzimas pro-oxidantes. Eles causam danos diretos ao DNA, proteínas e lipídios, além de ativar vias inflamatórias que aumentam a produção de ROS (HENKLER, BRINKMANN e LUCH, 2010; VALKO et al., 2006)

Assim, o uso de biomarcadores permite compreender os efeitos e a resposta do organismo exposto a condições ambientais adversas, auxiliando na predição de potenciais impactos para outros organismos.

A avaliação de biomarcadores em minhocas na forma de indicadores de estresse oxidativo é importante para a compreensão da resposta desses organismos às mudanças ambientais do habitat. Os biomarcadores fornecem percepções sobre o impacto imediato e também ajudam a entender como as alterações nos organismos podem se propagar pela teia trófica, funcionando como ferramentas de alerta precoce (BEAUMELLE et al., 2017; DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022; WANG et al., 2023). Pesquisas que focam no uso de biomarcadores em organismos do solo, como as minhocas, sendo expostas aos dejetos bovinos e suínos, são limitadas. Este é um ponto de atenção, visto que os biomarcadores podem revelar os efeitos subletais da exposição a contaminantes, incluindo dejetos, na saúde e no funcionamento dos organismos do solo (CALISI et al., 2019). Assim, compreender de que forma as práticas agrícolas de fertilização impactam os organismos do solo é essencial, considerando que este é a base da produção de alimentos, e exerce influência direta sobre a economia, o meio ambiente e a saúde das populações.

Neste estudo, foram exploradas questões que envolvem agricultura, meio ambiente, saúde pública e sustentabilidade, com foco na gestão de dejetos de animais e seu potencial ecotóxico em oligoquetas. Desta forma, este estudo busca contribuir para a compreensão dos efeitos da fertilização com dejetos a longo prazo sobre a macrofauna edáfica, especificamente sobre minhocas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o impacto ecotoxicológico em minhocas *Eisenia andrei* expostas a solo com aplicação histórica de dejetos de suínos e bovinos na forma de fertilização orgânica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Descrever as características físico-químicas do solo com aplicações de longo período de dejetos bovinos e suínos.

Verificar se a aplicação continuada de dejetos suínos e bovinos em solo reflete no potencial ecotoxicológico do solo.

Avaliar biomarcadores de atividade antioxidante, neurológica e de estresse oxidativo em minhocas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O ciclo de produção animal, desde as fazendas até o consumidor final, desenvolve-se em nível global, sendo o Brasil um dos principais produtores intensivos de bovinos e suínos (ABPA, 2024; CONAB, 2024; IBGE, 2024). O aumento da produção global de carne reflete a sua crescente demanda e traz consigo o questionamento sobre o gerenciamento adequado dos dejetos produzidos. Entre as práticas de gerenciamento frequentemente adotadas, o uso de dejetos na forma de fertilizantes orgânicos surge como uma alternativa para suprir a carência de nutrientes no solo e resolver questões relacionadas à destinação final adequada dos dejetos (SANTOS et al., 2016; MORAES TAVARES et al., 2019; FERREIRA et al., 2022; SILVA et al., 2023). Entretanto, apresenta preocupações ambientais, dado o volume e composição dos dejetos.

Com base nisso, os tópicos a seguir apresentam dados globais e nacionais sobre a matriz produtiva e os efeitos da aplicação dos dejetos no solo, analisando suas implicações e riscos associados. Além disso, destaca-se o papel da ecotoxicologia como ciência investigativa e preditiva com o uso de biomarcadores e bioindicadores terrestres no auxílio da predição de riscos relacionados à aplicação a longo prazo de dejetos em solos.

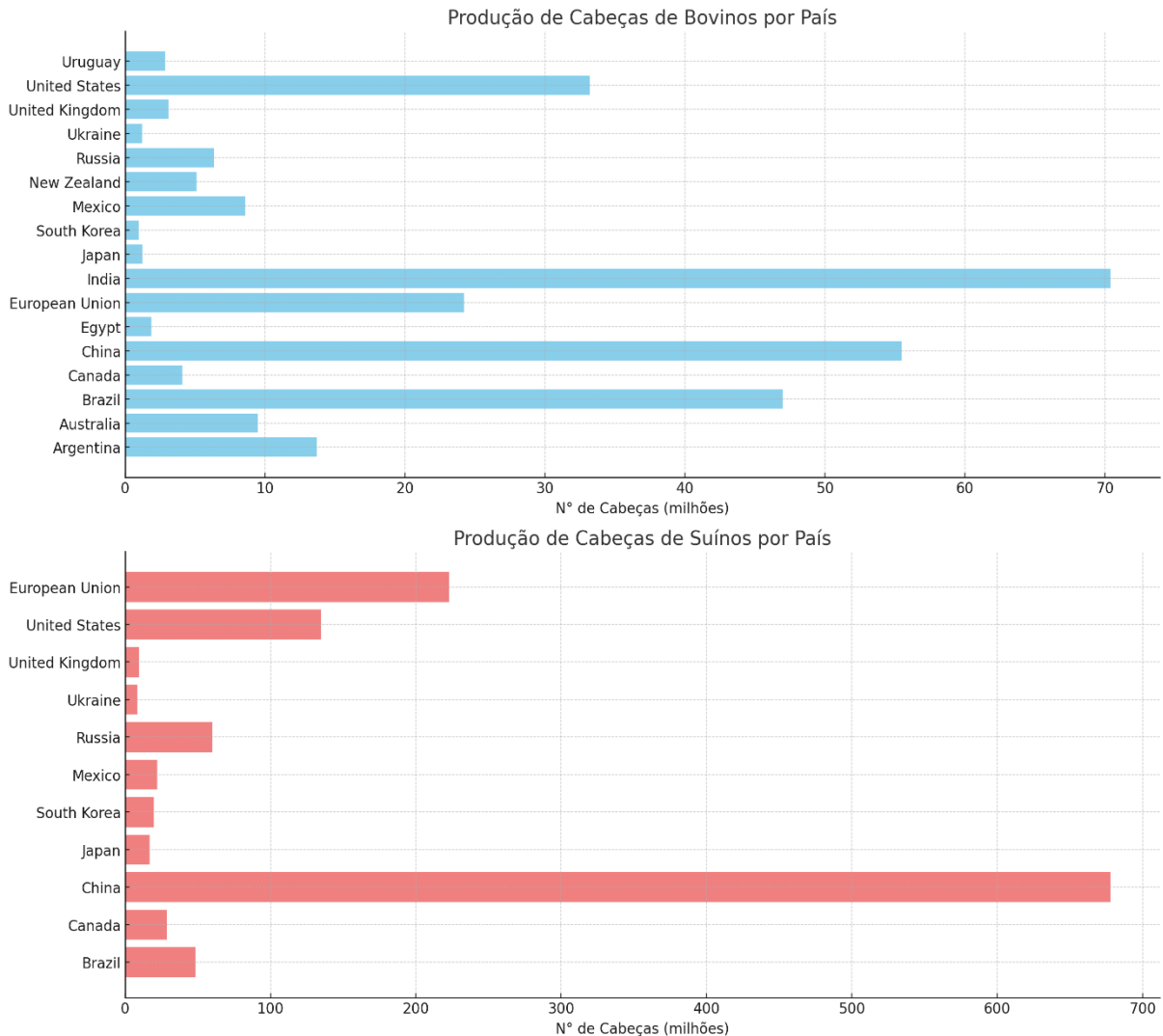
3.1 MATRIZ PRODUTIVA DE SUÍNOS E BOVINOS E O POTENCIAL POLUIDOR DOS DEJETOS

O ciclo de produção de carne animal é um processo complexo e interligado, que abrange várias fases em uma cadeia de fornecimento cíclica, desde a criação até o consumidor final. O ciclo se inicia nas fazendas, onde os animais recebem cuidados intensivos até atingirem o peso ideal para o abate. Na fase seguinte, ocorre o transporte até os frigoríficos e matadouros, onde os animais são processados para obtenção de carne e subprodutos. Após essa etapa, os produtos são distribuídos para o mercado interno, ao consumidor final ou destinadas à exportação (ZANOTELLI, 2021).

Paralelamente, a produção mundial de suínos e bovinos desempenha um papel crucial na economia global, com um crescimento constante para atender à crescente demanda. Projeções para 2024 indicam que a produção de suínos alcançará aproximadamente 1.249.740 milhões de cabeças, enquanto a de bovinos, para o mesmo ano, está estimada em 288.865 milhões de

cabeças (USDA, 2024). Países como China, Estados Unidos, Índia e Brasil, além do bloco econômico da União Europeia, destacam-se na produção animal em ambos os setores, conforme Figura 1 (USDA, 2024).

Figura 1 – Estimativa da produção de cabeças de bovinos e suínos por país em 2024 (em milhões).



FONTE: Adaptado de USDA (2024).

A produção global de carne vem crescendo com o passar dos anos por conta da ampliação do mercado consumidor em nível mundial. Por exemplo, no caso da carne suína, que ampliou de 107,6 milhões de toneladas em 2021 para 113,8 milhões de toneladas em 2022, e, no caso da carne bovina, de 10,35 milhões de toneladas em 2022 para 10,57 milhões de toneladas em 2023 (ABPA, 2024; CONAB, 2024; USDA, 2024). Nesse cenário, o Brasil destaca-se pelo excelente desempenho na produção e exportação de produtos do agronegócio para diversas partes do mundo. Em 2024, estima-se que a produção de carne no país atingirá

30,85 milhões de toneladas, sendo que 25% da carne produzida seja destinada à exportação (ABPA, 2024; IBGE, 2024). Desse montante, especificamente para a bovina e suína podem alcançar, respectivamente, 9,25 e 5,57 milhões de toneladas, correspondendo a 30% e 18% produção total de carne no país (CONAB, 2024). Regionalmente, em 2022, cerca de 72% da produção nacional de carne suína concentrou-se nos estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná. No que diz respeito à produção bovina, os estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo lideraram, representando aproximadamente 38% da produção nacional (ABPA, 2024; IBGE, 2024).

O consumo per capita de carne, assim como a sua disponibilidade, segue a tendência de crescimento. Projeções indicam que, em 2024, o consumo de carne bovina atingirá a marca de 31,1 kg por habitante por ano, enquanto o consumo de carne suína deverá alcançar 21,2 kg por habitante por ano (CONAB, 2024).

Esses números ressaltam a notável contribuição dessas duas matrizes para o abastecimento global de carne, evidenciando a demanda contínua e crescente por produtos de origem animal e a sua importância econômica do setor para os países. Contudo, é necessário reconhecer que toda produção gera impactos com repercussões duradouras nos países onde ocorre, principalmente quando esta é concentrada em regiões e supera a capacidade de suporte do solo (ZHAO et al., 2014; MARTÍ et al., 2016; CARDOSO et al., 2015; KOWALSKA et al., 2020). É importante ressaltar que a gestão adequada dos dejetos é um dos aspectos críticos a serem enfrentados para garantir a minimização de impactos a longo prazo (GAUR et al., 2014; XUN et al., 2016; MOINARD et al., 2021; ZHANG et al., 2022).

A ampliação da geração dos dejetos é correlata a intensificação da produção nas granjas. O sistema intensivo de produção envolve a alocação de uma grande quantidade de animais em um pequeno espaço, seja através de galpões ou de forma semi-intensiva, confinando os animais em grandes lotes ou estábulos, com o objetivo aumentar a eficiência e o ganho de peso dos animais por meio de práticas de alimentação controladas, reduzindo os custos de produção (KONZEN, ALVARENGA, 2005; CARDOSO et al., 2015). Esse aumento na densidade por área ocupada resulta em uma maior quantidade de dejetos gerados, incluindo fezes e urina e também modificam a constituição dos dejetos produzidos durante o processo (SEGANFREDO, 2000; CARDOSO et al., 2015). Assim, a produção intensiva e regionalizada gera preocupações devido à considerável geração de dejetos durante o processo de criação (CARDOSO et al., 2015), bem como sobre a sua composição, seu potencial poluidor, quantidade de áreas disponíveis para a fertilização e as estratégias de manejo empregadas para a destinação final (SEGANFREDO, 2000; BOITT et al., 2018; LIMA et al., 2021).

As formas de criação dos animais e de manejo dos dejetos influenciam na concentração de substâncias, sendo que as principais formas consistem em manejos por vias líquidas ou em camas sobrepostas. Granjas que adotam o manejo de dejetos líquidos geram resíduos mais concentrados devido aos sistemas de coleta e armazenamento. Em contrapartida, os sistemas de camas sobrepostas se tornam mais sólidos devido à sua mistura com materiais absorventes, como serragem, palha ou maravalha. Alguns manejos em cama podem exigir a aplicação de pesticidas para o controle de pragas. De maneira geral, os dejetos líquidos apresentam uma concentração mais elevada de nutrientes e metais em comparação com os dejetos em sistemas de camas sobrepostas, que apresentam maiores teores de material orgânico em sua composição. Ambas produções fazem uso de compostos e medicamentos veterinários, que podem ser excretados e incorporados aos dejetos (KONZEN, ALVARENGA, 2005; CONTI et al., 2016; COUTO et al., 2017; LOSS et al., 2020; MARCHEZAN et al., 2020; RODRIGUES et al., 2021).

Assim, a composição química dos dejetos pode variar de acordo com diversos fatores, como a espécie do animal, sua dieta, o método de criação, a gestão de resíduos, a diluição e mistura dos dejetos, o uso de antibióticos e medicamentos e o manejo dos dejetos (KONZEN, ALVARENGA, 2005; BARROS et al., 2019). Além disso, a taxa de conversão dos alimentos consumidos em peso corporal varia entre as espécies, e os elementos não metabolizados são eliminados na forma de fezes ou urina ingerida (KONZEN, ALVARENGA, 2005). Suínos podem converter cerca de 40% a 60% do que consomem, enquanto bovinos conseguem aproveitar apenas de 30% a 40% da massa total ingerida (KONZEN, ALVARENGA, 2005). Em função do baixo aproveitamento, as rações fornecidas possuem alta concentração de elementos químicos, principalmente de nutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio), metais e metaloides (KONZEN, ALVARENGA, 2005; BARROS et al., 2019; XU et al., 2019). Adicionalmente, as produções exigem a sanidade do rebanho através do fornecimento de medicamentos de uso veterinário, incluindo antibióticos como a amoxicilina, ceftiofur, tilmicosina e oxitetraciclina; antiparasitários como a ivermectina, doramectina e fenbendazol; vacinas para prevenir doenças como a febre aftosa, circovirose suína e brucelose; e anti-inflamatórios como a flunixinina, meglumina e meloxicam. Além disso, hormônios e promotores de crescimento, como implantes de estradiol e somatotropina bovina (BST), são frequentemente usados para melhorar o ganho de peso e a eficiência alimentar (BOHRER et al., 2019; QUAIK et al., 2020; XIE et al., 2022).

Essas variações influenciam na concentração de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, bem como a presença de compostos farmacêuticos e metais nos dejetos (CONTI et al., 2016;

FORMENTINI et al., 2017, 2021; PARENTE et al., 2019; XU et al., 2019). A Tabela 1 apresenta a potencial composição de dejetos de suínos ou bovinos.

Tabela 1 – Composição típica de diferentes tipos de dejetos suínos e bovinos.

Parâmetros	Dejetos de suínos	Dejetos de bovinos
pH	6,02 a 7,37	7,13 a 8,9
Carbono (C)	37,04 a 49,49 % MS	49,0 a 49,6% MS
Nitrogênio (N)	1,5 a 6,24 % MS	0,89 a 3,5 % MS
Matéria Orgânica (MO)	32,02 %	37,80 a 82,5 %
Fósforo (P)	704 a 1.265 mg kg ⁻¹	100 a 570 mg kg ⁻¹
Potássio (K)	443 a 687 mg kg ⁻¹	140 a 4.980 mg kg ⁻¹
Sódio (Na)	137 a 234 mg kg ⁻¹	80 mg kg ⁻¹
Cálcio (Ca)	0,37 g kg ⁻¹	1,08 a 1,39 g kg ⁻¹
Magnésio (Mg)	1,08 a 1,10 mg kg ⁻¹	0,11 a 1,81 mg kg ⁻¹
Manganês (Mn)	381 a 609,3 mg kg ⁻¹	3,47 a 922 mg kg ⁻¹
Enxofre (S)	0 a 0,96 g kg ⁻¹	0,01 a 1,37 g kg ⁻¹
Cobre (Cu)	121 a 1.029 mg kg ⁻¹	10,07 a 49,55 mg kg ⁻¹
Zinco (Zn)	450 a 4.678 mg kg ⁻¹	75,64 a 203,49 mg kg ⁻¹
Cromo (Cr)	8,79 a 10,11 mg kg ⁻¹	10,85 a 17,95 mg kg ⁻¹
Cádmio (Cd)	0,33 a 0,41 mg kg ⁻¹	0,15 a 0,24 mg kg ⁻¹
Chumbo (Pb)	0,55 a 1,22 mg kg ⁻¹	-
Níquel (Ni)	8,16 a 9,09 mg kg ⁻¹	-
Mercúrio (Hg)	0,02 a 0,05 mg kg ⁻¹	0,023 a 0,028 mg kg ⁻¹
Ferro (Fe)	117 a 2.111 mg kg ⁻¹	3,94 a 574 mg kg ⁻¹

Fonte: Baseado em HIGARASHI et al., 2008; SALUDES et al., 2008; HOMEM et al., 2015; AHMED EL-NAGAR et al., 2019; PRADO et al., 2022; FERNÁNDEZ-LABRADA et al., 2023; HORF et al., 2024; SHEN et al., 2024.

Metais e metaloides como Zn, Ni, Cr, Cd, Pb, comumente encontrados nos dejetos, estão presentes em suplementos minerais adicionados às rações, na água de consumo e no ambiente em que os animais estão inseridos - materiais de construção das instalações. Estes elementos possuem importância para os organismos, pois fazem parte de inúmeros processos metabólicos e enzimáticos (HEJNA et al., 2018), e o seu fornecimento contribui para o acúmulo em tecidos e produtos de origem animal, sendo o excesso eliminado através de excretas (ALKMIM FILHO et al., 2014). Algumas substâncias específicas, como cobalto (Co), iodo (I), lítio (Li), estrôncio (Sr) e antimônio (Sb), também estão presentes nas rações, alguns hormônios, suplementos minerais e vitamínicos, medicamentos para distúrbios ósseos, antiparasitários e

antifúngicos, fornecidos aos animais e também em antissépticos utilizados na higienização dos pavilhões de produção (DAVIES, 2022). Esses elementos e seus respectivos medicamentos desempenham papéis importantes na saúde e no bem-estar dos animais criados em sistemas de produção intensiva, mas, praticamente não são avaliados em estudos que determinem a composição típica de dejetos.

De forma geral, os dejetos de suínos e de bovinos são fontes importantes de nutrientes e elementos para o solo, possuindo características distintas que podem influenciar seu impacto no ambiente agrícola. Assim, os dejetos apresentam uma composição diversificada, podendo assumir formas líquidas, sólidas ou semissólidas, sendo compostos por fezes, urina e água proveniente das instalações e também variam de acordo com as formas de produção. Essas variações não só afetam a consistência física, mas também influenciam a concentração de nutrientes, na presença de patógenos e no potencial liberação de substâncias contaminantes no solo e água quando os dejetos são aplicados em lavouras (HIGARASHI et al., 2008; SALUDES et al., 2008; HOMEM et al., 2015; AHMED EL-NAGAR et al., 2019; PRADO et al., 2022; FERNÁNDEZ-LABRADA et al., 2023; HORF et al., 2024; SHEN et al., 2024). Essa diversidade na composição dos dejetos reflete a complexidade do processo de produção intensiva e levanta preocupações sobre os potenciais impactos ambientais associados. Assim, o dejetos gerado durante o processo produtivo carrega consigo substâncias diversas, e sua aplicação no solo resultará na transferência dessas substâncias para o ambiente.

A aplicação de dejetos no solo é uma prática comum na agricultura, especialmente em locais com produção intensiva de suínos e bovinos. Esta prática apresenta diversos benefícios, como oferecer uma solução potencial para o problema da destinação final dos dejetos produzidos, diminuir a dependência de fertilizantes químicos externos, melhorar a estrutura do solo e ajudar na ciclagem de nutrientes essenciais para outros organismos, resultando em economia financeira benefícios agronômicos significativos (SEGANFREDO, 2000; BARROS et al., 2019; LOURENZI et al., 2021).

Além dos aspectos agronômicos e econômicos, há também considerações ambientais associadas à aplicação excessiva de dejetos no solo. Esse excesso pode levar à acidificação do solo e à redução da matéria orgânica, resultando em desequilíbrios nutricionais, a maior dependência das plantas aos dejetos e aumento da vulnerabilidade a pragas e doenças devido ao enfraquecimento causado por esse desequilíbrio (BARROS et al., 2019). A aplicação excessiva de dejetos também está associada à contaminação da água, mudanças nos ecossistemas locais e emissões de gases do efeito estufa. Esses dejetos contêm nutrientes, metais, resíduos de medicamentos e outras substâncias que podem atingir o solo. O excesso de

nutrientes, como nitrogênio, fósforo e potássio, pode causar eutrofização em corpos d'água, devido à lixiviação, impactos na saúde humana devido a altos níveis de nitratos e emissões de gases do efeito estufa (SEGANFREDO, 2000; KONZEN, ALVARENGA, 2005; COUTO et al., 2017; MORAES et al., 2017; CHIKUVIRE et al., 2019; OLIVEIRA FILHO et al., 2020; QIN et al., 2020; ALBUQUERQUE et al., 2022).

A respeito dos metais, é importante destacar que, ao contrário de muitos compostos orgânicos, eles não sofrem degradação significativa no ambiente. Em vez disso, os metais têm a tendência de acumularem no solo ao longo do tempo, e podem formar complexos com outros compostos, alterando sua forma química e afetando sua mobilidade e biodisponibilidade. Esses complexos podem influenciar a absorção de metais pelas plantas, bem como sua transferência através da cadeia alimentar (CONTI et al., 2016; ARAÚJO et al., 2019; BENEDET et al., 2019). O acúmulo progressivo no solo pode resultar na deterioração da qualidade do solo, comprometendo o desenvolvimento das plantas e apresentando riscos à segurança alimentar e à saúde pública, especialmente devido ao potencial de bioacumulação na cadeia trófica, podendo chegar até a população por meio dos alimentos produzidos em solos potencialmente contaminados.

A aplicação frequente de dejetos também aumenta significativamente as concentrações de metais e metaloides no solo, especialmente nas camadas superficiais, influenciando na sua distribuição e formas químicas em solução (CONTI et al., 2016). Teores de Cu, Zn e Mn foram considerados excessivos no estudo de SARTO et al. (2019) e de Cu, Zn, Fe e Mn no estudo de Kapur e Kanwar (1989), possivelmente devido aos altos teores desses micronutrientes nas rações de suínos e bovinos. Devido a afinidade química dos elementos, o Cu e o Zn são normalmente adsorvidos em grupos funcionais de partículas reativas de diversos componentes nas fases mineral e orgânica, o que diminui a mobilidade e, conseqüentemente, a migração desses metais no perfil do solo, promovendo seu acúmulo próximo ao local onde são depositados, neste caso na superfície do solo (CONTI et al., 2016). A identificação das espécies químicas metálicas na solução do solo é fundamental para melhor avaliar a sua disponibilidade e mobilidade nas diferentes camadas do solo (CONTI et al., 2016).

O estudo de Hussain et al. (2021) investigou os efeitos da aplicação de longo prazo de esterco suíno e adubos verdes na acumulação de metais traço, como Cd, Zn e Cu, no solo e nos grãos de arroz em um solo argiloso. Os resultados destacaram um significativo aumento na disponibilidade e acumulação de Cd, Zn e Cu no solo e nos grãos de arroz após 27 anos de aplicação contínua de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) em combinação com adubo verde e esterco suíno, em comparação com o controle sem adubação. Conti et al. (2016) verificaram

que, após 21 aplicações sucessivas de dejetos em um Argissolo no Brasil, foram aplicados 19,2, 38,5, e 76,9 kg Cu ha⁻¹ e 27,0, 53,9 e 108,0 kg Zn ha⁻¹ com as aplicações de dejetos nas doses de 20, 40 e 80 m³ ha⁻¹. Doses mais elevadas de dejetos também promovem a migração de metais, principalmente de Zn e Cu (CONTI et al., 2016; MENEZES et al., 2017) o que pode aumentar o risco de contaminação do ambiente, principalmente de águas subterrâneas.

No solo, as características da matéria orgânica, a sorção de fósforo (P) no solo e suas formas influenciam na ligação e complexação destes metais e metaloides (ARAÚJO et al., 2019). A aplicação de dejetos bovinos em solos alcalinos pode aumentar a concentração de Cu e sua mobilidade, afetando negativamente a saúde do solo e a qualidade da água (ARAÚJO et al., 2019). A aplicação contínua de dejetos líquidos de suíno em solos arenosos e argilosos por mais de 10 anos também resultam em alterações nos teores de Cu até 60 cm de profundidade, enquanto os teores de Zn são mais afetados nos solos arenosos (MENEZES et al., 2017). A aplicação continuada de dejetos ao longo do tempo proporciona a oxidação e transformação do Zn, passando para formas não sulfetadas de Zn (FORMENTINI et al., 2017). Essa alteração na especiação do Zn transmitido pelos dejetos foi atribuída à baixa estabilidade das nanopartículas de sulfeto de zinco (ZnS) em ambientes oxigenados e complexos, como o solo estudado, onde o Zn foi posteriormente retido por componentes minerais e complexados na matéria orgânica (FORMENTINI et al., 2017).

Assim, a aplicação excessiva de dejetos aumenta o risco de perda de elementos químicos por lixiviação, especialmente quando os teores excedem o certo limite crítico, destacando a importância de ajustar a taxa de aplicação com base nas condições do solo e nas necessidades das plantas para minimizar esse risco (QIN et al., 2020; LI et al., 2023).

Além das informações sobre os compostos isolados, também existem impactos decorrentes da interação entre as substâncias. No entanto, há uma escassez de estudos dedicados a explorar essas interações. Isso significa que ainda há muito a ser compreendido sobre como os diferentes compostos interagem entre si e como essas interações podem influenciar os processos ambientais, biológicos e químicos e, além de tudo, como eles interagem com e nos organismos. A investigação do impacto da aplicação prolongada de esterco de suínos na ocorrência de metais, antibióticos e genes de resistência em amostras de solo foi avaliada por Guo et al. (2018). Os resultados revelaram que a contaminação por metais, especialmente Zn e Cu, foi significativamente maior nas áreas tratadas com dejetos, excedendo os padrões de qualidade do solo. Além disso, foram detectados resíduos de antibióticos em concentrações significativas, principalmente clorotetraciclina, indicando uma preocupação adicional com a presença de substâncias farmacêuticas no solo. A análise revelou uma correlação positiva entre

genes de resistência, antibióticos e metais, sugerindo uma possível co-seleção devido à presença conjunta destes poluentes.

Assim, aplicações de dejetos durante longos períodos podem induzir uma impressão digital específica de poluição, em que pode vir a atingir as águas circundantes, amplificando a disseminação de substâncias (CAMOTTI BASTOS et al., 2018), levando ao acúmulo de nutrientes como P e N (OLIVEIRA FILHO et al., 2020; LOURENZI et al., 2021), metais no solo e em plantas (CONTI et al., 2016; WANG et al., 2020) e de antibióticos e genes de resistência no solo (CAMOTTI BASTOS et al., 2018; PARENTE et al., 2019) representando riscos potenciais à segurança alimentar e à saúde pública (GUO et al., 2018; PARENTE et al., 2019). Alguns autores afirmam que determinar uma quantidade ideal de nutrientes e as propriedades físicas desejadas podem ser alcançados, evitando o acúmulo excessivo de materiais que possam ter efeitos negativos nas culturas, ao meio ambiente e a saúde (SCHLEGEL et al., 2015; MARTÍ et al., 2016) e ressaltam a necessidade de considerar o controle da fertilização com dejetos e o manejo adequado para preservar a qualidade física do solo ao longo do tempo e evitar potenciais contaminações (RAUBER et al., 2018; OLIVEIRA FILHO et al., 2020).

A presença de fármacos no solo pode resultar em contaminação ambiental, toxicidade para micro-organismos, desenvolvimento de resistência, impactos na fauna edáfica, transferência para plantas e persistência ambiental. Esses fatores comprometem a saúde do solo, a biodiversidade e podem entrar na cadeia alimentar, representando riscos ambientais e de resistência antimicrobiana (CAMOTTI BASTOS et al., 2018; CUI; WANG; YU, 2023; GUO et al., 2018; PARENTE et al., 2019; XIE et al., 2022).

Nesse sentido, a aplicação contínua de dejetos em solos agrícolas pode ter impactos significativos, sejam eles positivos ou negativos. Por um lado, contribui para a fertilização do solo e a ciclagem de nutrientes, reduzindo a necessidade da aplicação de fertilizantes químicos. Por outro, podem resultar na poluição da água devido à lixiviação de nutrientes, na liberação de gases como amônia e metano, devido a decomposição dos dejetos, prejudicando a qualidade do ar e contribuindo para o efeito estufa. Ainda, a aplicação inadequada ou excessiva representa riscos para a saúde pública, pela disseminação odores desagradáveis e distúrbios em comunidades locais, além de estar associada ao desenvolvimento de resistência a antibióticos em bactérias, disseminação de patógenos, alterar as propriedades físico-químicas do solo, através da alteração do pH, acúmulo sais, metais e outros, reduzindo sua qualidade (BI et al., 2021; DING et al., 2019; MARTÍ et al., 2016; OLIVEIRA FILHO et al., 2020; SOONVALD et al., 2019).

Assim, a escolha de abordar os efeitos da aplicação contínua de dejetos de suínos e bovinos no solo é fundamentada em diversas razões, já que essas práticas são amplamente empregadas na agricultura, especialmente em áreas de produção animal intensiva, refletindo a realidade agrícola atual.

3.2 ECOTOXICOLOGIA, BIOINDICADORES E SEU USO NA PREDIÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS

Os ecossistemas enfrentam uma crescente ameaça devido às emissões de poluentes advindas de atividades antrópicas, como o crescimento populacional, urbanização, expansão agrícola, desmatamento e mineração (LACHER e GOLDSTEIN, 1997; SINGH e SINGH, 2017). Nesse contexto, a ecotoxicologia surge como uma alternativa crucial para compreender e lidar com os efeitos dos poluentes no meio ambiente e nos organismos expostos. Diante do impacto cada vez maior das atividades humanas na saúde dos ecossistemas, a ecotoxicologia fornece ferramentas e métodos para identificar, quantificar e avaliar esses efeitos, auxiliando na previsão, mitigação e prevenção de danos ambientais (LACHER e GOLDSTEIN, 1997; SCHIRMER et al., 2010; NIVA et al., 2016; FORD et al., 2021). Ao avaliar a toxicidade dos contaminantes e seus efeitos nos organismos vivos e no ecossistema como um todo, a ecotoxicologia contribui para o desenvolvimento de estratégias de gestão ambiental mais eficazes e para a formulação de políticas e legislações para a proteção ambiental (NIVA et al., 2016). O Brasil, neste contexto, emerge como um exemplo prático da evolução normativa da ecotoxicologia nas últimas três décadas, especialmente no que se refere às regulamentações com foco prospectivo, destacando-se o registro de agrotóxicos, com o uso de testes ecotoxicológicos em organismos-alvo e não alvo empregados ao longo do processo de liberação (NIVA et al., 2016; SISINNO et al., 2019).

De modo geral, dentre os distintos ramos da ecotoxicologia, há o uso potencial de avaliações agudas, como os testes de fuga e contato, e avaliações crônicas, que utilizam biomarcadores relacionados a alterações histopatológicas e quantificação da expressão de proteínas ou dos subprodutos, envolvidas em respostas toxicológicas celulares de organismos (SCHIRMER et al., 2010; DALMOLIN et al., 2020).

Ao contrário dos testes agudos, que levam apenas algumas horas, os testes crônicos possuem respostas mais demoradas, mas representam os possíveis efeitos crônicos que os compostos podem gerar durante a vida ou até mesmo através das gerações do organismo

avaliado, avaliando efeitos cumulativos e de longo prazo das exposições (ABNT, 2016; OLIVEIRA FILHO et al., 2017; DAAM et al., 2020).

Estes ensaios empregam organismos representativos do ambiente, como plantas, invertebrados aquáticos ou peixes, como potenciais bioindicadores, sendo expostos a concentrações subletais da substância estudada ao longo do tempo. Dentre os campos de estudo, a ecotoxicologia terrestre é um ramo que se concentra na avaliação dos efeitos de substâncias tóxicas ou poluentes no meio ambiente edáfico, focando na avaliação dos impactos de substâncias no solo e nos organismos que nele habitam, incluindo minhocas (CALISI et al., 2019; NIVA e BROWN, 2019; SISINNO et al., 2019).

As minhocas desempenham um papel fundamental na qualidade do solo, contribuindo para a sua estrutura e fertilidade. Como organismos escavadores, elas promovem a aeração e a drenagem do solo e são responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, transformando resíduos em nutrientes disponíveis para as plantas. As espécies de minhocas *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei* se alimentam principalmente de resíduos orgânicos e, durante esse processo alimentar, elas também acabam ingerindo partículas de solo. Conseqüentemente, essas minhocas ficam expostas à contaminação do solo em que vivem (NIVA e BROWN, 2019). Portanto, qualquer perturbação no equilíbrio ambiental do solo pode afetar significativamente a população e a atividade das minhocas, o que, por sua vez, pode ter impactos sequenciais no ecossistema como um todo (NIVA et al., 2016; MACCARI et al., 2016; NIEMEYER et al., 2017; CASTAÑO-SÁNCHEZ et al., 2020; BI et al., 2021; FORD et al., 2021; EDWARDS e ARANCON, 2022).

Ao utilizar minhocas como modelos em estudos de ecotoxicologia terrestre, podemos avaliar os efeitos de contaminantes como pesticidas, metais e poluentes orgânicos no solo e nos organismos (ZHAO et al., 2022). As minhocas são sensíveis a mudanças no ambiente e respondem de maneira mensurável à exposição a esses contaminantes, fornecendo informações valiosas sobre a saúde do solo e os riscos associados à contaminação (CASTAÑO-SÁNCHEZ et al., 2020; EDWARDS e ARANCON, 2022).

A exposição crônica ou subcrônica destes animais aos poluentes permite, inclusive, observar a resposta de biomarcadores, que são indicadores mensuráveis de processos biológicos ou respostas a estímulos ambientais, como enzimas, proteínas ou outros compostos, refletindo a reação dos organismos ao estresse ou à presença de substâncias tóxicas (RODRIGUEZMOZAZ et al., 2005; HANSEN, 2008; TEREKHOVA, 2022). Essas respostas são avaliadas por meio da observação da geração de espécies reativas ao oxigênio (ERO) e da ativação de mecanismos de proteção celular, como a ação antioxidante. As ERO referem-se a

moléculas altamente reativas contendo oxigênio, como os radicais livres, que podem ser geradas durante processos metabólicos celulares normais ou em resposta a condições estressantes, como a presença de xenobiontes. O aumento na produção de ERO pode indicar estresse oxidativo, que é o processo de desequilíbrio no organismo entre a produção dessas espécies e da capacidade antioxidante do organismo para neutralizá-las (VALKO et al., 2006; SAMET e WAGES, 2018; MOLDOGAZIEVA et al., 2023; RAN et al., 2023).

Os marcadores de estresse oxidativo, como espécies reativas de oxigênio (ERO), peróxidos, carbonilação de proteínas e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são utilizados para avaliar o equilíbrio redox nas células. O TBARS mede a peroxidação lipídica, a carbonilação de proteínas indica danos oxidativos em proteínas e as ERO são espécies altamente reativas que podem causar danos a vários componentes celulares. Quando esses marcadores estão elevados em organismos expostos a contaminantes ou condições adversas, isso indica que o estresse oxidativo está prejudicando a integridade celular e o funcionamento normal desses organismos (DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022; MOLDOGAZIEVA et al., 2023; SALEH et al., 2023), levando a peroxidação lipídica, oxidação de algumas enzimas e degradação de proteínas (HALLIWELL, 2022). Ainda, em casos mais graves, o desequilíbrio pode levar a um efeito cascata com o surgimento de ações mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas, além de toxicidade crônica e aguda aos organismos expostos (SÁNCHEZ-BAYO, 2012; TANG et al., 2019; SONG et al., 2021; GAN et al., 2022; PARRA-ARROYO et al., 2022).

As interações observadas são especialmente relevantes se considerado o impacto significativo que os compostos podem exercer sobre as atividades antioxidantes em organismos vivos. Biomarcadores como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e as glutations, entre outras, desempenham um papel crucial na proteção celular contra os danos causados pela oxidação, destacando a importância de estudos que realizem estas avaliações (VALKO et al., 2006; BARBOSA et al., 2010; SALEH et al., 2023). As enzimas antioxidantes atuam neutralizando ERO. A SOD converte o superóxido em peróxido de hidrogênio, enquanto a CAT e outras enzimas, como a glutaciona peroxidase (GPx), metabolizam o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022; VALKO et al., 2006). A série das glutations, como a glutaciona redutase (GR) e a glutaciona peroxidase (GPx), também auxiliam na regeneração da glutaciona, que é um dos principais antioxidantes celulares (OJO et al., 2016; LEWANDOWSKI et al., 2018; DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022; GAN et al., 2022). Essas enzimas e a capacidade antioxidante total desempenham papéis relevantes na proteção das células contra o estresse oxidativo (LIU et al., 2023). Esses mecanismos colaboram para

manter a homeostase redox e proteger as células contra o estresse oxidativo (GUDETA et al., 2023).

Além da análise das enzimas antioxidantes, é importante avaliar marcadores como Capacidade antioxidante contra radicais peróxil (ACAP), espécies reativas de oxigênio (ERO), peróxidos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) para detectar estresse oxidativo e peroxidação lipídica, que é um dos efeitos do processo de estresse oxidativo. Adicionalmente, a medição da atividade das colinesterases como a acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) fornece informações sobre a função neurotransmissora. Esses indicadores complementam a avaliação das enzimas antioxidantes, oferecendo uma visão abrangente do estado celular e do funcionamento neurológico dos organismos (SEGAT et al., 2015; MACCARI et al., 2016; NIEMEYER et al., 2017; SEGAT et al., 2020; SIMÕES et al., 2020; TIAN et al., 2021; ZHAO et al., 2022).

Estes marcadores são extremamente sensíveis a contaminantes e participam diretamente no metabolismo antioxidante dos animais e diversos estudos vêm utilizando-os afim de determinar o potencial de uso como bioindicadores de qualidade ambiental (TAN et al., 2014; MARKAD et al., 2015; LAMMERTYN et al., 2021; BAPAT et al., 2022; BORGES et al., 2022). Boa parte desses marcadores, quando avaliados em ambiente terrestre, utilizam minhocas como organismos-teste. As minhocas são organismos bem adaptados a solos férteis, prestam diversos serviços ecológicos, auxiliam na degradação de poluentes e são boas indicadoras de qualidade dos solos (UWIZEYIMANA et al., 2017; NADOLNY et al., 2020).

Diante dos estudos citados, a avaliação de biomarcadores é uma ferramenta valiosa na pesquisa ambiental e toxicológica, permitindo a detecção precoce de danos celulares causados pelo estresse oxidativo. Essa informação é crucial para entender os efeitos de exposições ambientais ou condições fisiológicas em organismos, proporcionando percepções importantes sobre as respostas ao estresse e os potenciais impactos na saúde. Desta forma, a ecotoxicologia terrestre e o uso de indivíduos da macrofauna edáfica possuem papel importante para a indicação e predição do comportamento de contaminantes e seus efeitos no ambiente e em organismos. Ainda, as minhocas vêm se mostrando como boas bioindicadoras de contaminação e podem ser empregadas em testes que utilizam biomarcadores para a demonstração de ação-resposta a determinados compostos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

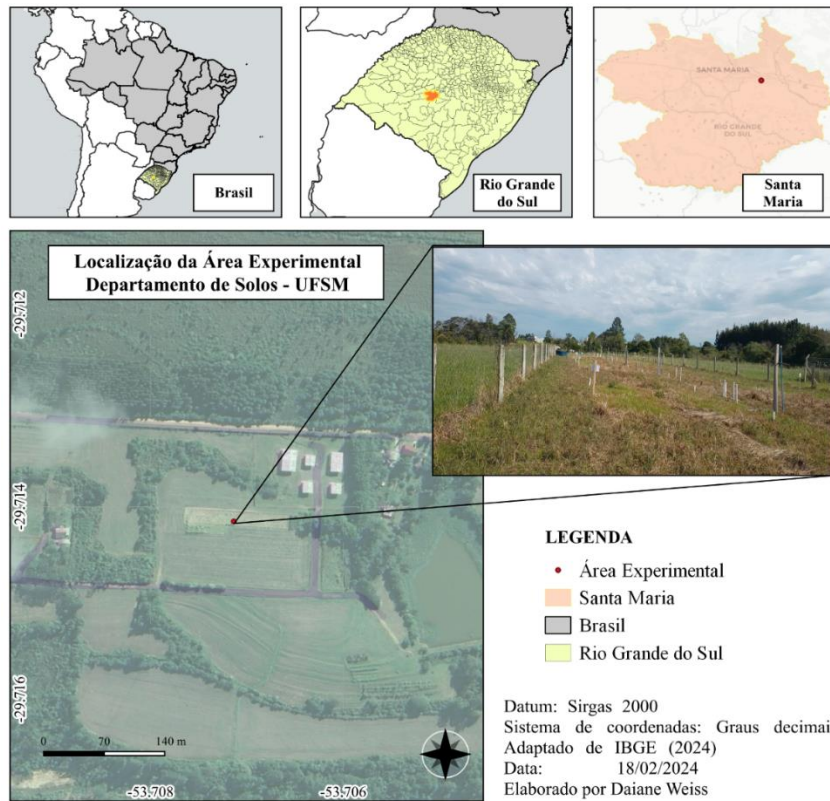
O presente estudo constitui uma pesquisa experimental que envolveu a exposição de organismos-teste a solos previamente adubados com dejetos suínos e bovinos. Os ensaios realizados visaram obter respostas relacionadas à atividade antioxidante, estresse oxidativo e avaliação das ações enzimáticas e neurotóxicas em minhocas. A execução dos ensaios seguiu os padrões e diretrizes técnicas das normas ASTM E1676 (ASTM, 2021) e ISO 17512-1 (ABNT, 2011), especificamente para a coleta de amostras de solo, preparo dos organismos-teste, períodos de aclimação, condução dos testes agudos e crônicos, e coleta de amostras biológicas. Especificações e detalhes técnicos sobre os métodos realizados são descritos a seguir, sendo: Itens 4.1 e 4.2 preparo metodológico do experimento e dos organismos; Item 4.3 determinação dos biomarcadores; e Item 4.4 procedimento de tratamento e análise dos dados obtidos.

4.1 COLETA E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO UTILIZADO

Os testes foram conduzidos utilizando amostras de solo coletadas na área experimental da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), localizada no município de Santa Maria, em coordenadas geográficas de latitude 29°43'12''S e longitude 53°43'4''W, conforme Figura 2.

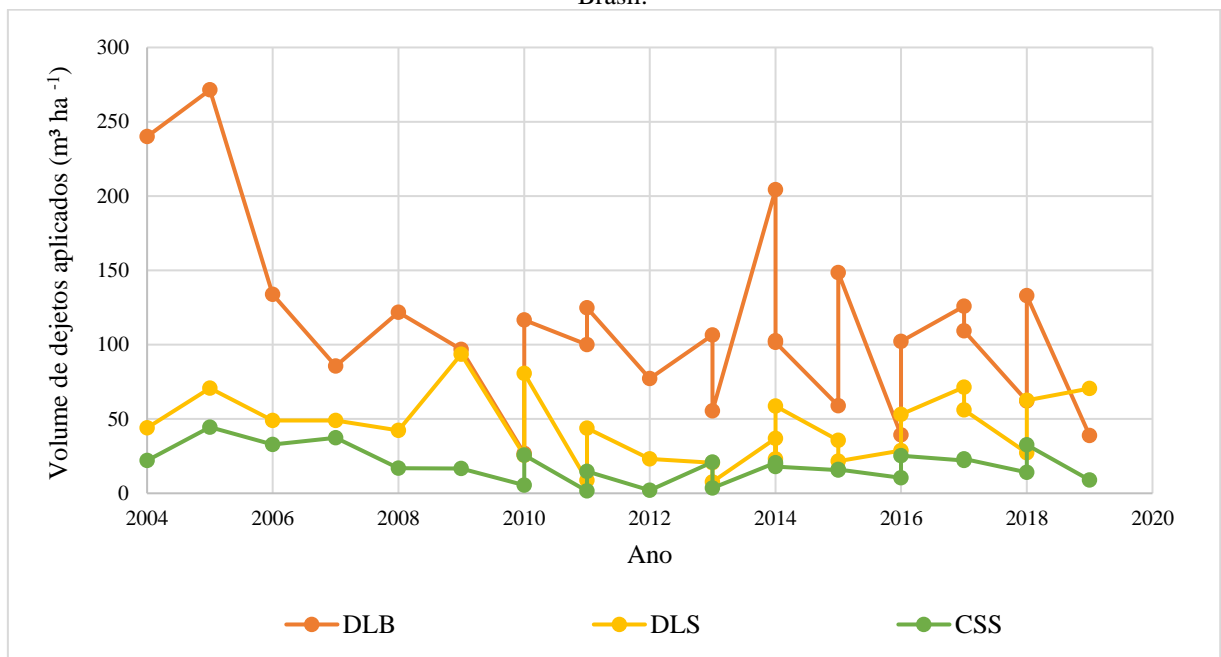
O local abriga um experimento em curso há 19 anos, no qual são aplicados dejetos de forma programada. De 2004 a 2010, os dejetos eram aplicados apenas uma vez por ano, antes do plantio das culturas de verão, sem aplicações durante o inverno. A partir de 2010, a aplicação passou a ser realizada duas vezes por ano, antes do estabelecimento das culturas de inverno e de verão. Após a aplicação de dejetos, foram cultivadas culturas agrícolas anuais, como milho, aveia, feijão e triticale, com a quantidade de dejetos ajustada conforme a necessidade específica de cada cultura. Ressalta-se que não houve aplicação de dejetos antes da coleta do solo para uso no presente estudo, uma vez que a última aplicação ocorreu em 2019 e a coleta de amostras ocorreu em 2023. A Figura 3 apresenta informações sobre o volume de aplicações no período de 2004 a 2019 para cada um dos tratamentos: dejetos líquidos de suínos (DLS), dejetos líquidos de bovinos (DLB) e cama sobreposta de suínos (CSS). É importante destacar que, durante todo o período, não houve aplicação de dejetos no grupo controle (CT).

Figura 2 – Localização da área experimental do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2024.



Fonte: Autora (2024).

Figura 3 – Volume de dejetos aplicados no decorrer do período de avaliação, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.



Fonte: Autora (2024).

A coleta das amostras de solo seguiu as diretrizes estabelecidas para a amostragem com pá-de-corte, conforme especificado no Manual de Calagem e Adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (SBCS, 2016). Foram realizadas adaptações nas técnicas de coleta para se adequarem às condições específicas do local, levando em consideração as características do terreno, conforme preconizado em norma (ASTM, 2021). Para fins de ensaios ecotoxicológicos, este solo pode ser categorizado como solo natural do tipo 1, solo de referência ou solo de locais potencialmente tóxicos (ASTM, 2021).

As amostras foram coletadas em 5 locais para cada tratamento, numa profundidade de 0 a 20 cm, excluindo a serrapilheira, posteriormente homogeneizadas e armazenadas em sacos plásticos. Após a coleta, as amostras foram submetidas ao processo de secagem ao ar e peneiradas através de malha de 2 mm. Os atributos químicos avaliados foram: pH em H₂O (relação 1:1), índice SMP, teores de P e K extraídos por Mehlich⁻¹ (relação 1:10), Al, Ca e Mg trocáveis, extraídos por KCl 1 mol L⁻¹, e matéria orgânica determinada pelo método de combustão úmida. As determinações foram realizadas, segundo Tedesco et al. (1995), no Laboratório de Manejo e Conservação do Solo da Universidade Federal de Santa Maria. Também foi determinado o teor de argila das amostras pelo método do densímetro (Tedesco et al., 1995). A partir desses dados, foi calculada a soma de bases, a CTC efetiva, a CTC em pH 7,0, a saturação por bases (V) e por Al (m),

Já os teores de metais traço no solo foram determinados ICP OES (espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente) e ICP-MS (espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente) (SMICHOWSKI et al., 2005) no laboratório da PUC-Rio, no Rio de Janeiro.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, ORGANISMOS E EXECUÇÃO DOS TESTES

O delineamento experimental utilizado nos testes foi o de blocos inteiramente casualizados (DIC), tendo como tratamentos: controle (CT), dejetos líquidos de suínos (DLS), dejetos líquidos de bovinos (DLB) e cama sobreposta de suínos (CSS), com duração de 28 dias. Não houve mistura ou proporcionalização de solos. A capacidade máxima de retenção de água do solo (CMRA) foi determinada através do método de Monteiro e Frighetto (2000), utilizando água deionizada.

Os organismos-testes expostos aos diferentes tratamentos foram minhocas da espécie *Eisenia andrei*, com peso variando entre 300 e 600 mg, as quais passaram por um período de

aclimação de 15 dias em recipientes de polietileno com um volume de 50 litros, contendo esterco bovino, conforme indicação das normas da ABNT (2011) e OECD (2016). Após a aclimação inicial, as minhocas foram pesadas e colocadas em amostras de solo controle por 24 horas, permitindo sua ambientação e esvaziamento do conteúdo intestinal. Em seguida, foram realizados os preparativos dos recipientes para a introdução dos animais e início dos testes.

Os ensaios foram executados em quadruplicada, utilizando 500 g de solo e 10 minhocas adultas com clitelo desenvolvido por réplica. O cultivo foi mantido em temperatura ambiente, fotoperíodo natural, com umidade de 50% da CMRA (ABNT, 2011; OECD, 2016) e alimentação a cada 7 dias. O alimento fornecido foi preparado a partir de restos vegetais domésticos de frutas, legumes e hortaliças, misturados a folhas e galhos secos, sendo administrado para todos os tratamentos em iguais quantidades.

Os testes ecotoxicológicos foram realizados em recipientes de polietileno com capacidade de 1 litro, recobertos com tampas perfuradas para permitir a entrada de ar, evitando a fuga dos animais. Houve a pesagem dos animais na data de início de cada teste contemplando a coleta de material biológico em 14 e 28 dias de exposição. Nestes períodos, cinco animais foram coletados, lavados com água deionizada e posteriormente congelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização dos bioensaios. Os testes foram conduzidos no Laboratório de Toxicologia Aquática (LABTAQ) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). De forma geral, os ensaios seguiram o fluxograma apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Fluxograma metodológico da montagem do experimento realizado com minhocas.



Fonte: Autora (2024).

4.3 BIOENSAIOS E ANÁLISES ECOTOXICOLÓGICAS

4.3.1 Preparo das amostras – proteína para padronização

Para a preparação das amostras, foram 50 mg de tecido de cada organismo e homogeneizados com tampão TRIS-HCl 50 mM em pH de 7,5. Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado por 10 minutos a 3.000 G. O sobrenadante foi empregado na determinação dos seguintes biomarcadores: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), carbonilação de proteínas, espécies reativas de oxigênio (ERO), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), capacidade antioxidante contra radicais peroxil (ACAP), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase (GR), glutatona S-transferase (GST), acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE).

4.3.2 Determinação da resposta antioxidante e dano oxidativo

A avaliação da resposta antioxidante e estresse oxidativo foi realizada por meio da análise de ACAP, ERO, H₂O₂, carbonilação de proteínas e TBARS.

A ACAP e ERO foram determinadas pelo método descrito por Amado et al. (2009), que consiste na avaliação e leitura dos níveis de ERO na presença e ausência de um gerador de radicais peroxil a partir de fluorescência. Primeiro, adicionou-se 10 µl de homogeneizado e 130 µl tampão TRIS HCl 10 mM, pH 7,4 e foi realizada a leitura. Após a leitura, houve a adição de 10 µl de ABAP 4 mM, aguardando 10 minutos até a adição de 10 µl de solução estoque de Dicloro 1 mM. Em seguida, realizam-se leituras em leitor de placas (488 nm excitação, 525 nm emissão) a cada 5 minutos, por 30 minutos. Durante todo o procedimento, as amostras foram mantidas protegidas da luz, por ser um método de fluorescência. Por fim, calcula-se a diferença entre as áreas relativas no programa GraphPad Prism 9, sendo que quanto maior a área, menor a capacidade antioxidante (AMADO et al., 2009).

A carbonilação de proteína foi analisada utilizando o método de Yan et al. (1997), com adaptações. O sobrenadante foi cuidadosamente removido, deixando o pellet aderir ao tubo. O pellet foi lavado com 50 µl de acetato de etila com etanol (solução 1:1) e os tubos foram virados para baixo para evaporar. Após a secagem, do pellet foi resuspenso no tubo, 250 µl de tampão SDS 3% foram adicionados e agitados até a dissolução do pellet. Em cada poço da placa, foram pipetados 200 µl da solução obtida, com três poços destinados ao branco, contendo 200 µl de

SDS 3%. A leitura foi realizada em leitor de placas a 370 nm e os resultados foram expressos em nmol de carbonil/ por mg de proteína.

O H_2O_2 foi determinado a partir do método de Velikova et al. (2000). As amostras foram desproteinizadas utilizando ácido tricloroacético (TCA) a 10% (1:1). Posteriormente, 50 μ l das amostras desproteinizadas, 50 μ l de tampão TFK a 10 mM (pH 7) e 100 μ l de iodeto de potássio (KI) foram adicionados às placas. A leitura foi conduzida a 400 nm e os resultados foram expressos em μ mol/mg de proteína.

O nível de produtos de peroxidação lipídica foi avaliado através da determinação de TBARS através do método de Buege e Aust (1978), com adaptação para ensaio em microplacas. A leitura foi realizada no leitor de placas em 532 nm. Os níveis de TBARS forma expressos em nmol malondialdeído (MDA) mg^{-1} de proteína.

4.3.3 Determinação da resposta enzimática

A avaliação da resposta e defesa enzimática antioxidante do organismo foi conduzida por meio da análise das enzimas SOD, CAT, GR, GPx e GST.

O equilíbrio redox foi determinado a partir da quantificação de SOD pelo método descrito por Dieterich et al. (2000). A leitura foi realizada a 570 nm e os resultados foram expressos em unidades de superóxido dismutase (U SOD) mg^{-1} de proteína.

A atividade da enzima CAT, responsável pela decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (H_2O) e oxigênio molecular (O_2), foi avaliada pelo método de Hadwan e Abed (2016). A leitura foi realizada em 374 nm, e os resultados foram expressos em Unidades de Catalase (U CAT) mg^{-1} de proteína.

A atividade GR foi realizada através do método de Paglia et al. (1967). Na microplaca, foram pipetados 20 μ l de amostras junto com 250 μ l de sistema, realizando em seguida a leitura em 340 nm. Após, foi efetuado a adição de substrato de GSSG, realizando a leitura cinética por 2 minutos, em intervalos de 30 segundos. Os resultados foram expressos em U mL GSSG minuto mg^{-1} de proteína.

A capacidade antioxidante foi determinada a partir da GPx através do método de Paglia et al. (1967). Na microplaca, foram pipetados 10 μ l de amostra e 260 μ l do sistema, enquanto o controle (branco) foi preparado com 10 μ l de H_2O . O equipamento foi zerado com água, seguido pela leitura em 340 nm. Em seguida, 30 μ l de substrato (H_2O_2 4 mM) foram adicionados, e uma nova leitura foi realizada durante 2 minutos, a cada 30 segundos. Os resultados foram expressos em U mL GS por minuto por mg de proteína.

A defesa celular contra os danos causados por substâncias tóxicas e reações de oxidação foi medido através da GST pelo método Habig, Pabst e Jakoby (1974). Na placa, foram pipetados 20 μ l de amostra, 20 μ l de H₂O Milli-Q, 10 μ l de GSH 100 mM e 240 μ l do sistema. Antes da leitura, 10 μ l de CDNB 20 mM foram adicionados, e a leitura foi realizada em 340 nm durante 2 minutos e 30 segundos, em intervalos de 30 segundos, a uma temperatura de 37 °C. Os resultados foram expressos em U mL GS-DNB por minuto por mg de proteína.

4.3.4 Determinação da resposta neurotóxica

A avaliação da resposta neurotóxica foi efetuada a partir das enzimas AChE e BChE, ambas envolvidas na regulação da concentração de acetilcolina no organismo.

A avaliação da AChE ocorreu através do método de Ellman et al. (1961). As absorvâncias foram determinadas a 412 nm durante 2 minutos e 30 segundos, com leituras efetuadas em intervalos de 30 segundos. A atividade enzimática foi expressa em μ mol de AcSCh hidrolisada min por mg^{-1} proteína.

A análise da BChE foi efetuada de forma semelhante à da AChE, utilizando o método de Ellman et al. (1961), já descrito anteriormente, com a modificação do substrato utilizado, adicionando o iodeto de butirilcolina 1mM como substrato para o início da reação. As absorvâncias foram determinadas a 412 nm durante 2 minutos e 30 segundos, com leituras efetuadas em intervalos de 30 segundos. A atividade enzimática foi expressa em μ mol de BcSCh hidrolisada min mg^{-1} proteína.

4.3.5 Determinação de proteínas

A determinação de proteínas foi conduzida por espectrofotometria. Em tubos de ensaio, albumina de soro bovino foi adicionada como padrão, juntamente com 10 μ L das diversas amostras. A absorvância foi medida a 595 nm em um espectrofotômetro UV-VIS, seguindo a metodologia proposta por Bradford (1976).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística, foi utilizando o pacote estatístico R (R CORE TEAM, 2024). A normalidade e homogeneidade dos dados foram avaliadas através dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Quando os dados não atenderam aos pressupostos, houve a realização

do teste de Kruskal Wallis e os dados que atenderam os pressupostos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as comparações post hoc foram realizadas usando o teste de Tukey. O nível de significância foi de $P \leq 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DOS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE DEJETOS DE ANIMAIS NOS ATRIBUTOS DO SOLO

As análises de solo representam os resultados de diferentes tratamentos de dejetos aplicados ao solo e suas consequências sobre diversas características desse. O solo utilizado é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico arênico (EMBRAPA, 2021), correspondente ao *Typic Hapludalf* (SOIL SURVEY STAFF, 2022), com as seguintes características físicas: 108 g kg⁻¹ de argila, 183 g kg⁻¹ de silte e 709 g kg⁻¹ de areia.

De forma geral, os tratamentos com dejetos líquidos de suínos (DLS), dejetos líquidos de bovinos (DLB) e cama sobreposta de suínos (CSS) têm impactos diferentes nas propriedades do solo, com a cama sobreposta de suínos mostrando os maiores efeitos, tanto em termos qualitativos quanto quantitativos.

Observa-se que o pH do solo variou entre os tratamentos, com valores oscilando de 5,15 em CT a 5,62 na CSS. No que diz respeito aos nutrientes, os tratamentos com dejetos apresentam maiores teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), nitrogênio total (NT), carbono total (COT) e micronutrientes como cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn) em comparação com o CT. Especificamente, o DLB e o DLS apresentam aumentos significativos nos teores de P, K e micronutrientes em relação ao CT, indicando uma tendência de aumento na fertilidade do solo após a aplicação desses dejetos. No entanto, a CSS se destacou como o tratamento com os maiores teores de nutrientes, especialmente de Ca e K, além de apresentar o pH mais elevado. Isso sugere maior capacidade de retenção de nutrientes, de suporte e fertilidade, como indicado pela CTC e pela saturação de bases dos solos.

Em termos de matéria orgânica, observa-se um aumento nos teores de carbono total (COT) nos tratamentos com dejetos, especialmente na CSS, o que pode estar relacionado à deposição de maiores níveis de matéria orgânica nesse ambiente. Além disso, os teores de Cu, Zn e Mn aumentaram nos tratamentos com dejetos, com os maiores valores observados na CSS, indicando um potencial acúmulo desses elementos no solo após a aplicação.

A Tabela 2 apresenta as características químicas dos tratamentos, sendo: Controle (CT), Dejetos Líquidos de Bovinos (DLB), Cama Sobreposta de Suínos (CSS) e Dejetos Líquidos de Suínos (DLS).

Tabela 2 – Resultados das análises de solos com e sem histórico de aplicação de dejetos, Santa Maria – RS, 2024.

Parâmetro	Unidade de Medida	CT	DLB	DLS	CSS
Potencial Hidrogênio	-	5,150	5,130	5,240	5,620
Saturação de bases	(%)	51,300	60,600	63,100	66,400
Nitrogênio Total	mg kg ⁻¹	0,810	1,290	1,100	1,530
Carbono Total	mg kg ⁻¹	8,050	12,000	10,950	17,940
CTC _{pH7}	cmolc kg ⁻¹	5,800	7,900	7,100	9,100
CTC _{efetiva}	cmolc kg ⁻¹	3,050	4,800	4,500	6,100
Fósforo	mg kg ⁻¹	15,700	20,700	27,000	21,250
Potássio	mg kg ⁻¹	35,000	137,000	109,000	151,000
Cálcio	cmolc kg ⁻¹	1,900	2,800	2,700	4,100
Magnésio	cmolc kg ⁻¹	0,900	1,600	1,500	1,500
Alumínio	cmolc kg ⁻¹	0,000	0,000	0,000	0,000
Cobre	mg kg ⁻¹	0,770	1,720	3,920	6,160
Zinco	mg kg ⁻¹	1,36	7,55	8,91	22,29
Manganês	mg kg ⁻¹	64,760	81,810	80,870	95,420
Níquel	mg kg ⁻¹	0,011	0,011	0,045	0,011
Cromo hexavalente	mg kg ⁻¹	0,031	0,030	0,030	0,030
Cádmio	mg kg ⁻¹	0,002	0,002	0,002	0,002
Chumbo	mg kg ⁻¹	0,053	0,042	0,048	0,041
Cobalto	mg kg ⁻¹	0,015	0,013	0,013	0,014
Sódio	mg kg ⁻¹	0,202	0,622	0,339	0,544
Bromo	mg kg ⁻¹	0,411	0,400	0,413	0,908
Iodo	mg kg ⁻¹	0,080	0,081	0,109	0,231
Bário	mg kg ⁻¹	0,205	0,174	0,204	0,251
Urânio	mg kg ⁻¹	0,003	0,002	0,004	0,003
Vanádio	mg kg ⁻¹	0,122	0,074	0,069	0,069
Mercúrio	mg kg ⁻¹	0,009	0,009	0,009	0,009
Lítio	mg kg ⁻¹	0,010	0,007	0,009	0,009
Estrôncio	mg kg ⁻¹	0,008	0,009	0,008	0,016
Bromo	mg kg ⁻¹	0,411	0,400	0,413	0,908
Antimônio	mg kg ⁻¹	0,003	0,003	0,004	0,003
Arsênio	mg kg ⁻¹	0,022	0,019	0,019	0,024

Legenda: Potencial Hidrogênio (pH); Saturação de bases (SB); Nitrogênio Total (NT); Carbono Total (CoT); Capacidade de troca catiônica (CTC); Fósforo (P); Potássio (K); Cálcio (Ca); Magnésio (Mg); Alumínio (Al); Cobre (Cu); Zinco (Zn); Manganês (Mn); Níquel (Ni); Cromo hexavalente (Cr); Cádmio (Cd); Chumbo (Pb); Cobalto (Co); Sódio (Na); Bromo (Br); Iodo (I); Bário (Ba); Urânio (U); Vanádio (V); Mercúrio (Hg); Lítio (Li); Estrôncio (Sr); Bromo (Br); Antimônio (Sb); Arsênio (As).

Fonte: Autora (2024).

Em suma, os dados revelam variações nos parâmetros analisados entre os diferentes tratamentos. Os tratamentos com dejetos (DLB, DLS e CSS) apresentaram aumentos significativos nos teores de P, K, Ca, Mg, COT e Na em comparação ao tratamento CT, apresentando os seguintes aumentos: 1,3 a 1,7 vezes para P; de 3 a 4 vezes para K; 1,4 a 2,2 vezes para o Ca; aumentos de 1,6 a 1,7 para Mg; 1,3 a 1,9 vezes para o carbono total (CoT) e de 1,6 a 3,0 vezes mais de Na. Para os metais e metaloides, observa-se o mesmo comportamento, sendo que os teores de: Mn foram 1,2 a 1,4 vezes maiores; Cu foram de 2,2 a 8,0 vezes; Zn de 5,5 a 16,3 vezes; Ni de 1,0 a 4,0 vezes; Sr e Br de 1,0 a 2,2 vezes maiores; I variou de 1,0 a 2,8 vezes.

Ao comparar esses valores com os limites estabelecidos pela legislação brasileira que tratam da qualidade do solo, sendo em nível federal a Resolução CONAMA 420/2009 (BRASIL, 2024) e em nível estadual (Rio Grande do Sul) a Portaria FEPAM 84/2014 (FEPAM, 2024), verifica-se que os tratamentos não excedem esses limites em relação aos metais e metaloides passíveis de enquadramento. Entretanto, como apresentado na Tabela 3, CSS possui valores próximos aos de investigação para Zn estabelecidos pela Portaria FEPAM 84/2014.

Tabela 3 – Comparação dos parâmetros de interesse com os valores de referência e de investigação para a qualidade do solo dispostos na Resolução Conama 420/2009 e na Portaria Fepam 85/2014, Santa Maria – RS, 2024.

Parâmetro	Cu	Zn	Ni	Cr	Cd	Pb	Co	V	Hg	Sb	As
CT	0,77	1,36	0,011	0,031	0,002	0,053	0,015	0,122	0,009	0,003	0,022
DLB	1,72	7,55	0,011	0,03	0,002	0,042	0,013	0,074	0,009	0,003	0,019
DLS	3,92	8,91	0,045	0,03	0,002	0,048	0,013	0,069	0,009	0,004	0,019
CSS	6,16	22,29	0,011	0,03	0,002	0,041	0,014	0,069	0,009	0,003	0,024
Solo do tipo 3*	13	31	10	25	0,38	19	8	56	0,043	-	-
VR Prevenção*	60	300	30	75	1,3	72	25	-	0,5	2	15
VI Agrícola*	200	450	70	150	3	180	35	-	12	5	35
VI Residencial*	400	1000	100	300	8	300	65	-	36	10	55
VI Industrial*	600	2000	130	400	20	900	90	1000	70	25	150

* Portaria FEPAM 84/2014: Grupo de solo: Província Geomorfológica Depressão Periférica.

** Resolução Conama 420/2009.

Fonte: Autora (2024), adaptado de CONAMA (2009) e FEPAM (2014).

As variações nas concentrações destas substâncias entre os tratamentos podem ser atribuídas às diferentes composições dos dejetos animais aplicados. Cada tipo de dejetos

líquidos (bovinos e suínos) e a cama de suínos têm características distintas em termos de composição química, incluindo teores de metais. Portanto, a aplicação desses diferentes tipos de dejetos no solo pode resultar em diferentes níveis de acumulação desses metais, dependendo da quantidade e frequência de aplicação, das características do solo e do manejo agrícola.

No presente estudo, foram observadas variações nas propriedades do solo de acordo com o tipo de dejetos aplicados. Em CT, o solo apresentou características químicas e físicas básicas, com baixa disponibilidade de nutrientes essenciais para as plantas. Por outro lado, nos tratamentos com DLB, DLS e CSS, verifica-se uma notável melhoria na fertilidade do solo, com incrementos nos teores de nutrientes, matéria orgânica e saturação de bases.

O solo não fertilizado (CT) mostrou pH mais baixo em comparação com os solos com dejetos, principalmente se comparado a DLS e CSS. Por outro lado, o solo tratado com CSS apresentou pH mais alto, que pode ser atribuído à presença de materiais orgânicos compostos na cama. Os tratamentos com dejetos também exibiram maior capacidade de retenção de nutrientes, evidenciada pelos valores elevados de CTC. Isso pode estar relacionado aos maiores valores de saturação de bases nos tratamentos com dejetos (BALOTA et al., 2014), indicando maior disponibilidade de nutrientes essenciais, como potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em comparação com o solo CT. Em seu estudo, Zhao et al. (2014) indicaram que a aplicação de esterco aumentou significativamente a matéria orgânica do solo, os nutrientes totais e disponíveis, o pH e a condutividade elétrica, com as doses mais elevadas resultando em maiores aumentos. Além disso, houve um aumento na fração trocável de metais e na disponibilidade de metais no solo, com destaque para o aumento do acúmulo de Cd.

Os tratamentos com dejetos apresentaram teores mais altos de carbono total (CoT) (12, 10,95 e 17,94 mg L⁻¹ para DLB, DLS e CSS, respectivamente), em comparação com CT (8,05 mg L⁻¹), indicando o potencial de decomposição e liberação de carbono orgânico no solo. Isso se deve ao fato que os resíduos orgânicos fornecidos pela fertilização com dejetos contêm várias substâncias orgânicas (MORAES TAVARES et al., 2019) e a aplicação de esterco animal a longo prazo aumenta significativamente os estoques de carbono orgânico do solo (SOC). Rodrigues et al. (2021) destacam a importância de considerar o tipo de esterco animal, o tempo de aplicação e a profundidade do solo ao avaliar os efeitos das práticas de manejo no armazenamento de carbono do solo em ambientes subtropicais, tendo em vista que a aplicação continuada de dejetos, principalmente de dejetos de suínos adicionam mais SOC na camada superficial do solo (0-20 cm), se comparados a solos sem adubação. A aplicação contínua de dejetos também tende a ser vantajosa para o solo tropical, promovendo um balanço positivo de carbono no solo, sendo a aplicação de 50 m³ ha⁻¹ a melhor dose para promover a mineralização

da matéria orgânica, resultando na formação de substâncias húmicas e na melhoria do tamanho dos agregados (MORAES TAVARES et al., 2019).

A aplicação de esterco bovino, em comparação com o uso de dejetos suínos ou fertilizantes inorgânicos nitrogenados, contribui de forma mais significativa para melhorar as propriedades físico-químicas do solo e aumentar o conteúdo de nutrientes (SCHLEGEL et al., 2015), o que não foi comprovado pelo presente estudo, uma vez que o tratamento CSS obteve maiores teores de nutrientes e melhoramento das propriedades físico-químicas do solo se comparados ao DLB.

A aplicação prolongada de dejetos também aumenta a atividade redox das substâncias húmicas no solo (GUO et al., 2018). Após 10 anos de uso continuado de fertilizantes orgânicos, Loss et al. (2020) verificaram que houve o aumento significativo no teor de CoT nos microagregados com a aplicação de DLS, enquanto o uso de CSS aumentou o CoT nos macroagregados do solo. Além disso, há influência dos dejetos na associação entre as frações de óxido de manganês e fósforo (ANTHONIO et al., 2023) e tendência em aumentar a disponibilidade de fósforo, nitrogênio e outros macronutrientes e micronutrientes no solo (SCHLEGEL et al., 2015; FERREIRA et al., 2022). Esses processos são essenciais para a qualidade do solo, a ciclagem de nutrientes e a remediação de poluentes.

No presente estudo, os valores de P foram relativamente similares entre os tratamentos com dejetos, entretanto, foram superiores ao CT ($15,7 \text{ mg kg}^{-1}$), indicando que os três tratamentos os dejetos contribuíram de formas semelhantes nas concentrações de fósforo no solo. Nesse sentido, Zhang et al. (2014) descrevem que a aplicação de dejetos pode duplicar ou triplicar as concentrações de ortofosfato em solo, se comparados a solos com aplicações de fertilizantes químicos. As formas de aplicação, tipo de solo e tipos de dejetos aplicados também influenciam nos potenciais de adsorção e dessorção de P ao longo do tempo (WANG et al., 2019). O P disponível e sua forma não lábil aumenta em solos que recebem aplicações mais constantes de dejetos, principalmente na forma de esterco suíno compostado e esterco sólido suíno, associado a incrementos no teor de carbono orgânico e pH do solo (KODAOLU et al., 2023), corroborando com o constatado no presente estudo. DLS têm um efeito de redução da capacidade do solo de reter P, o que pode ser atribuído à presença elevada de P orgânico e menor capacidade de troca catiônica, o que impacta nas propriedades do solo, na distribuição de P e seu potencial de liberação dos agregados (KODAOLU et al., 2023). O acúmulo de fósforo (P) no solo após décadas de aplicações sucessivas de dejetos suínos em áreas agrícolas no Sul do Brasil foram observadas por (OLIVEIRA FILHO et al., 2020), que, embora não tenha havido aumento significativo no teor total de P no solo, houve um aumento marcante na forma

inorgânica de P, especialmente após 45 anos de aplicação de dejetos. Boitt et al. (2018) também observaram o acúmulo de P principalmente em formas inorgânicas e que o movimento vertical do P estava confinado à camada superficial do solo (0–20 cm) em um Latossolo após 15 anos de cultivo.

Para NT, os valores tiveram comportamento semelhante ao de P, sendo maiores nos tratamentos com aplicações de dejetos. Estudos demonstraram que a adubação de longo prazo com dejetos pode alterar os processos de mineralização, imobilização e nitrificação do N do solo, levando a maior imobilização de amônio (NH_4^+) (WANG et al., 2023). Além disso, a nitrificação, que é a conversão do amônio em nitrato (NO_3^-), tende a diminuir com a adubação prolongada. Entretanto, Li et al. (2023) citam que acúmulo de nitrato pode aumentar significativamente quando a taxa de aplicação de N excede 150 kg ha^{-1} e o uso prolongado de dejetos pode aumentar ainda mais o risco de lixiviação de nitratos. Ainda, a aplicação excessiva de dejetos com excesso de N pode resultar em diversos problemas, semelhantes aos observados para o fósforo (P), incluindo ainda emissões de gases de efeito estufa, lixiviação de nitratos e acidificação do solo (LI et al., 2023; WANG et al., 2023).

Os dejetos animais, quando aplicados ao solo na forma de DLB, DLS e CSS, aumentaram os teores de micronutrientes como Cu, Zn e Mn no solo. Para Cu, os teores variaram entre 0,77 a $6,16 \text{ mg L}^{-1}$, sendo que os tratamentos com dejetos apresentaram teores mais altos em comparação com o tratamento CT. Assim como o cobre, os tratamentos com dejetos mostram teores mais altos de zinco e manganês em comparação com o tratamento CT. Além disso, observa-se que os teores dos três metais foram crescentes de acordo com a ordem dos tratamentos (CT, DLB, DLS e CSS, respectivamente). A maior concentração desses elementos nos tratamentos com resíduos de suínos, especialmente na CSS, pode ser explicada pela dieta dos animais e pelas práticas de manejo adotadas nas instalações onde esses resíduos são produzidos (XU et al., 2019).

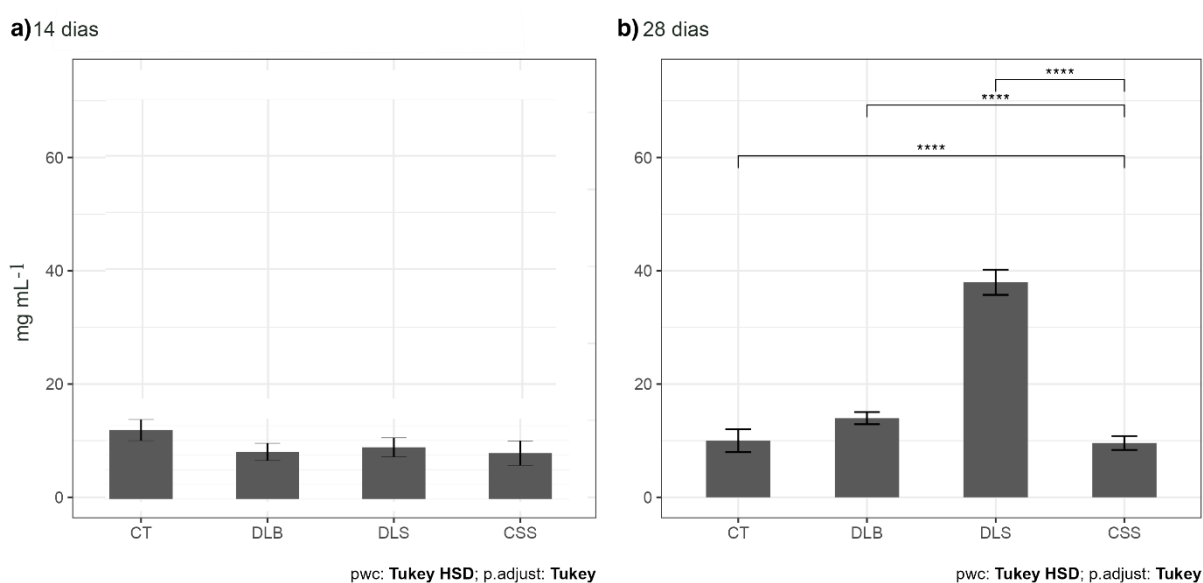
5.2 BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO, RESPOSTA ANTIOXIDANTE E NEUROTOXICIDADE EM MINHOCAS

Os dados obtidos descrevem os resultados dos biomarcadores, as respostas antioxidantes e ao estresse oxidativo, bem como respostas neurotóxicas desencadeadas pela exposição aos diferentes dejetos aplicados ao solo.

A capacidade antioxidante contra radicais peroxil (ACAP) revelam variações substanciais na resposta antioxidante dos organismos. Em 14 dias, não houve diferença

estatística entre os tratamentos, mesmo que CT tenha demonstrado uma maior capacidade de decomposição do peróxido de hidrogênio ($11,76 \pm 4,77 \text{ mg mL}^{-1}$). Enquanto isso, os tratamentos DLB, DLS e CSS demonstraram uma atividade de $8,03 \pm 3,92 \text{ mg mL}^{-1}$, $8,83 \pm 4,31 \text{ mg mL}^{-1}$ e $7,83 \pm 5,54 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente. Em 28 dias, CSS diferiu de CT, enquanto DLB e CSS diferiram entre si, bem como DLS e CSS, conforme resultados expressos na Figura 5. Durante o período de exposição, DLS, DLB e CSS obtiveram um aumento na atividade de ACAP em 330%, 74% e 23%, respectivamente, enquanto CT permaneceu estável no período.

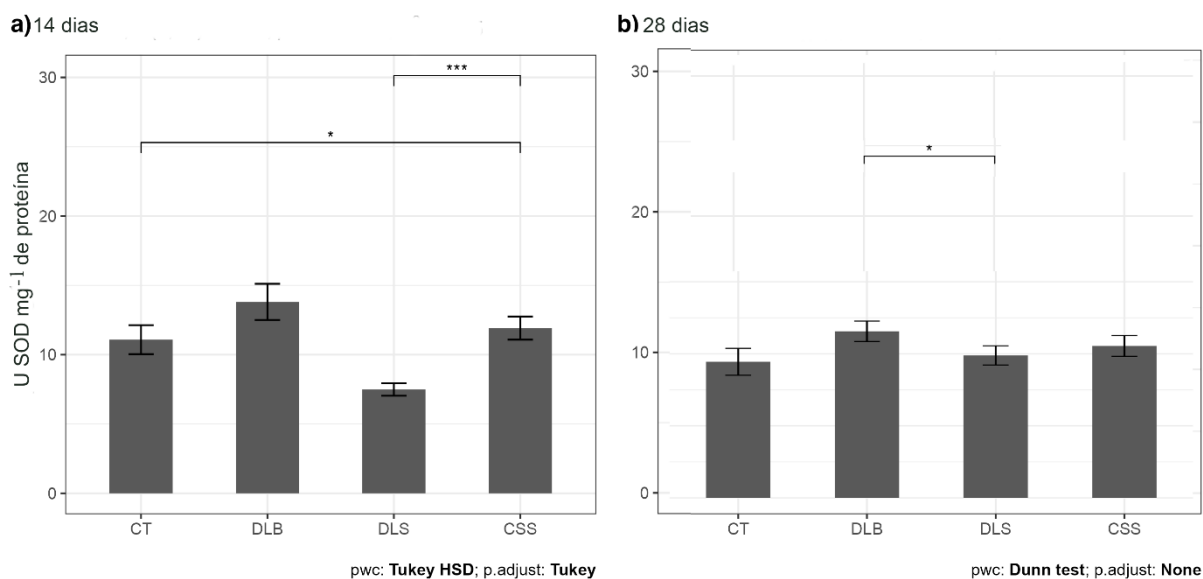
Figura 5 – Capacidade antioxidante contra radicais peróxil (ACAP) em minhocas *Eisenia andrei*.



Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

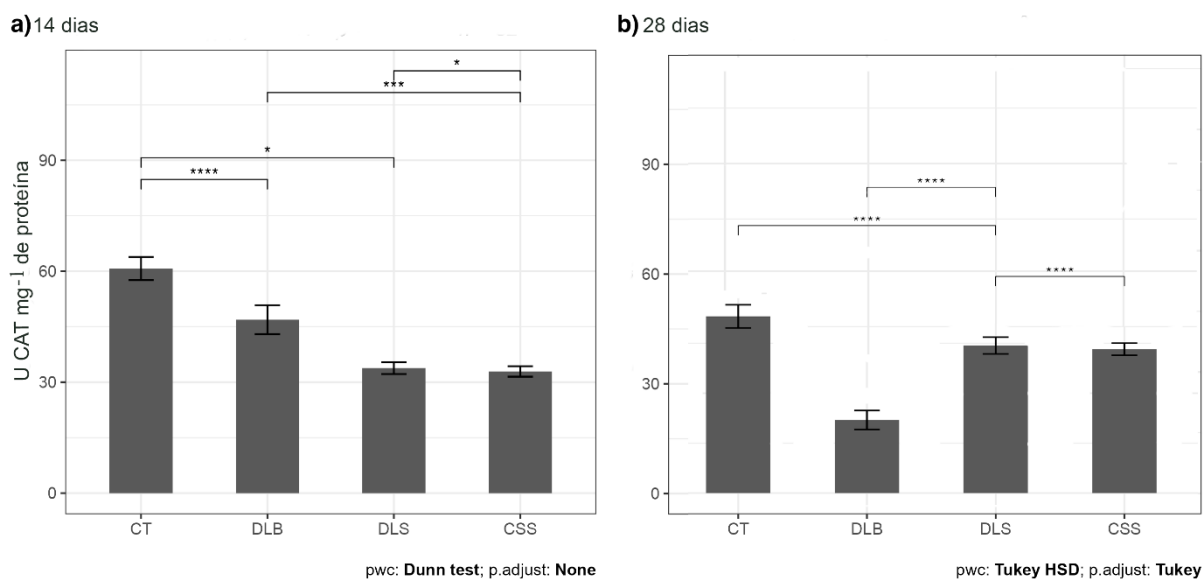
Os resultados da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) apresentaram flutuação ao longo do tempo e entre os diferentes tratamentos, conforme expressos na Figura 6. Em 14 dias, DLB apresentou o maior valor de SOD ($13,81 \pm 3,69 \text{ U SOD mg}^{-1}$ de proteína), seguido por CSS e CT ($11,92 \pm 2,36$ e $11,08 \pm 2,96 \text{ U SOD mg}^{-1}$ de proteína, respectivamente) e DLS ($7,49 \pm 1,26 \text{ U SOD mg}^{-1}$ de proteína). Nesse período, observou-se uma diferença significativa de CSS em comparação a CT, além de uma distinção entre CSS e DLS. Após 28 dias, apenas DLB e DLS mostraram diferenças significativas entre si. Durante a exposição, apenas DLS obteve um aumento de 132% nos níveis de SOD, enquanto que os demais tratamentos apresentaram uma redução nos teores de 12% a 16%.

Figura 6 – Superóxido dismutase (SOD) em minhocas *Eisenia andrei*.

Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

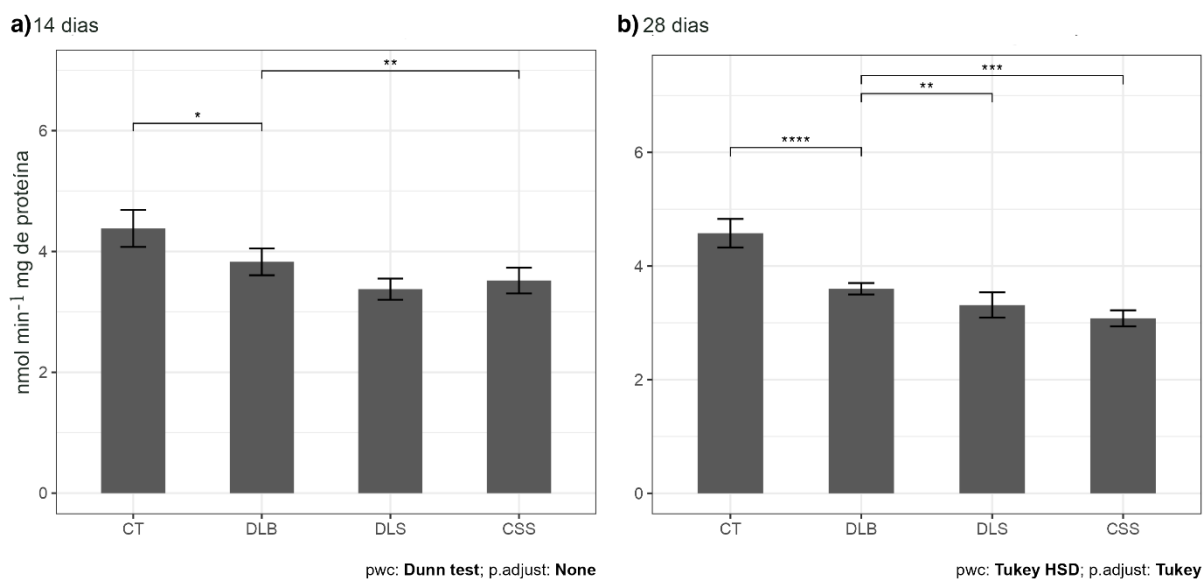
Os resultados obtidos para a enzima catalase (CAT) demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes tratamentos e períodos avaliados (Figura 7). Em 14 dias, CT e DLB demonstram uma atividade mais elevada de CAT, sendo $60,74 \pm 8,85$ U CAT mg⁻¹ de proteína e $46,90 \pm 11,08$ U CAT mg⁻¹ de proteína, respectivamente, enquanto que CSS e DLS mostram uma atividade mais baixa da enzima, sendo de $32,90 \pm 4,01$ U CAT mg⁻¹ de proteína e $33,80 \pm 4,53$ U CAT mg⁻¹ de proteína respectivamente. Em 28 dias, houve diferença de DLB e DLS em relação a CT, enquanto CSS diferiu de DLS e DLB. Entre o período avaliado, CT e DLB reduziram a atividade em 27% e 61%, enquanto houve o aumento da atividade de CAT em 9% para CSS e DLS. Também é evidente um padrão consistente nos tratamentos com dejetos, já que estes apresentam atividades de CAT inferiores em comparação com o CT em ambos os períodos.

Figura 7 – Catalase (CAT) em minhocas *Eisenia andrei*.

Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

A atividade da glutathiona peroxidase (GPx) também apresentou a tendência ter a menor atividade enzimática nos tratamentos com dejetos, se comparada a CT. Após 14 dias, a atividade da enzima foi inferior em DLB ($3,83 \pm 0,63$ nmol min⁻¹ mg de proteína) em comparação com CT ($4,38 \pm 0,87$ nmol min⁻¹ mg de proteína), e entre os dejetos, DLB exibiu uma atividade maior do que CSS ($3,52 \pm 0,63$ nmol min⁻¹ mg de proteína). Em 28 dias, houve novamente uma diferença significativa entre DLB e CT, enquanto DLB diferiu de DLS e CSS. Durante o período de exposição, houve o aumento em 4% na atividade de GPx em CT e a redução da atividade enzimática em 12%, 6% e 2% para CSS, DLB e DLS, respectivamente (Figura 8).

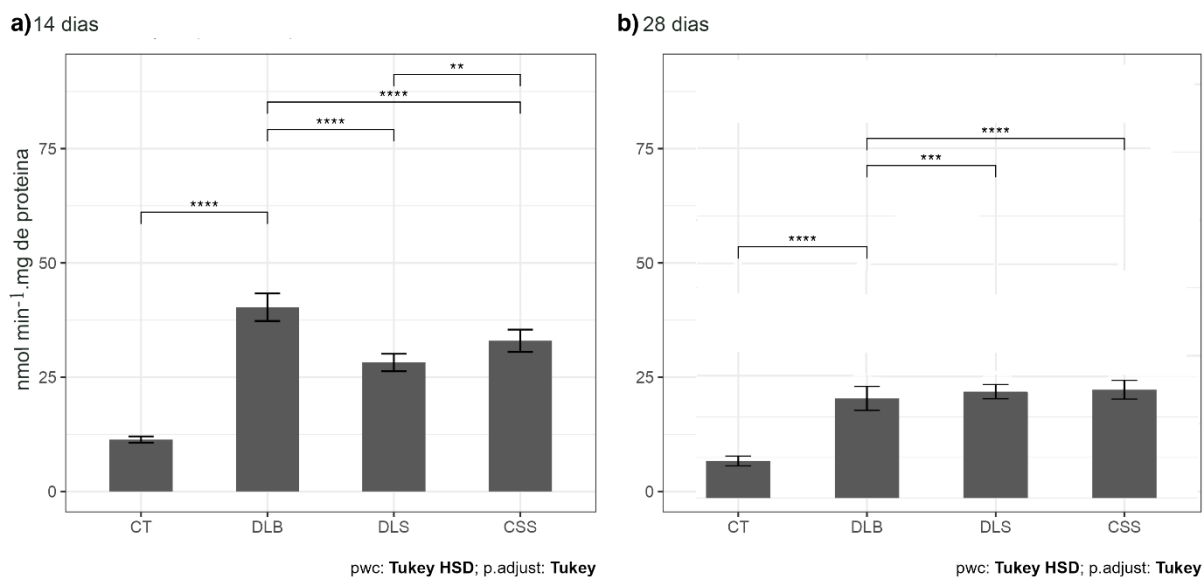
Figura 8 – Glutationa peroxidase (GPx) em minhocas *Eisenia andrei*.

Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

Os resultados da atividade da enzima glutatona redutase (GR) revelam variações para a resposta antioxidante dos organismos expostos a dejetos, que apresentaram maiores atividades enzimáticas em tratamentos com dejetos se comparados ao CT em ambos os períodos (Figura 9). Em 14 dias, a atividade enzimática de DLB ($40,32 \pm 8,54$ nmol min⁻¹ mg de proteína) foi significativamente diferente de CT ($11,35 \pm 2,00$ nmol min⁻¹ mg de proteína). Entre os tratamentos com dejetos, DLB diferiu de DLS ($28,21 \pm 5,39$ nmol min⁻¹ mg de proteína) e CSS ($32,97 \pm 6,89$ nmol min⁻¹ mg de proteína), e DLS diferiu de CSS. Após 28 dias, a atividade enzimática de DLB diferiu da de CT, e entre os tratamentos com dejetos, houve diferença significativa entre DLB, DLS e CSS. Observou-se uma tendência de redução na atividade enzimática ao longo do tempo, sendo de 39% para DLB, 19% para CT e CSS, e 7% para DLS.

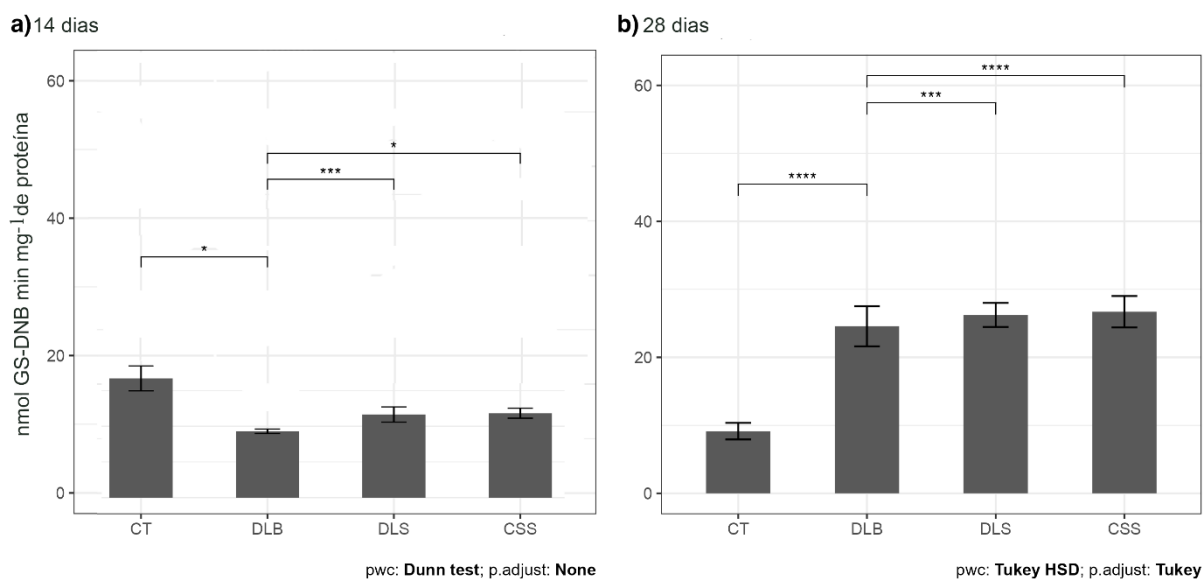
Figura 9 – Glutationa redutase (GR) em minhocas *Eisenia andrei*.



Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.
 Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

Assim como as demais enzimas do grupo, a Glutationa S-Transferase (GST) apresentou variações significativas entre os tratamentos. Após 14 dias, observou-se diferença na atividade enzimática entre DLB e CT ($9,02 \pm 1,78$ e $14,85 \pm 4,08$ $\text{nmol GS-DNB min mg}^{-1}$ de proteína, respectivamente), bem como entre DLB e DLS ($11,51 \pm 4,42$ $\text{nmol GS-DNB min mg}^{-1}$ de proteína), e entre DLB e CSS ($10,72 \pm 0,73$ $\text{nmol GS-DNB min mg}^{-1}$ de proteína). A diferença estatística entre os tratamentos seguiu em 28 dias de exposição. Durante o período de exposição, a atividade enzimática da GST aumentou nos tratamentos, sendo mais elevada em CT com um aumento de 12%, seguido por CSS com 10%, DLB com 3% e DLS com 1%. A Figura 10 apresenta os dados relacionados a atividade enzimática da GST.

Figura 10 – Glutationa S-Transferase (GST) em minhocas *Eisenia andrei*.

Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

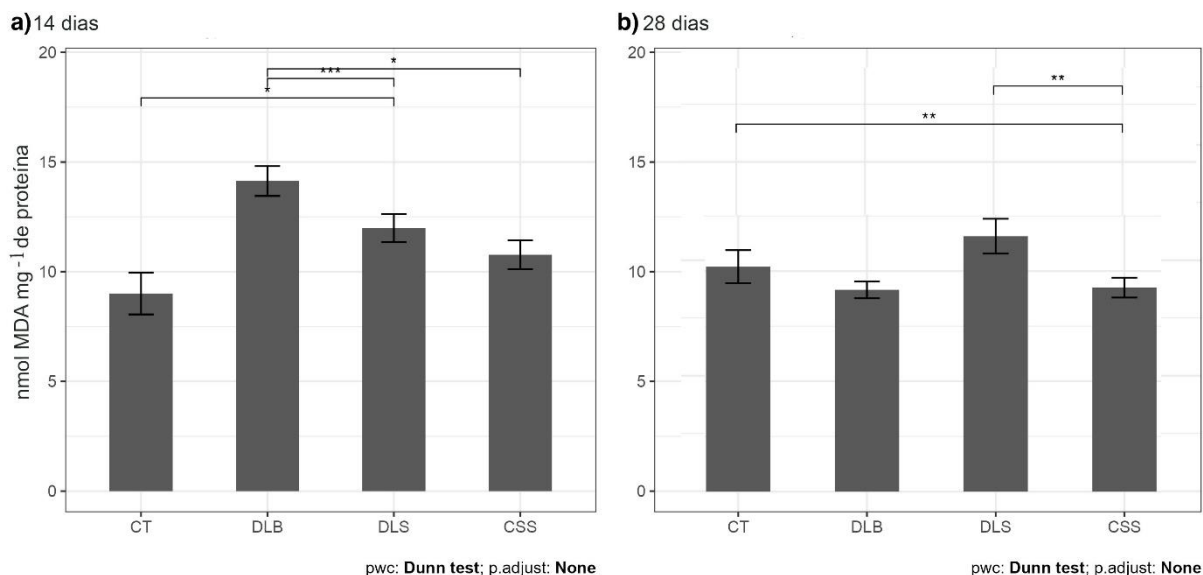
Fonte: Autora (2024).

Os resultados mencionados sugerem que os organismos desenvolveram uma resposta antioxidante para enfrentar o aumento do estresse oxidativo, ampliando sua capacidade de neutralizar os radicais livres como uma estratégia de sobrevivência, especialmente nos tratamentos que envolvem dejetos. Houve uma variação na resposta antioxidante ao longo do período de exposição (14 e 28 dias), sugerindo que os efeitos dos dejetos induzem ou reduzem a resposta dos animais com o passar do tempo, dependendo do tipo de biomarcador avaliado. Além disso, os dejetos podem conter compostos bioativos que têm um impacto direto na produção de ERO e na atividade das enzimas antioxidantes.

Para as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) observou-se uma variação nos níveis ao longo do tempo e conforme tratamento, variando de 9,01 a 14,13 nmol MDA mg⁻¹ de proteína. Em 14 dias, DLS diferenciou-se de CT, enquanto entre os dejetos, DLB diferiu dos demais. CT registrou níveis mais baixos de TBARS, com 9,01±2,69 nmol MDA mg⁻¹ de proteína, enquanto que, entre os dejetos, DLS e CSS demonstraram um teor de 11,99±1,81 e 10,77±1,86 nmol MDA mg⁻¹ de proteína. Após 28 dias, CSS diferiu de CT e DLS de CSS. CT apresentou níveis mais baixos de TBARS em 14 dias, sem diferenciação significativa ao longo do tempo. Entre os tratamentos, DLB apresentou os níveis mais altos de TBARS em 14 dias e DLS em 28 dias, indicando um aumento significativo no estresse oxidativo nesses grupos nestes períodos. Em comparação entre os períodos, CSS,

DLB e DLS apresentaram uma redução dos níveis de TBARS de 14%, 5% e 8%, respectivamente, enquanto CT apresentou um aumento de 13%, conforme apresentado na Figura 11.

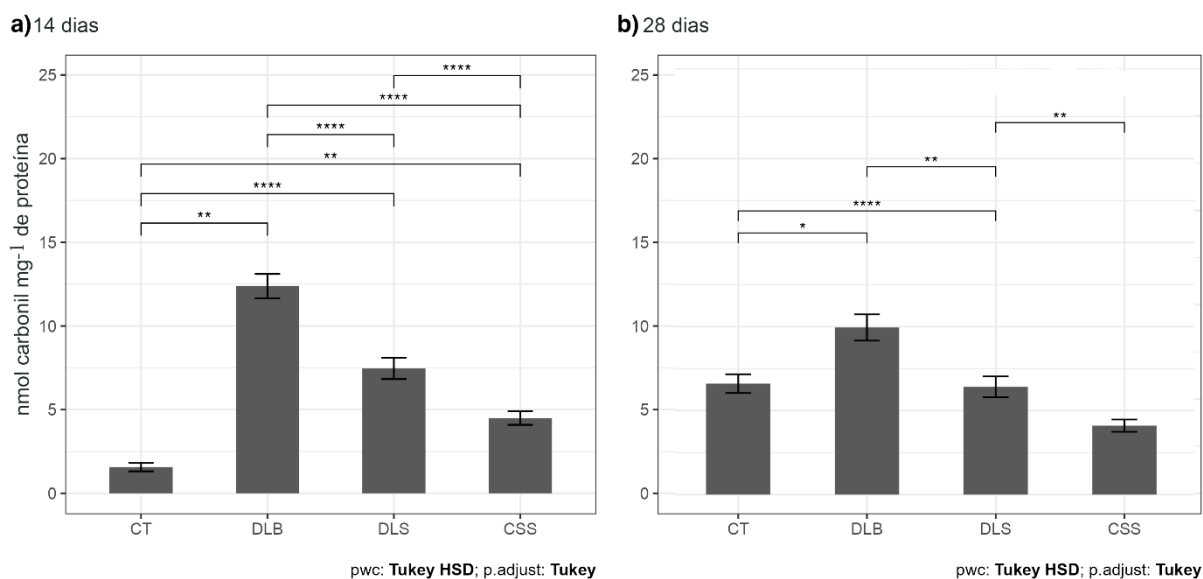
Figura 11 – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em minhocas *Eisenia andrei*.



Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

Para carbonilação proteica, em ambos períodos de exposição, houve um aumento significativo de oxidação e formação de carbonilas nos tratamentos com dejetos, conforme Figura 12. Em 14 dias, houveram variações significativas entre os tratamentos em comparação com CT. DLB apresentou a maiores valores, seguido por DLS, CSS e CT, sendo $12,38 \pm 2,05$, $7,46 \pm 1,80$, $4,50 \pm 1,15$ e $1,56 \pm 0,70$ nmol de carbonil mg^{-1} de proteína, respectivamente. Em 28 dias, DLB e DLS, diferiram estatisticamente de CT, enquanto DLS diferiu de DLB e CSS. Nesse período, CSS obteve os menores teores de carbonilação, com $4,10 \pm 1,04$ nmol de carbonil mg^{-1} de proteína, enquanto DLB os maiores. Durante o período de exposição, os tratamentos com dejetos apresentaram uma redução de 12%, 9% e 6% para DLS, CSS e DLB, respectivamente.

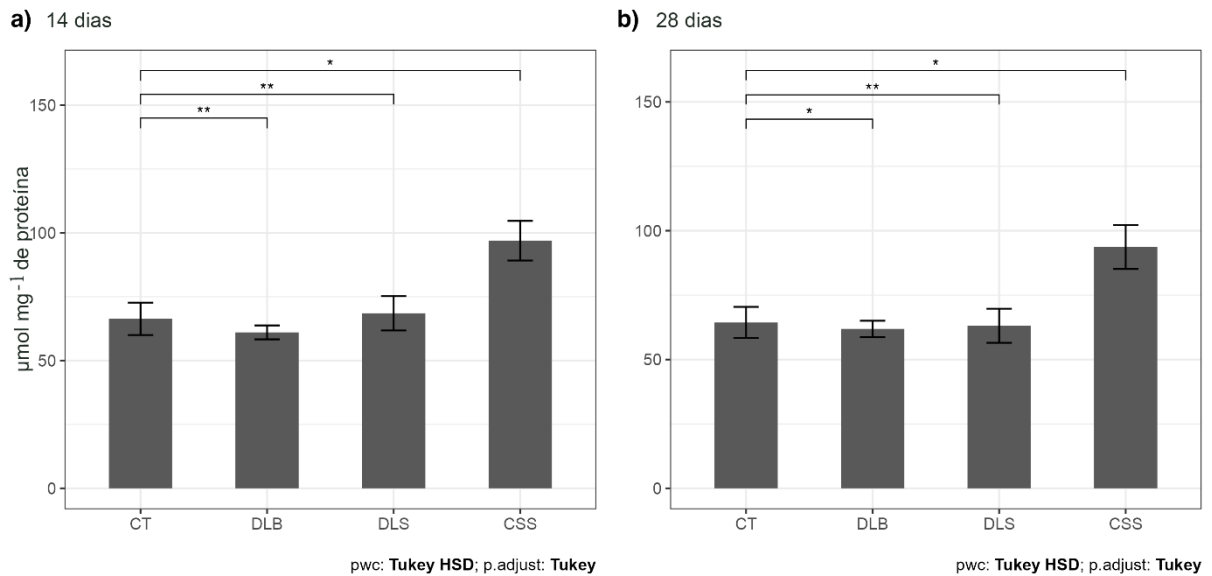
Figura 12 – Carbonilação de proteínas em minhocas *Eisenia andrei*.

Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

Observa-se o aumento significativo nos níveis de espécies reativas ao oxigênio (ERO) nos tratamentos com dejetos se comparados ao CT, em ambos os períodos de exposição, com maiores teores observados em CSS em 14 dias (Figura 13). Em 14 dias, é possível observar que CSS apresentou a maior concentração de espécies reativas de oxigênio, seguido por DLS e CT, sendo $96,94 \pm 21,94$, $68,53 \pm 19,02$ e $66,34 \pm 17,91$ nmol mg⁻¹ de proteína, respectivamente. Nesse período, DLB mostrou a menor concentração de ERO entre os grupos analisados, com $61,06 \pm 7,71$ nmol mg⁻¹ de proteína. Em 28 dias, os níveis de ERO reduziram em 3% para CSS e CT e 8% para DLS se comparados com 14 dias de exposição, sendo significativamente diferentes, como observado em 14 dias.

Figura 13 – Espécies reativas de oxigênio (ERO) em minhocas *Eisenia andrei*.

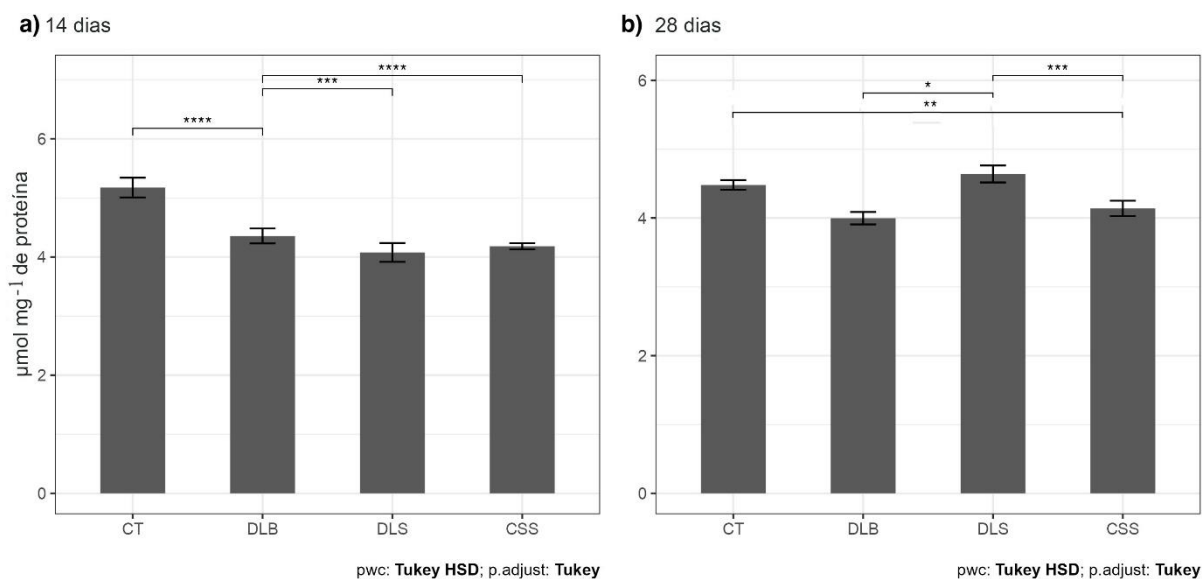


Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

Ao longo do tempo, os níveis de peróxidos e oxidação de lipídios mantiveram certa estabilidade, com algumas variações entre as diferentes condições experimentais. Em um período de 14 dias, os níveis de peróxidos do tratamento DLB ($4,36 \pm 0,35 \mu\text{g L}^{-1}$) foram significativamente diferentes dos tratamentos CT ($5,17 \pm 0,47 \mu\text{g L}^{-1}$), CSS ($4,18 \pm 0,15 \mu\text{g L}^{-1}$) e DLS ($4,08 \pm 0,45 \mu\text{g L}^{-1}$). Em 28 dias, CSS diferiu de CT, assim como os tratamentos com dejetos, com o DLB diferindo do DLS e o DLS diferindo do CSS, com DLS apresentando os maiores índices neste período. Durante a exposição, houve a redução de peróxidos em 13% em CT e 8% em DLB e o aumento de 14% em DLS, conforme Figura 14.

Figura 14 – Níveis de peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) em minhocas *Eisenia andrei*.

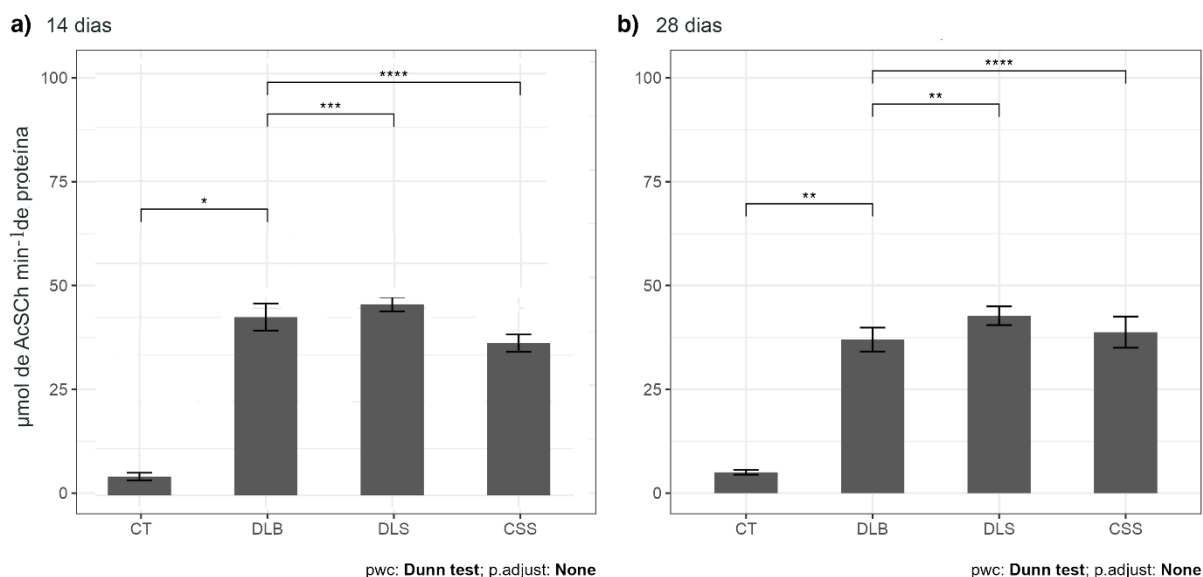


Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

Os resultados da atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) nos diferentes tratamentos e tempos de exposição revelam variações conforme tratamentos.

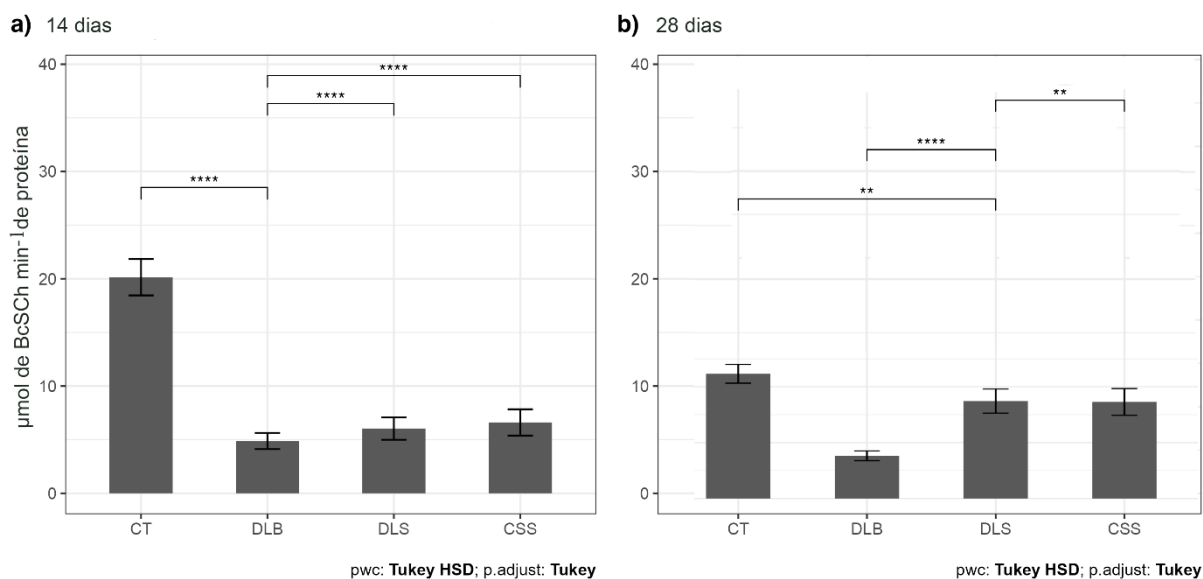
A atividade de AChE em CT foi inferior aos tratamentos com dejetos em ambos os períodos de exposição. Em 14 dias, a atividade de AChE para os tratamentos com dejetos foi de $40,86 \pm 4,32 \mu\text{mol de AcSCh min}^{-1}$ de proteína para DLS, $38,12 \pm 8,16 \mu\text{mol de AcSCh min}^{-1}$ de proteína para DLB, $32,54 \pm 5,27 \mu\text{mol de AcSCh min}^{-1}$ de proteína para CSS, enquanto que CT apresentou uma atividade de $4,01 \pm 2,34 \mu\text{mol de AcSCh min}^{-1}$ de proteína. Neste período, houve diferença estatística entre DLB e CT, e DLB diferenciou de DLS e CSS. Em 28 dias a diferença estatística entre os grupos foi a mesma, conforme demonstra a Figura 15. Com o passar do tempo, os tratamentos apresentaram um aumento de, 25%, 19%, e 5% para CT, CSS e DLS, respectivamente, enquanto DLB teve uma redução da atividade em 3%.

Figura 15 – Acetilcolinesterase (AChE) em minhocas *Eisenia andrei*.

Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

Em ambos períodos avaliados, a atividade enzimática de BChE nos tratamentos com dejetos foi inferior a CT. Em 14 dias, CT ($11,16 \pm 4,80$ $\mu\text{mol de BcSCh min}^{-1}$ de proteína) diferenciou de DLB ($4,87 \pm 2,13$ $\mu\text{mol de BcSCh min}^{-1}$ de proteína), e entre os dejetos, DLB diferenciou de DLS e CSS ($8,71 \pm 2,95$ e $8,64 \pm 3,48$ $\mu\text{mol de BcSCh min}^{-1}$ de proteína, respectivamente). Em 28 dias, CT diferenciou de DLS, enquanto DLS diferenciou-se de DLB e CSS. De 14 para 28 dias, CT e DLB apresentaram redução da atividade enzimática em 45% e 22%, respectivamente, enquanto houve o aumento em DLS e CSS, em 44% e 31%, respectivamente, conforme a Figura 16.

Figura 16 – Butirilcolinesterase (BChE) em minhocas *Eisenia andrei*.

Legenda: Nível de significância: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Período: a) 14 dias e b) 28 dias. Tratamentos: CT = Controle; DLS = Dejetos Líquidos De Suínos; DLB = Dejetos Líquidos De Bovinos; CSS = Cama Sobreposta De Suínos.

Fonte: Autora (2024).

O tratamento controle (CT) representa a condição basal ou de referência, sem intervenção adicional que possa causar estresse oxidativo. De forma geral, observa-se uma tendência de leve redução nos teores de H_2O_2 , manutenção dos níveis de ERO, aumento da carbonilação e de TBARS. No sistema antioxidante, há manutenção dos teores de ACAP, GPx, GR e redução da atividade de SOD, CAT e GST, enquanto a atividade das colinesterases manteve-se inalterada para AChE e reduziu para BChE. Pequenas variações no manejo experimental, como a manipulação dos animais, mudanças na dieta ou estresse ambiental, podem ter modificado levemente os marcadores durante a execução do experimento, mas foram impostas igualmente a todos os organismos expostos aos diferentes tratamentos. Assim, observa-se uma resposta consistente nas atividades enzimáticas e não enzimáticas ao longo do experimento, e os desvios observados podem ser desprezados quando comparados com as respostas dos biomarcadores dos animais expostos aos tratamentos com dejetos.

No caso de DLB, a presença de danos oxidativos e lipídicos em 14 dias revela uma exposição aguda a agentes oxidantes com o aumento abrupto na produção de ERO. Os valores de carbonilação de proteínas e TBARS corroboram com esta afirmação e possuem relação com a falha do sistema enzimático antioxidante. A redução da atividade de SOD, CAT, GPx e GR, reduziu a capacidade de neutralizar ERO e H_2O_2 , ocasionando o aumento do estresse oxidativo. Com essa redução, houve a compensação pelo aumento da ACAP em 28 dias, indicando a

ativação de outros mecanismos de defesa antioxidante, como a via das glutathionas. O aumento da atividade de GST corrobora com essa hipótese, pois indica uma tentativa de detoxificação de elementos oxidantes, a partir da regeneração de GSH. Apesar do aumento, a ação metabólica foi insuficiente para livrar os organismos do estresse oxidativo, devido aos resultados obtidos para as colinesterases. Neste caso, a resposta adaptativa incluiu o aumento da AChE para compensar a disfunção colinérgica, buscando a regulação da transmissão nervosa.

Em DLS, foram observados níveis moderados de TBARS e carbonilação, que indicam estresse oxidativo em 14 dias. A adaptação ao estresse oxidativo pode ter reduzido a carbonilação de proteínas, mas os danos lipídicos ainda são observados em 28 dias de exposição. O aumento de CAT, visando a compensação da redução de GPx, pode indicar a adaptação dos mecanismos antioxidantes, ocasionando na geração de H₂O₂ como subproduto. O aumento exponencial de ACAP indica uma resposta adaptativa para decompor o excesso de H₂O₂, potencialmente pela via das glutathionas, tendo em vista o aumento de GR e GST, que garantem a regeneração de GSH. Ainda, é possível verificar uma estabilização na conversão de superóxido, representada pelos níveis de SOD. Entretanto, a condição de estresse pode ter influenciado no aumento da AChE e de BChE.

A exposição CSS manifestou efeitos neuroquímicos e antioxidantes que se assemelham aos observados em DLB e DLS. A redução da atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPx) resultou em um acúmulo de ERO. O aumento da atividade de GR e GST pode ser uma resposta adaptativa para manter os níveis de GSH. Com a ativação desta via metabólica, houve a tentativa de redução das espécies reativas e, conseqüentemente, do dano às proteínas pelo aumento da atividade de SOD e CAT. Ainda, o incremento da atividade de AChE e ativação de BChE pode ter sido uma resposta ao estresse oxidativo e visou evitar o acúmulo dos níveis de neurotransmissores na sinapse.

Logo, as alterações observadas refletem o desequilíbrio redox, indicando um quadro de estresse oxidativo e neurológico aos organismos expostos, principalmente nos tratamentos com dejetos. A exposição das minhocas a solos historicamente tratados com dejetos revelou um cenário de dano oxidativo, evidenciado por tentativa de resposta antioxidante em alguns tratamentos com dejetos, se comparados com CT. Alguns casos, houve uma resposta antioxidante comprometida, sendo insuficiente para minimizar os impactos de estresse oxidativo. Essa dinâmica sugere uma tentativa de manutenção do equilíbrio redox (ZEB et al., 2020), como uma estratégia de sobrevivência diante das condições estressantes impostas pelos dejetos.

Os tratamentos com dejetos líquidos (DLB e DLS) parecem induzir um maior estresse oxidativo inicialmente. No entanto, com o tempo houve uma aparente redução em alguns biomarcadores, como carbonilação e TBARS, sugerindo uma possível regulação do estresse oxidativo com a progressão da exposição. Para CSS houve o aumento contínuo dos níveis de ERO, indicando a ocorrência de estresse oxidativo crônico nessa condição. De modo geral, os resultados apontam que os dejetos induzem estresse oxidativo de forma dinâmica, dependendo do tipo de dejetos, tempo de exposição e do tipo de solo.

Em um estudo realizado na Tunísia, foi observado estresse e dano oxidativo em minhocas expostas a dejetos de bovinos (Hattab *et al.*, 2024). A exposição dos animais a compostos de esterco bovino, ovino e uma mistura dos dois por 7 e 14 dias resultou em danos citotóxicos, genotóxicos e oxidativos. Os resultados mostraram um aumento nas atividades de CAT ($140,83 \pm 22,27$ e $112,11 \pm 11,16 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$) e nos níveis de peroxidação lipídica (LPO), juntamente com a inibição de AChE, especialmente após 14 dias de exposição aos dejetos bovinos (CC).

Visando avaliar os impactos dos sistemas pecuários na ecotoxicidade do solo, Parelho *et al.* (2018) realizaram a exposição de minhocas da espécie *Amyntas gracilis* em Portugal. Os resultados mostraram a exposição durante 14 dias aos solos dos sistemas pecuários desencadeou efeitos subletais significativos, revelados pelo aumento da atividade da AChE nas minhocas (de $34,15 \pm 0,79$ a $62,74 \pm 2,10 \text{ nmol de AcSCh min}^{-1} \text{ de proteína}$), na diminuição das enzimas associadas à defesa antioxidante (SOD $2,76 \pm 0,11$ a $1,90 \pm 0,04 \text{ U mg}^{-1} \text{ de proteína}$) e da integridade lisossomal (captação de vermelho neutro, de $113,00 \pm 4,81$ a $83,73 \pm 2,25\%$), revelando que solos de sistemas de produção animal causam neurotoxicidade e dano oxidativo nos organismos expostos.

Na China, em um estudo realizado por Xiong *et al.* (2014) o efeito do aditivo alimentar sulfato de cobre (CuSO_4) nas respostas ecotoxicológicas das minhocas *Eisenia fetida*. Neste contexto, foi observado um aumento da atividade de enzimas antioxidantes (CAT, SOD e GPx) e danos oxidativos nos níveis lipídicos causados pelo aditivo durante os períodos de exposição. Vale ressaltar que a GPx parece desempenhar um papel crucial na proteção antioxidante, sendo induzida nos estágios iniciais de estresse oxidativo. Por outro lado, ao final da exposição, a atividade da SOD foi reduzida ao nível dos grupos controle, possivelmente devido a um mecanismo de adaptação. A análise conjunta de todos os biomarcadores sugere que as enzimas antioxidantes são eficazes na fornecer defesas antioxidantes contra o estressor, com exceção da GST.

Os dados dos três estudos evidenciam danos citotóxicos, genotóxicos e oxidativos em organismos expostos a dejetos, destacando a importância das enzimas como CAT, SOD, GPx e AChE na resposta ao estresse oxidativo causado pelos poluentes. As modificações na atividade dessas enzimas em resposta à exposição corroboram com a hipótese de adaptação enzimática e exaustão do sistema antioxidante diante do estresse oxidativo, desencadeando um processo neurotóxico nos animais expostos apresentada no presente estudo.

As características do solo, como pH, teores de nutrientes e elementos químicos influenciam na resposta de dano oxidativo, antioxidante e neurotóxica das minhocas expostas aos solos. Geralmente, solos com pH mais baixo podem apresentar uma maior atividade de enzimas antioxidantes, como a SOD e a CAT, devido à maior produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) em condições ácidas (WU et al., 2020). O valor do pH do solo tem efeitos inibitórios significativos na sobrevivência, crescimento e reprodução das minhocas em condições ácidas, pela inibição de biomarcadores GPx, SOD, Peróxido, CAT, proteína total e metalotioneína (WU et al., 2020). Verifica-se, entretanto, que, no presente estudo, o pH do solo possivelmente não tenha sido um fator limitante ou ativador das atividades antioxidantes e gerador de ERO.

A presença de elementos químicos nos dejetos animais pode ter favorecido e desencadeado o dano oxidativo aos organismos, tendo em vista a composição química dos diferentes tipos de dejetos. A exemplo, DLB e CSS continham concentrações mais altas de nitrogênio total, metais e outros compostos orgânicos se comparados ao CT, que são associados diretamente aos processos oxidantes (HENKLER et al., 2010; DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022). As minhocas possuem a predisposição de absorver metais e os acumular em seus tecidos, principalmente Cd, Zn, Cu e Pb (WANG et al., 2018).

A presença de metais e metaloides induzem a danos oxidativos devido à capacidade desses elementos de gerar espécies reativas de oxigênio (ERO) por meio de reações redox (FARINA et al., 2013; VELLINGIRI et al., 2022). Níveis excessivos de metais causam estresse oxidativo, dobramento incorreto de proteínas, mau funcionamento mitocondrial, desregulação da autofagia e apoptose, entre outros (FARINA et al., 2013). Portanto, é esperado que solos com maiores concentrações apresentem uma maior atividade ou inibição das enzimas antioxidantes, como SOD, CAT e das glutacionas, como mecanismo de defesa celular contra o estresse oxidativo. Essas enzimas atuam na remoção e na neutralização das ERO, auxiliando na proteção contra danos oxidativos (LIU et al., 2023).

Isso se deve ao fato que os metais possuem natureza iônica e têm a capacidade de adentrar nas superfícies e nas membranas celulares, onde interagem com fosfolipídios

resultando na produção ERO. A geração exorbitante de ERO nas células desencadeia o processo de desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e as substâncias oxidantes, levando a peroxidação lipídica, à oxidação de proteínas e a danos ao DNA e RNA ocasionando um processo de estresse oxidativo e à inativação de macromoléculas essenciais (BARBOSA et al., 2010; YADAV et al., 2023).

Alguns micronutrientes e macronutrientes também desempenham papéis fundamentais na síntese e na atividade das enzimas antioxidantes (WANG et al., 2021), o que sugere uma possível influência desses elementos na atividade antioxidante das minhocas. Os tratamentos com aplicação de dejetos apresentaram maiores teores de nutrientes e elementos químicos em comparação com CT. Testando a aplicação de dejetos suínos em quatro solos diferentes, (SEGAT et al., 2015) constataram que a textura, CTC e a matéria orgânica do solo alteram a toxicidade dos dejetos suínos para as minhocas. A exposição a metais e metaloides inibiu a atividade de enzimas antioxidantes, como a GR, SOD e CAT, que desempenham um papel crucial na proteção contra o estresse oxidativo nas minhocas da espécie *Eisenia fetida* (YU et al., 2022). Minhocas expostas a concentrações de 67,58 mg/kg, 168,96 mg/kg e 337,92 mg/kg de Cu apresentaram alterações nos níveis de transcrição, indicando mudanças nas vias metabólicas, reações graves de toxicidade e o aumento da capacidade antioxidante (YU et al., 2022). Foi observado um aumento significativo na atividade da CAT em vermes *Tubifex tubifex* expostos ao cobre (MOSLEH et al., 2006). Esses resultados sugerem que o Cu pode causar toxicidade ao interferir no sistema antioxidante das minhocas, ampliando a capacidade antioxidante como estratégia adaptativa para lidar com o estresse de longo prazo do Cu (YU et al., 2022).

Quando as minhocas são expostas a condições estressantes, como aos dejetos, há um aumento na produção de radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio (LUKKARI et al., 2004; AHMADPOUR et al., 2023; LIU et al., 2023), conforme evidenciado no presente estudo. Os mecanismos pelos quais esses compostos induzem estresse oxidativo aos organismos são diversos e incluem a produção direta de ERO, o esgotamento de defesas antioxidantes e a inibição de enzimas antioxidantes (HENKLER et al., 2010). Em resposta ao estresse oxidativo, os organismos expostos ativam o sistema antioxidante como uma forma de proteção contra os danos oxidativos (YU et al., 2022). Entretanto, eventualmente, há a falha destas defesas ou o acionamento de outras vias metabólicas, como a das glutations (LUKKARI et al., 2004; OJO et al., 2016; HUANG et al., 2022).

As glutations estão envolvidas em várias funções importantes, como sinalização celular, modificações pós-translacionais e regulação do estresse oxidativo, desempenhando

papéis tanto em processos celulares normais quanto em respostas a estímulos externos (FERGUSON e BRIDGE, 2019; MAZARI et al., 2023). A conjugação de GSH com xenobióticos geralmente leva à formação de metabólitos menos reativos para facilitar a excreção, mas em certos casos, os conjugados de GSH podem ser mais reativos do que os compostos originais (MAZARI et al., 2023). O acionamento da via das glutationas para degradação e reparo de proteínas danificadas é crucial, mas também pode indicar uma sobrecarga nos mecanismos de detoxificação celular (FERGUSON e BRIDGE, 2019; MAZARI et al., 2023).

A sobrecarga e o aumento prolongado na atividade antioxidante pode levar a um desequilíbrio na regulação redox, esgotamento dos estoques de GSH, interferindo na sinalização celular e prejudicando a função normal dos sistemas biológicos (ASAGBA, ICHIPI-IFUKOR E OKWUDIBIE, 2020; DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022; MAZARI et al., 2023; TAO et al., 2024). Além disso, o estresse oxidativo crônico pode desencadear processos neurotóxicos, afetando o sistema nervoso das minhocas (FARINA et al., 2013; VELLINGIRI et al., 2022).

No presente estudo, a neurotoxicidade foi induzida através do aumento da atividade de AChE e da inibição de BChE em resposta a exposição nos tratamentos com dejetos e ao estresse prolongado. Ambas enzimas são cruciais no sistema nervoso, sendo responsáveis pela hidrólise da acetilcolina (CHEN et al., 2023). A exposição a compostos tóxicos, como os encontrados nos dejetos, pode afetar a atividade dessas enzimas, levando a alterações na função neurológica. Por exemplo, o aumento da atividade da AChE pode levar ao a redução dos níveis de ACh na sinapse, o que pode causar excitação excessiva do sistema nervoso. Por outro lado, a inibição da BChE pode levar ao acúmulo de BCh na sinapse, o que pode causar excitação do sistema nervoso, por meio de síndrome colinérgica e levar a problemas musculares (CHEN et al., 2023; GIACOBINI, 2004). Assim, a atividade destas enzimas pode fornecer informações sobre a integridade do sistema nervoso e a função neurotransmissora, sendo indicativos de exposição a agentes neurotóxicos e a geração de estresse (MOSLEH et al., 2006; PEREIRA et al., 2014).

A exposição dos organismos aos metais presentes nos dejetos pode aumentar a atividade da AChE e da BChE, ou inibi-las a depender da concentração dos íons metálicos, tendo em vista a propriedade de substituição do cofator no sitio catalítico das enzimas, impedindo sua interação com o substrato (VELLINGIRI et al., 2022), reduzindo a atividade enzimática (MOSLEH et al., 2006; PEREIRA et al., 2014). Metais como Zn, Fe, Mn e o Hg podem vir a se acumular em altas concentrações no sistema nervoso, levando à intoxicação e consequente neurodegeneração das células nervosas (FARINA et al., 2013; VELLINGIRI et al., 2022).

Logo, o aumento da AChE pode ser interpretado como uma tentativa do organismo de compensar os efeitos adversos do estresse e, complementarmente, a ativação da BChE busca aumentar a eficiência na transmissão nervosa (FARINA et al., 2013; VELLINGIRI et al., 2022; CHEN et al., 2023). Assim, os resultados sugerem que os dejetos, principalmente os líquidos, podem estar induzindo neurotoxicidade nas minhocas, possivelmente devido à presença de compostos tóxicos. Os efeitos parecem piorar com o tempo de exposição, conforme evidenciado. No entanto, mais estudos são necessários para confirmar o mecanismo exato de neurotoxicidade.

Os tratamentos com dejetos ainda podem conter resíduos de medicamentos veterinários, pesticidas e outros compostos químicos usados na produção dos animais, os quais podem ser metabolizados em produtos reativos que geram ERO como subprodutos (FARINA *et al.*, 2013; GUO *et al.*, 2018; VALKO *et al.*, 2006). Os maiores índices de carbono total também podem ser um cofator da geração de ERO, já que sua decomposição gera uma série de compostos reativos, radicais livres, amônia e outros compostos (CALISI et al., 2019; HENKLER et al., 2010).

O aumento significativo da AChE e redução de BChE pode se dar por conta dos teores mais elevados de metais e metaloides presentes em DLB, através da toxicidade direta pela ligação aos seus sítios ativos ou pela indução de estresse oxidativo (FARINA et al., 2013; VELLINGIRI et al., 2022). A sobrecarga de AChE resulta na ativação da BChE ao longo da exposição, visando complementar a atividade de degradação dos ésteres de colina. Esse comportamento indica um desequilíbrio na regulação da acetilcolina e outros ésteres de colina, sugerindo um possível déficit na transmissão colinérgica, comprometendo a função neuromuscular e levando a potenciais sintomas neurológicos (VELLINGIRI *et al.*, 2022).

Os tratamentos com dejetos revelaram aumentos significativos nos principais parâmetros físico-químicos do solo, como K, Ca, Mg, Cu, Zn e Mn no DLB, e P, K, Cu, Zn e Ni no DLS, além de CoT, NT e CTC no CSS. Estes aumentos sugerem um ambiente mais fértil, mas também mais propenso a geração de um quadro de estresse oxidativo e neurotoxicidade aos animais expostos. As enzimas antioxidantes, incluindo SOD, CAT, ACAP e GST, mostraram aumento de atividade, enquanto a elevação de TBARS, H₂O₂ e a carbonilação proteica indicaram estresse oxidativo. A atividade colinérgica, com aumento de AChE e inibição de BChE, sugeriu efeitos neurotóxicos nos tratamentos com DLB e DLS, indicando a complexidade das respostas adaptativas dos organismos expostos.

Essas alterações fisiológicas complexas e dinâmicas podem ter impactos significativos no metabolismo, na reprodução e na sobrevivência das minhocas, podendo levar a efeitos

adversos sobre a população e a ecologia do solo, principalmente com aplicações de dejetos durante longos períodos (SEGAT e SOUSA et al., 2020).

Minhocas foram mais sensíveis do que os colêmbolos à contaminação por Cu, e o solo arenoso foi mais suscetível à ecotoxicidade devido à contaminação por Cu, provavelmente devido à maior biodisponibilidade do metal neste tipo de solo no estudo de Simões et al. (2020). No estudo de Maccari et al. (2016), o aumento das quantidades de esterco líquido de suínos aplicados em solos subtropicais reduziu as taxas reprodução de *Eisenia andrei* e *Enchytraeus crypticus*. Os efeitos na reprodução das minhocas foram observados com aplicação de 112 e 150 m³ ha⁻¹ e nos enquitreídeos as doses de 17 e 45m³ ha⁻¹ em Neossolo e Nitossolo.

Os metais e metaloides também têm o potencial de afetar e alterar a comunidade de organismos do solo. Isso ocorre devido às propriedades tóxicas desses elementos, que podem interferir em processos biológicos vitais e prejudicar a saúde e diversidade da comunidade edáfica (MOURA et al., 2016). A presença de metais no solo pode inibir a atividade de microrganismos benéficos, como bactérias (SOUZA et al., 2021; HOU et al., 2022), colêmbolos (SEGAT et al., 2015), minhocas (MACCARI et al., 2016) e fungos (BALOTA et al., 2016; HOU et al., 2022), levando a uma redução na fertilidade e na capacidade de suporte de vida do solo. Além disso, organismos macroscópicos, como minhocas e insetos do solo, podem ser afetados diretamente pela presença de metais, resultando em mudanças na estrutura e função do ecossistema do solo (LUKKARI et al., 2004; BEAUMELLE et al., 2017; RAN et al., 2023).

Assim, os resultados destacam a complexa interação entre os dejetos, o solo, os biomarcadores e as minhocas, com potenciais implicações para a saúde dos animais expostos e da qualidade do solo, já que a aplicação contínua de dejetos pode induzir os organismos ao estresse oxidativo e neurotoxicidade em minhocas.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo revelam a complexa interação entre os dejetos líquidos de suínos e bovinos, as minhocas e o solo, destacando implicações significativas para as características físico-químicas do solo e para os organismos expostos. O estudo forneceu evidências sobre o potencial ecotóxico dos dejetos animais com aplicações de longo prazo, mesmo após a interrupção da aplicação direta. Além disso, elucidou alguns dos mecanismos de toxicidade subjacentes aos efeitos observados nos organismos expostos aos dejetos animais, fornecendo evidências sobre as vias bioquímicas e fisiológicas afetadas. Os resultados também destacam a importância de considerar não apenas os aspectos bioquímicos, como o estresse oxidativo e a atividade antioxidante, mas também os efeitos sobre a função neurológica dos organismos expostos a esses dejetos.

A análise da literatura evidenciou lacunas relacionadas à necessidade do desenvolvimento de estudos que investiguem a interação entre diferentes substâncias em solos com aplicações continuadas de dejetos, como é o caso de metais e metalóides, fármacos e outros poluentes emergentes e a investigação da forma como as substâncias interajam entre si e com os organismos. Além disso, são escassos os estudos que façam o uso de solos do Tipo 1 (solos naturais), combinados com a exposição de organismos terrestres, especificamente as minhocas, tendo em vista a potencial contaminação por diversas substâncias, o que dificulta a discussão e a abordagem integrada de causa e efeito. Considerando que o solo é a base da produção de alimentos, o entendimento detalhado de como essas práticas de fertilização impactam na biota é fundamental. Assim, recomenda-se a continuidade e expansão da pesquisa nesta área, abordando os impactos a longo prazo da aplicação de dejetos, bem como a realização de experimentos com diferentes métodos de tratamento.

A aplicação de dejetos no solo tem o potencial de enriquecer o solo com nutrientes essenciais, como P, K, Ca e Mg, mas também promovem o aumento nos teores de metais como Cu, Zn e Mn, mesmo que estes permaneçam dentro dos limites regulamentares estabelecidos. Embora a aplicação de dejetos no solo, principalmente os dejetos líquidos, possa fornecer benefícios nutricionais, ela também pode introduzir e acumular contaminantes com potencial de desencadear estresse oxidativo e neurotoxicidade nos organismos expostos, variando de acordo com o tipo de dejetos e tempo de exposição dos animais. Desta forma, este estudo evidencia que, mesmo sem aplicação direta de dejetos no solo desde 2019, estes ainda possuem potencial ecotóxico, tendo em vista que metais e metalóides não são atenuados ou biodegradados com o passar do tempo, ocorrendo a alteração de biodisponibilidade em solo.

No caso de DLB, a exposição aguda a agentes oxidantes resultou em danos oxidativos e lipídicos, com redução da atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx e GR. Isso levou ao aumento do estresse oxidativo, compensado pelo aumento da ACAP em 28 dias e da atividade de GST. Apesar das tentativas de detoxicação, a resposta adaptativa incluiu o aumento da AChE para compensar a disfunção colinérgica. Em DLS, observou-se estresse oxidativo em 14 dias, com adaptação que reduziu a carbonilação de proteínas, mas os danos lipídicos persistiram em 28 dias. A resposta adaptativa incluiu o aumento da atividade da CAT, a decomposição do excesso de H_2O_2 e a regeneração de GSH. Em CSS, houve efeitos neuroquímicos e antioxidantes semelhantes aos observados em DLB e DLS, com redução da atividade de enzimas antioxidantes e aumento da atividade de GR e GST. A ativação destes mecanismos visou reduzir as espécies reativas e proteger contra o dano oxidativo, mas decorreu no aumento da atividade de AChE e BChE para evitar o acúmulo de neurotransmissores.

Com base nos dados mais significativos das atividades enzimáticas antioxidantes e colinesterásicas, DLB parece ser o tratamento que inferiu mais danos oxidativos aos animais expostos. Nos tratamentos com dejetos, o aumento de GST e de indicadores de dano oxidativo, indicam um alto nível de estresse oxidativo nos tratamentos, o que pode causar danos celulares significativos. Além disso, o aumento da AChE e inibição de BChE sugere um impacto negativo na neurotransmissão e na capacidade de detoxicação dos ésteres de colina. De modo geral, para os tratamentos com dejetos, o acionamento da via das glutationas para degradação e reparo de proteínas danificadas parece ter sido o meio de atenuar os danos, mas também pode indicar uma sobrecarga nos mecanismos de detoxicação celular e o estresse oxidativo. Isso tem relação direta ao fato que os tratamentos com dejetos revelaram maiores teores no parâmetros físico-químicos do solo, como K, Ca, Mg, Cu, Zn e Mn no DLB, e P, K, Cu, Zn e Ni no DLS, além de CoT, NT e CTC no CSS. Estes aumentos sugerem um ambiente mais fértil, mas também mais propenso ao desenvolvimento de estresse oxidativo e neurotoxicidade nos animais.

Com base nisso, há a necessidade do desenvolvimento de estudos mais abrangentes que elucidem os mecanismos de estresse oxidativo, antioxidante e neurotóxico, além da sua interrelação com outros mecanismos celulares e a interação com contaminantes múltiplos em condições ambientais. Além disso, é essencial investigar como as diversas substâncias presentes nos dejetos interagem entre si e afetam os organismos, por meio de testes adicionais que envolvam a investigação de rotas metabólicas, interações entre os componentes do solo e os organismos de diferentes níveis tróficos, incluindo bactérias, fungos, minhocas e outros.

Essas descobertas ressaltam a necessidade de uma abordagem cuidadosa e monitoramento adequado na aplicação de dejetos no solo, visando evitar efeitos prejudiciais

sobre a saúde do solo e dos organismos presentes nele, principalmente com a prática continuada de aplicação de dejetos. Investigar essas lacunas permitirá compreender melhor as formas que os dejetos afetam os organismos do solo, possibilitando a predição de riscos potenciais e o desenvolvimento de métodos para um uso sustentável e controlado dos dejetos. Isso é crucial para otimizar os benefícios agronômicos, proteger o meio ambiente e a saúde pública, exigindo uma abordagem integrada de pesquisa, monitoramento e gestão.

REFERÊNCIAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR ISO 17512-1**. Qualidade do Solo — Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro (RJ): ABNT NBR, 2016. Disponível em: <<https://www.normas.com.br/autorizar/visualizacao-nbr/30433/identificar/visitante>>. Acesso em: 14 ago. 2023.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 15499: 2016**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração - método de ensaio com peixes. São Paulo (SP): ABNT NBR, 2016.
- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2023**. São Paulo (SP): ABPA, 2023. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>. Acesso em: 14 jan. 2024.
- ADAMS, A. M.; GILLESPIE, A. W.; DHILLON, G. S.; KAR, G.; MINIELLY, C.; KOALA, S.; OUATTARA, B.; KIMARO, A. A.; BATIONO, A.; SCHOENAU, J. J.; PEAK, D. Long-term effects of integrated soil fertility management practices on soil chemical properties in the Sahel. **Geoderma**, v. 366, 114207, 2020.
- AHMADPOUR, M.; WANG, W.; SINKAKARIMI, M. H.; AHMADPOUR, M.; HOSSEINI, S. H. Joint toxicity of cadmium and fenpyroximate on two earthworms: Interspecific differences, subcellular partitioning and biomarker responses. **Chemosphere**, v. 337, 139329, 2023.
- EL-NAGAR, D. A.; MOHAMED, R. A. A. Characterization and Impact of Cattle Manure Particle Size on Physical Properties of Sandy Soils. **Journal of Geoscience and Environment Protection**, v. 7, n. 8, p. 180-194, 2019.
- ALBUQUERQUE, M. G.; SOUSA, S. S. O. DE; ARRUDA, V. C. M. DE; EL-DEIR, S. G. Impactos socioambientais dos dejetos da pecuária no âmbito rural: uma revisão da literatura. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales**, v. 15, n. 1, p. 517-529, 2022.
- ALKMIM FILHO, J. F.; GERMANO, A.; DIBAI, W. L. S.; VARGAS, E. A.; MELO, M. M. Assessment of heavy metal residues in Brazilian poultry and swine tissue. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 471-480, 2014.
- AMADO, L. L.; GARCIA, M. L.; RAMOS, P. B.; FREITAS, R. F.; ZAFALON, B.; FERREIRA, J. L. R.; YUNES, J. S.; MONSERRAT, J. M. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: Application to evaluate microcystins toxicity. **Science of The Total Environment**, v. 407, n. 6, p. 2115-2123, 2009.
- ANTHONIO, C. K.; JING, H.; JIN, C.; KHAN, M. N.; JIANGXUE, D.; GARBA, H. N.; DONGCHU, L.; GUANGRONG, L.; SHUJUN, L.; LISHENG, L.; HUIMIN, Z. Impact of long-term fertilization on phosphorus fractions and manganese oxide with their interactions in paddy soil aggregates. **Journal of Environmental Management**, v. 333, 117440, 2023.

ARAÚJO, E.; STRAWN, D. G.; MORRA, M.; MOORE, A.; ALLEONI, L. R. F. Association between extracted copper and dissolved organic matter in dairy-manure amended soils. **Environmental Pollution**, v. 246, p. 1020-1026, 2019.

ARKSEY, H.; O'MALLEY, L. Scoping studies: towards a methodological framework. **International Journal of Social Research Methodology**, v. 8, n. 1, p. 19-32, 2005.

ASAGBA, S. O.; ICHIPI-IFUKOR, P. C.; OKWUDIBIE, C. Oxidative Stress and Antioxidant Parameters in Earthworm (*Eisenia fetida andrei*); a Probable index of Environmental Pollution Status. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 24, n. 8, p. 1375-1382, 2020.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **ASTM E1676** – Standard guide for conducting laboratory soil toxicity or bioaccumulation tests with the lumbricid earthworm *Eisenia fetida* and the enchytraeid potworm *Enchytraeus albidus*. West Conshohocken (PA): ASTM, 2021.

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; HAMID, K. I. A.; YADA, I. F. U.; BARBOSA, G. M. C.; NAKATANI, A. S.; COYNE, M. S. Soil microbial properties after long-term swine slurry application to conventional and no-tillage systems in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 490, p. 397-404, 2014.

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; HONDA, C.; YADA, I. F. U.; BARBOSA, G. M. C.; NAKATANI, A. S.; COYNE, M. S. Response of arbuscular mycorrhizal fungi in different soil tillage systems to long-term swine slurry application. **Land Degradation and Development**, v. 27, n. 4, p. 1141-1150, 2016.

BAPAT, G.; MULLA, J.; LABADE, C.; GHUGE, O.; TAMHANE, V.; ZINJARDE, S. Assessment of recombinant glutathione-S-transferase (HaGST-8) silica nano-conjugates for effective removal of pesticides. **Environmental Research**, v. 204, 112052, 2022.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, jul. 2010.

BARROS, E. C.; NICOLOSO, R.; OLIVEIRA, P. A. V.; CORRÊA, J. C. **Potencial agrônômico dos dejetos suínos**. 1. ed. Concórdia (SC): Embrapa Suínos e Aves, 2019.

BAYO, F. Insecticides mode of action in relation to their toxicity to non-target organisms. **Journal of Environmental and Analytical Toxicology**, S4, 002, 2012.

BEAUMELLE, L.; HEDDE, M.; VANDENBULCKE, F.; LAMY, I. Relationships between metal compartmentalization and biomarkers in earthworms exposed to field-contaminated soils. **Environmental Pollution**, v. 224, p. 185-194, 2017.

BENEDET, L.; CONTI, L.; LAZZARI, C. J. R.; MÜLLER JÚNIOR, V.; DICK, D. P.; LOURENZI, C. R.; LOVATO, P. E.; COMIN, J. J.; TIECHER, T. L.; RICACHENEVSKY, F. K.; BRUNETTO, G. Copper and zinc in rhizosphere soil and toxicity potential in white oats (*Avena sativa*) grown in soil with long-term pig manure application. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 230, 209, 2019.

- BEZERRA, F. J. L.; REZENDE, A. A.; RODRIGUES, S. J.; ALMEIDA, M. G. Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico como Indicador da Peroxidação Lipídica em Ratos Tratados com Sevoflurano. **Sociedade Brasileira de Anestesiologia**, v. 54, n. 5, p. 640-649, 2004.
- BI, Q. F.; JIN, B. J.; ZHU, D.; JIANG, Y. G.; ZHENG, B. X.; O'CONNOR, P.; YANG, X. R.; RICHTER, A.; LIN, X. Y.; ZHU, Y. G. How can fertilization regimes and durations shape earthworm gut microbiota in a long-term field experiment? **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 224, 112643, 2021.
- BOHRER, R. E. G.; CARISSIMI, E.; LOPEZ, D. A. R.; WOLFF, D. B.; SILVA, D. M. DA; PRESTES, O. D. Composting of swine waste in the treatment of veterinary drug residues. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina (PR), v. 40, n. 6, p. 2813-2830, 2019.
- BOITT, G.; SCHMITT, D. E.; GATIBONI, L. C.; WAKELIN, S. A.; BLACK, A.; SACOMORI, W.; CASSOL, P. C.; CONDRON, L. M. Fate of phosphorus applied to soil in pig slurry under cropping in southern Brazil. **Geoderma**, v. 321, p. 164–172, 2018.
- BORGES, A. C. P.; PIASSÃO, J. F. G.; ALBANI, S. M.; ALBERTONI, E. F. Multiple metals and agricultural use affects oxidative stress biomarkers in freshwater *Aegla* crabs. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, e230147, 2022.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302–310, 1978.
- CALISI, A.; LATINO, M. E.; CORALLO, A.; GRIMALDI, A.; FERRONATO, C.; ANTISARI, L. V.; DONDERO, F. Biomarkers in soil organisms: their potential use in the assessment of soil pollution and remediation. In: SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C. **Bioremediation of agricultural soils**. Boca Raton (FL): CRC Press, 2019. p. 262–285.
- CAMOTTI BASTOS, M.; RHEINHEIMER DOS SANTOS, D.; AUBERTHEAU, É.; CASTRO LIMA, J. A. M. DE; GUET, T. LE; CANER, L.; MONDAMERT, L.; LABANOWSKI, J. Antibiotics and microbial resistance in Brazilian soils under manure application. **Land Degradation and Development**, v. 29, n. 8, p. 2472-2484, 2018.
- CARDOSO, B. F.; OYAMADA, G. C.; MAGNO DA SILVA, C. Produção, tratamento e uso dos dejetos suínos no Brasil. **Desenvolvimento em Questão**, v. 13, n. 32, p. 127-145, 2015.
- CASTAÑO-SÁNCHEZ, A.; HOSE, G. C.; REBOLEIRA, A. S. P. S. Ecotoxicological effects of anthropogenic stressors in subterranean organisms: a review. **Chemosphere**, v. 244, 125422, 2020.
- CHEN, R.; LI, X.; CHEN, H.; WANG, K.; XUE, T.; MI, J.; BAN, Y.; ZHU, G.; ZHOU, Y.; DONG, W.; TANG, L.; SANG, Z. Development of the “hidden” multi-target-directed ligands by AChE/BuChE for the treatment of Alzheimer’s disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 251, 115253, 2023.

- CHIKUVIRE, T. J.; MUCHAONYERWA, P.; ZENGENI, R. Long-term effects of pig slurry application on selected soil quality parameters and tissue composition of maize in a subhumid subtropical environment. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 36, n. 2, p. 143-148, 2019.
- CLASEN, B.; LEITEMPERGER, J.; MURUSSI, C.; PRETTO, A.; MENEZES, C.; DALABONA, F.; MARCHEZAN, E.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R.; LORO, V. L. Carbofuran promotes biochemical changes in carp exposed to rice field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 101, n. 1, p. 77-82, 2014.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Oferta e demanda de carnes**. Brasília (DF): CONAB, 2023. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuaria-e-extrativista/analises-do-mercado/oferta-e-demanda-de-carnes>>. Acesso em: 12 jan. 2024.
- CONTI, L.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; LOURENZI, C. R.; GIROTTI, E.; LORENSINI, F.; TIECHER, T. L.; MARCHEZAN, C.; ANCHIETA, M. G.; BRUNETTO, G. Soil solution concentrations and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 374-386, 2016.
- COUTO, R. R.; FERREIRA, P. A. A.; CERETTA, C. A.; LOURENZI, C. R.; FACCO, D. B.; TASSINARI, A.; PICCIN, R.; CONTI, L. DE; GATIBONI, L. C.; SCHAPANSKI, D.; BRUNETTO, G. Phosphorus fractions in soil with a long history of organic waste and mineral fertilizer addition. **Bragantia**, v. 76, n. 1, p. 155-166, 2017.
- CUI, Z.; WANG, Y.; YU, R. Concentration characteristics and risk of tetracycline antibiotics in black soil farmland. **China Environmental Science**, v. 43, n. 2, p. 748-755, 2023.
- DAAM, M. A.; GARCIA, M. V.; SCHEFFCZYK, A.; RÖMBKE, J. Acute and chronic toxicity of the fungicide carbendazim to the earthworm *Eisenia fetida* under tropical versus temperate laboratory conditions. **Chemosphere**, v. 255, 126871, 2020.
- DALMOLIN, S. P.; DREON, D. B.; THIESEN, F. V.; DALLEGRAVE, E. Biomarkers of occupational exposure to pesticides: Systematic review of insecticides. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 75, 103304, 2020.
- DAVIES, M. **Clinical signs in humans and animals associated with minerals, trace elements, and rare trace elements**. Cambridge (MA): Academic Press, 2021.
- DEMIRCI-ÇEKİÇ, S.; ÖZKAN, G.; AVAN, A. N.; UZUNBOY, S.; ÇAPANOĞLU, E.; APAK, R. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 209, 114477, 2022.
- DIETERICH, S.; BIELIGK, U.; BEULICH, K.; HASENFUSS, G.; PRESTLE, J. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. **Circulation**, v. 101, n. 1, p. 33-39, 2000.
- DING, J.; ZHU, D.; HONG, B.; WANG, H. T.; LI, G.; MA, Y. B.; TANG, Y. T.; CHEN, Q. L. Long-term application of organic fertilization causes the accumulation of antibiotic resistance in earthworm gut microbiota. **Environment International**, v. 124, p. 145-152, 2019.

- EDWARDS, C. A.; ARANCON, N. Q. Earthworms in environmental management and ecotoxicology. In: EDWARDS, C. A.; ARANCON, N. **Biology and Ecology of Earthworms**. 4. ed. New York (NY): Springer, 2022. p. 371–412.
- ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.
- FARINA, M.; AVILA, D. S.; ROCHA, J. B. T. DA; ASCHNER, M. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: a focus on iron, manganese and mercury. **Neurochemistry International**, v. 62, n. 5, p. 575-594, 2013.
- FERGUSON, G. D.; BRIDGE, W. J. The glutathione system and the related thiol network in *Caenorhabditis elegans*. **Redox Biology**, v. 24, 101171, 2019.
- FERNÁNDEZ-LABRADA, M.; LÓPEZ-MOSQUERA, M. E.; GARCÍA, L.; BARRIO, J. C.; LÓPEZ-FABAL, A. Hazards of swine slurry: heavy metals, bacteriology, and overdosing – Physicochemical models to predict the nutrient value. **Animal Science Journal**, v. 94, e13849, 2023.
- FERREIRA, P. A. A.; CERETTA, C. A.; LOURENZI, C. R.; CONTI, L. DE; MARCHEZAN, C.; GIROTTO, E.; TIECHER, T. L.; PALERMO, N. M.; PARENT, L. É.; BRUNETTO, G. Long-term effects of animal manures on nutrient recovery and soil quality in acid typic hapludalf under no-till conditions. **Agronomy**, v. 12, n. 2, 243, 2022.
- FORD, A. T.; ÅGERSTRAND, M.; BROOKS, B. W.; ALLEN, J.; BERTRAM, M. G.; BRODIN, T.; DANG, Z.; DUQUESNE, S.; SAHM, R.; HOFFMANN, F.; HOLLERT, H.; JACOB, S.; KLÜVER, N.; LAZORCHAK, J. M.; LEDESMA, M.; MELVIN, S. D.; MOHR, S.; PADILLA, S.; PYLE, G. G.; SCHOLZ, S.; SAARISTO, M.; SMIT, E.; STEEVENS, J. A.; VAN DEN BERG, S.; KLOAS, W.; WONG, B. B. M.; ZIEGELER, M.; MAACK, G. The role of behavioral ecotoxicology in environmental protection. **Environmental Science and Technology**, v. 55, n. 9, p. 5620-5628, 2021.
- FORMENTINI, T. A.; BASILE-DOELSCH, I.; LEGROS, S.; BORSCHNECK, D.; VENZON, J. S.; PINHEIRO, A.; FERNANDES, C. V. S.; MALLMANN, F. J. K.; VEIGA, M. DA; DOELSCH, E. Redistribution of Zn towards light-density fractions and potentially mobile phases in a long-term manure-amended clayey soil. **Geoderma**, v. 394, 115044, 2021.
- FORMENTINI, T. A.; LEGROS, S.; FERNANDES, C. V. S.; PINHEIRO, A.; BARS, M. LE; LEVARD, C.; MALLMANN, F. J. K.; VEIGA, M. DA; DOELSCH, E. Radical change of Zn speciation in pig slurry amended soil: Key role of nano-sized sulfide particles. **Environmental Pollution**, v. 222, p. 495–503, 2017.
- GAN, J. S.; ASHRAF, S. S.; BILAL, M.; IQBAL, H. M. N. Biodegradation of environmental pollutants using catalase-based biocatalytic systems. **Environmental Research**, v. 214, 113914, 2022.
- GAUR, N.; FLORA, G.; YADAV, M.; TIWARI, A. A review with recent advancements on bioremediation-based abolition of heavy metals. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 16, n. 2, p. 180-193, 2014.

- GIACOBINI, E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. **Pharmacological Research**, v. 50, n. 4, p. 433-440, 2004.
- GUAN, D. X.; SUN, F. S.; YU, G. H.; POLIZZOTTO, M. L.; LIU, Y. G. Total and available metal concentrations in soils from six long-term fertilization sites across China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 31, p. 31666–31678, 2018.
- GUDETA, K.; KUMAR, V.; BHAGAT, A.; JULKA, J. M.; BHAT, S. A.; AMEEN, F.; QADRI, H.; SINGH, S.; AMAROWICZ, R. Ecological adaptation of earthworms for coping with plant polyphenols, heavy metals, and microplastics in the soil: a review. **Heliyon**, v. 9, n. 3, e14572, 2023.
- GUO, P.; ZHANG, C.; WANG, Y.; YU, X.; ZHANG, Z.; ZHANG, D. Effect of long-term fertilization on humic redox mediators in multiple microbial redox reactions. **Environmental Pollution**, v. 234, p. 107–114, 2018.
- GUO, T.; LOU, C.; ZHAI, W.; TANG, X.; HASHMI, M. Z.; MURTAZA, R.; LI, Y.; LIU, X.; XU, J. Increased occurrence of heavy metals, antibiotics and resistance genes in surface soil after long-term application of manure. **Science of the Total Environment**, v. 635, p. 995–1003, 2018.
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130–7139, 1974.
- HADWAN, M. H.; ABED, H. N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. **Data in Brief**, v. 6, p. 194-199, 2016.
- VAN HALL, B. G.; SWEENEY, C.; BOTTOMS, M.; VAN GESTEL, C. A. M. Influence of soil organic matter content on the toxicity of pesticides to soil invertebrates: a review. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 19, n. 6, p. 1457-1472, 2023.
- HALLIWELL, B. Reactive oxygen species (ROS), oxygen radicals and antioxidants: Where are we now, where is the field going and where should we go? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 633, p. 17-19, 2022.
- HANSEN, P. D. Biosensors and ecotoxicology. **Engineering in Life Sciences**, v. 8, n. 1, p. 26-31, 2008.
- HATTAB, S.; CAPPELLO, T.; BOUGHATTAS, I.; SASSI, K.; MKHININI, M.; ZITOUNI, N.; MISSAWI, O.; ELISO, M. C.; ZNAIDI, A.; BANNI, M. Toxicity assessment of animal manure composts containing environmental microplastics by using earthworms *Eisenia andrei*. **Science of the Total Environment**, v. 931, 172975, 2024.
- HEJNA, M.; GOTTARDO, D.; BALDI, A.; DELL'ORTO, V.; CHELI, F.; ZANINELLI, M.; ROSSI, L. Review: nutritional ecology of heavy metals. **Animal**, v. 12, n. 10, p. 2156–2170, 2018.
- HENKLER, F.; BRINKMANN, J.; LUCH, A. The role of oxidative stress in carcinogenesis induced by metals and xenobiotics. **Cancers**, v. 2, n. 2, p. 376-396, 2010.
- HIGARASHI, M. M.; COLDEBELLA, A.; OLIVEIRA, P. A. V.; KUNZ, A.; MATTEI, R. M.; SILVA, V. S.; AMARAL, A. L. Concentração de macronutrientes e metais pesados em

maravalha de unidade de suínos em cama sobreposta. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 311-317, 2008.

HOMEM, B. G. C.; ARCANJO, A. H. M.; OLIVEIRA, P. C. S.; ALMEIDA NETO, O. B.; TRINDADE, A. G. DE; NOGUEIRA, M. A. R.; CIDRINI, I. A. Vista do Avaliação do potencial agrônômico de dois tipos de cama sobreposta de suínos. **Vértices**, v. 17, n. 3, p. 65-75, 2015.

HORF, M.; GEBBERS, R.; OLFS, H. W.; VOGEL, S. Determining nutrients, dry matter, and pH of liquid organic manures using visual and near-infrared spectrometry. **Science of the Total Environment**, v. 908, 168045, 2024.

HOU, Q.; LIN, S.; NI, Y.; YAO, L.; HUANG, S.; ZUO, T.; WANG, J.; NI, W. Assembly of functional microbial communities in paddy soil with long-term application of pig manure under rice-rape cropping system. **Journal of Environmental Management**, v. 305, 114374, 2022.

HU, C.; LI, S. L.; QIAO, Y.; LIU, D. H.; CHEN, Y. F. Effects of 30 years repeated fertilizer applications on soil properties, microbes and crop yields in rice-wheat cropping systems. **Experimental Agriculture**, v. 51, n. 3, p. 355-369, 2015.

HU, X.; GU, H.; LIU, J.; WEI, D.; ZHU, P.; CUI, X.; ZHOU, B.; CHEN, X.; JIN, J.; WANG, G. Different long-term fertilization regimes affect soil protists and their top-down control on bacterial and fungal communities in Mollisols. **Science of the Total Environment**, v. 908, 168049, 2024.

HUANG, C.; ZHANG, X.; WANG, K.; YUE, S.; QIAO, Y. Evidence for the metal resistance of earthworm *Eisenia fetida* across generations (F1 and F2) under laboratory metal exposure. **Journal of Hazardous Materials**, v. 425, 128006, 2022.

HUSSAIN, B.; LI, J.; MA, Y.; CHEN, Y.; WU, C.; ULLAH, A.; TAHIR, N. A field evidence of Cd, Zn and Cu accumulation in soil and rice grains after long-term (27 years) application of swine and green manures in a paddy soil. **Sustainability**, v. 13, n. 4, 2404, 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agropecuária**. Brasília (DF): IBGE, 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

JIAO, H.; YIN, Q.; FAN, C.; WANG, L.; ZHAO, J.; WANG, X.; DU, K.; LIN, H. Long-term effects of liquid swine manure land surface application in an apple orchard field on soil bacterial community and heavy metal contents in apple (*Malus pumila* Mill.). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 36, p. 49613-49626, 2021.

KAPUR, M. L.; KANWAR, R. S. Influence of cane filter cakes and cattle manure on micronutrients content in sugar-beet and their availability in alkaline sandy loam soil. **Biological Wastes**, v. 29, n. 3, p. 233-238, 1989.

KODAOLU, B.; MOHAMMED, I.; WANG, Y.; ZHANG, T.; AUDETTE, Y.; LONGSTAFFE, J. Assessment of phosphorus status in a calcareous soil receiving long-term application of chemical fertilizer and different forms of swine manures. **Journal of Environmental Quality**, v. 53, p. 112-122, 2023.

- KÖNINGER, J.; LUGATO, E.; PANAGOS, P.; KOCHUPILLAI, M.; ORGIAZZI, A.; BRIONES, M. J. I. Manure management and soil biodiversity: Towards more sustainable food systems in the EU. **Agricultural Systems**, v. 194, 103251, 2021.
- KONZEN, E. A.; ALVARENGA, R. C. **Manejo e utilização de dejetos animais: aspectos agronômicos e ambientais**. Circular Técnica, v. 63. Sete Lagoas (MG): Embrapa, 2005.
- KOWALSKA, A.; GROBELAK, A.; ALMÅS, Å. R.; SINGH, B. R. Effect of biowastes on soil remediation, plant productivity and soil organic carbon sequestration: a review. **Energies**, v. 13, n. 21, 5813, 2020.
- LACHER, T. E.; GOLDSTEIN, M. I. Tropical ecotoxicology: status and needs. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 100–111, 1997.
- LAMMERTYN, S.; MASÍN, C. E.; ZALAZAR, C. S.; FERNANDEZ, M. E. Biomarkers response and population biological parameters in the earthworm *Eisenia fetida* after short term exposure to atrazine herbicide. **Ecological Indicators**, v. 121, 107173, 2021.
- LEWANDOWSKI, Ł.; KEPINSKA, M.; MILNEROWICZ, H. Inhibition of copper-zinc superoxide dismutase activity by selected environmental xenobiotics. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 58, p. 105–113, 2018.
- LI, W.; MA, L.; SHI, F.; WANG, S.; ZHAO, J.; ZHENG, W.; LI, ZHIJUN; LI, ZIYAN; ZHAI, B. Regulation of soil water and nitrate by optimizing nitrogen fertilization and the addition of manure based on precipitation: An 8-year field record. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 354, 108586, 2023.
- LIMA, G. W. B.; LEITÃO, F. O.; SILVA, W. H. DA. Práticas adotadas na suinocultura alinhadas com a economia circular: uma revisão integrativa da literatura. **Desenvolvimento em Questão**, v. 19, n. 57, p. 174-194, 2021.
- LIU, Y.; CHEN, M.; MU, X.; WANG, X.; ZHANG, M.; YIN, Y.; WANG, K. Responses and detoxification mechanisms of earthworm *Amyntas hupeiensis* to metal contaminated soils of North China. **Environmental Pollution**, v. 327, 121584, 2023.
- LIU, Z.; ZHOU, H.; XIE, W.; YANG, Z.; LV, Q. Long-term effects of maize straw return and manure on the microbial community in cinnamon soil in Northern China using 16S rRNA sequencing. **PLoS ONE**, v. 16, n. 4, e0249884, 2021.
- LOSS, A.; WILBERT FERREIRA, G.; JOSÉ COMIN, J.; GERVASIO PEREIRA, M.; APARECIDA FREO, V.; CÁSSIA PICCOLO, M. DE; BRUNETTO, G. Carbono orgânico total e oxidável em agregados de um argissolo adubado com dejetos suínos. **Ciencia del suelo**, v. 38, n. 1, p. 12-20, 2020.
- LOURENZI, C. R. et al. Forms of nitrogen and phosphorus transfer by runoff in soil under no-tillage with successive organic waste and mineral fertilizers applications. **Agricultural Water Management**, v. 248, 106779, 2021.
- LUKKARI, T.; TAAVITSAINEN, M.; SOIMASUO, M.; OIKARI, A.; HAIMI, J. Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure: differences between populations with and without earlier metal exposure. **Environmental Pollution**, v. 129, n. 3, p. 377-386, 2004.

- MACCARI, A. P.; BARETTA, D.; PAIANO, D.; LESTON, S.; FREITAS, A.; RAMOS, F.; SOUSA, J. P.; KLAUBERG-FILHO, O. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 314, p. 113-120, 2016.
- MARCHEZAN, C.; FERREIRA, P. A. A.; SILVA, L. S.; BACCA, A.; KRUG, A. V.; NICOLOSO, F. T.; TAROUÇO, C. P.; TIECHER, T. L.; BRUNETTO, G.; CERETTA, C. A. Nitrogen Availability and Physiological Response of Corn After 12 Years with Organic and Mineral Fertilization. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 979-989, 2020.
- MARKAD, V. L.; GAUPALE, T. C.; BHARGAVA, S.; KODAM, K. M.; GHOLE, V. S. Biomarker responses in the earthworm, *Dichogaster curgensis* exposed to fly ash polluted soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 118, p. 62-70, 2015.
- MARTÍ, E.; SIERRA, J.; MARI, M.; ORTIZ, C.; ROIG, N.; NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Long-term amendment of soils with compost and pig manure: Effects on soil function, production and health risk assessment. **Acta Horticulturae**, v. 1146, p. 199-212, 2016.
- MAZARI, A. M. A.; ZHANG, L.; YE, Z. W.; ZHANG, J.; TEW, K. D.; TOWNSEND, D. M. The multifaceted role of glutathione S-transferases in health and disease. **Biomolecules**, v. 13, n. 4, 688, 2023.
- MENEZES, J. F.S.; SILVA, M. P.; CAETANO, J. O.; CANTÃO, V. C. G.; BENITES, V. M. Maize yield after long-term application of pig slurry. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 10, p. 686–690, 2017.
- MENEZES, J. F. S.; TEODORO, A. O. A.; BERTI, M. P. S.; MENEZES, C. C. E.; CANTÃO, V. C. G.; CAETANO, J. O.; BENITES, V. M. Long-term application of swine manure can increase Cu and Zn contents in the pasture soils. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 744–748, 2017.
- MOINARD, V.; REDONDI, C.; ETIÉVANT, V.; SAVOIE, A.; DUCHENE, D.; PELOSI, C.; HOUOT, S.; CAPOWIEZ, Y. Short- and long-term impacts of anaerobic digestate spreading on earthworms in cropped soils. **Applied Soil Ecology**, v. 168, 104149, 2021.
- MOLDOGAZIEVA, N. T.; ZAVADSKIY, S. P.; ASTAKHOV, D. V.; TERENTIEV, A. A. Lipid peroxidation: Reactive carbonyl species, protein/DNA adducts, and signaling switches in oxidative stress and cancer. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 687, 149167, 2023.
- MONTEIRO, R. T. R.; FRIGHETTO, R. T. S. Determinação da umidade, pH e capacidade de retenção de água no solo. In: FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. (Eds.). **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico**. Jaguariúna (SP): EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p. 37–40.
- MORAES, R. E.; SILVEIRA, R. F.; PINHEIRO, L. J.; OLLÉ, M. A.; SILVEIRA, I. D. B. Suinocultura e o Meio-ambiente: Revisão de Literatura. **Revista eletrônica de Veterinária**, v. 18, n. 10, p. 1–18, 2017.

- TAVARES, R. L. M.; ASSIS, R. L.; FERREIRA, R. V.; MENEZES, J. F. S.; SIMON, G. A.; BOLDRIN, P. F.; CANTÃO, V. C. G. Long term application of pig manure on the chemical and physical properties of Brazilian Cerrado soil. **Carbon Management**, v. 10, n. 6, p. 541-549, 2019.
- MOSLEH, Y. Y.; PARIS-PALACIOS, S.; BIAGIANTI-RISBOURG, S. Metallothioneins induction and antioxidative response in aquatic worms *Tubifex tubifex* (Oligochaeta, Tubificidae) exposed to copper. **Chemosphere**, v. 64, n. 1, p. 121–128, 2006.
- MOURA, A. C.; SAMPAIO, S. C.; REMOR, M. B.; SILVA, A. P. DA; PEREIRA, P. A. M. Long-term effects of swine wastewater and mineral fertilizer association on soil microbiota. **Journal of the Brazilian Association of Agricultural Engineering**, v. 36, n. 2, p. 318–328, 2016.
- NADOLNY, H.; SANTOS, A.; DEMETRIO, W.; FERREIRA, T.; MAIA, L. S.; CONRADO, A. C.; BARTZ, M.; GARRASTAZU, M.; SILVA, E.; BARETTA, D.; PASINI, A.; VEZZANI, F.; SOUSA, J. P.; CUNHA, L.; MATHIEU, J.; LAVELLE, P.; RÖMBKE, J.; BROWN, G. Recommendations for assessing earthworm populations in Brazilian ecosystems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, e01006, 2020.
- NIEMEYER, J. C.; CHELINHO, S.; SOUSA, J. P. Soil ecotoxicology in Latin America: current research and perspectives. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 7, p. 1795–1810, 2017.
- NIVA, C. C.; BROWN, G. G. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília (DF): Embrapa, 2019.
- NIVA, C. C.; NIEMEYER, J. C.; SILVA JÚNIOR, F. M. R.; NUNES, M. E. T.; SOUSA, D. L.; ARAGÃO, C. W. S.; SAUTTER, K. D.; ESPINDOLA, E. G.; SOUSA, J. P.; RÖMBKE, J. Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 11, p. 11363-11378, 12 abr. 2016.
- NOTARIS, C. DE; JENSEN, J. L.; OLESEN, J. E.; STUMPF DA SILVA, T.; RASMUSSEN, J.; PANAGEA, I.; RUBÆK, G. H. Long-term soil quality effects of soil and crop management in organic and conventional arable cropping systems. **Geoderma**, v. 403, 115383, 2021.
- OECD. Organisation for Economic Co-Operation and Development. **OECD guidelines for the testing of chemicals n. 222**. Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida*/ *Eisenia andrei*). Paris: OECD, 2016.
- OJO, O. F.; ADEWUMI, D. G.; OLUWATOYIN, A. K. Glutathione-S-transferase production in earthworm (Annelida: Eudrilidae) as a tool for heavy metal pollution assessment in abattoir soil. **Revista de Biologia Tropical**, v. 64, n. 2, p. 779-789, 2016.
- OLIVEIRA FILHO, J. S.; FERRARI, A. C.; PEREIRA, M. G.; PINTO, L. A. S. R.; ZONTA, E.; MATOS, T. S. Phosphorus accumulation in soil after successive applications of swine manure: a long-term study in Brazil. **Environmental Earth Sciences**, v. 79, 62, 2020.
- OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; BARETTA, D.; ZORTÉA, T.; OLIVEIRA, J. P. M.; SANTOS, J. C. P. Resíduo piritoso provoca toxicidade aguda e crônica em *Collembola* e *Oligochaeta*. **Scientia Agraria**, v. 18, n. 1, p. 64-75, 2017.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 70, n. 1, p. 158-169, 1967.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 70, n. 1, p. 158-169, 1967.

PARELHO, C.; RODRIGUES, A. S.; BERNARDO, F.; BARRETO, M. C.; CUNHA, L.; POETA, P.; GARCIA, P. Biological endpoints in earthworms (*Amyntas gracilis*) as tools for the ecotoxicity assessment of soils from livestock production systems. **Ecological Indicators**, v. 95, p. 984-990, 2018.

PARENTE, C. E. T.; BRITO, E. M. S.; AZEREDO, A.; MEIRE, R. O.; MALM, O. Fluoroquinolone antibiotics and their interactions in agricultural soils - a review. **Orbital**, v. 11, n. 1, p. 42-52, 2019.

PARRA-ARROYO, L.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, R. B.; CASTILLO-ZACARÍAS, C.; MELCHOR MARTÍNEZ, E. M.; SOSA-HERNÁNDEZ, J. E.; BILAL, M.; IQBAL, H. M. N.; BARCELÓ, D.; PARRA-SALDÍVAR, R. Highly hazardous pesticides and related pollutants: Toxicological, regulatory, and analytical aspects. **Science of the Total Environment**, v. 807, 151879, 2022.

PEREIRA, E. R.; COGO, A. J. D.; CRUZ, Z. M. A. Biomarcadores enzimáticos em *Holothuria grisea* (Selenka, 1867) expostas ao chumbo, cádmio e cobre. **Natureza on line**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2014.

PRADO, J.; RIBEIRO, H.; ALVARENGA, P.; FANGUEIRO, D. A step towards the production of manure-based fertilizers: Disclosing the effects of animal species and slurry treatment on their nutrients content and availability. **Journal of Cleaner Production**, v. 337, 130369, 2022.

QASWAR, M.; YIREN, L.; LIU, K.; ZHENZHEN, L.; HONGQIAN, H.; LAN, X.; JIANHUA, J.; AHMED, W.; LISHENG, L.; MOUAZEN, A. M.; HUIMIN, Z. Interaction of Soil Nutrients and Arsenic (As) in Paddy Soil in a Long-Term Fertility Experiment. **Sustainability**, v. 14, n. 19, 11939, 2022.

QIN, X.; GUO, S.; ZHAI, L.; PAN, J.; KHOSHNEVISAN, B.; WU, S.; WANG, H.; YANG, B.; JI, J.; LIU, H. How long-term excessive manure application affects soil phosphorous species and risk of phosphorous loss in fluvo-aquic soil. **Environmental Pollution**, v. 266, 1 nov. 2020.

QUAIK, S.; EMBRANDIRI, A.; RAVINDRAN, B.; HOSSAIN, K.; AL-DHABI, N. A.; ARASU, M. V.; IGNACIMUTHU, S.; ISMAIL, N. Veterinary antibiotics in animal manure and manure laden soil: Scenario and challenges in Asian countries. **Journal of King Saud University – Science**, v. 32, n. 2, p. 1300-1305, 2020.

R CORE TEAM. **R: The R Project for Statistical Computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 3 fev. 2024.

- RAN, C.; LIU, C.; PENG, C.; LI, X.; LIU, Y.; LI, Y.; ZHANG, W.; CAI, H.; WANG, L. Oxidative potential of heavy-metal contaminated soil reflects its ecological risk on earthworm. **Environmental Pollution**, v. 323, 121275, 2023.
- RAUBER, L. P.; ANDRADE, A. P.; FRIEDERICHS, A.; MAFRA, Á. L.; BARETTA, D.; ROSA, M. G. DA; MAFRA, M. S. H.; CORREA, J. C. Soil physical indicators of management systems in traditional agricultural areas under manure application. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 4, p. 354-359, 2018.
- RODRIGUES, L. A. T.; GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; LOURENZI, C. R.; BRUNETTO, G.; BACCA, A.; CERETTA, C. A. Short- and long-term effects of animal manures and mineral fertilizer on carbon stocks in subtropical soil under no-tillage. **Geoderma**, v. 386, 114913, 2021.
- RODRIGUEZMOZAZ, S.; ALDA, M.; MARCO, M.; BARCELO, D. Biosensors for environmental monitoring: a global perspective. **Talanta**, v. 65, n. 2, p. 291-297, 2005.
- SALEH, E. A. M.; AL-DOLAIMY, F.; QASIM ALMAJIDI, Y.; BAYMAKOV, S.; KADER M, M. A.; ULLAH, M. I.; ABBAS, A. HUSSIEN R.; KHLEWEE, I. H.; BISHT, Y. S.; ALSAALAMY, A. H. Oxidative stress affects the beginning of the growth of cancer cells through a variety of routes. **Pathology – Research and Practice**, v. 249, 154664, 2023.
- SALUDES, R. B.; IWABUCHI, K.; MIYATAKE, F.; ABE, Y.; HONDA, Y. Characterization of dairy cattle manure/wallboard paper compost mixture. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 15, p. 7285-7290, 2008.
- SAMET, J. M.; WAGES, P. A. Oxidative stress from environmental exposures. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 60–66, 2018.
- SANTOS, H. G.; ZARONI, M. J.; ALMEIDA, E. P. C. A. **Argissolos vermelhos**. Brasília (DF): Embrapa, 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/solos-tropicais/sibcs/chave-do-sibcs/argissolos/argissolos-vermelhos>>. Acesso em: 26 jan. 2024.
- SANTOS, M.; CASTRO, Y.; MARQUES, R.; PEREIRA, D.; GODOY, M.; REGES, N. Importância da calagem, adubações tradicionais e alternativas na produção de plantas forrageiras: revisão. **Pubvet**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2016.
- SARTO, J. R. W.; NERES, M. A.; SUNAHARA, S. M. M.; NATH, C. D.; SARTO, M. V. M. Chemical composition of swine wastewater, soil, and tifton 85 after 8 years of application. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 1, p. 259-269, 2019.
- SBCS. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – Núcleo Regional Sul. **Manual de calagem e adubação para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 11. ed. Passo Fundo (RS): Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC, 2016.
- SMICHOWSKI, P.; MARRERO, J.; GÓMEZ, D. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of trace element in PM_{2,5} airborne particulate matter collected in an industrial area of Argentina. **Microchemical Journal**, v. 80, n. 1, p. 9-17, 2005.

- SCHIRMER, K.; FISCHER, B. B.; MADUREIRA, D. J.; PILLAI, S. Transcriptomics in ecotoxicology. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 3, p. 917-923, 2010.
- SCHLEGEL, A. J.; ASSEFA, Y.; BOND, H. D.; WETTER, S. M.; STONE, L. R. Soil physicochemical properties after 10 years of animal waste application. **Soil Science Society of America Journal**, v. 79, n. 3, p. 711-719, 2015.
- SEGANFREDO, M. A. **A questão ambiental do uso de dejetos de suínos como fertilizante do solo**. Circular Técnica, n. 22. Concórdia (SC): Embrapa Suínos e Aves, 2000.
- SEGAT, J. C.; ALVES, P. R. L.; BARETTA, D.; CARDOSO, E. J. B. N. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 122, p. 91-97, 2015.
- SEGAT, J. C.; ALVES, P. R. L.; BARETTA, D.; CARDOSO, E. J. B. N. Ecotoxicological effects of swine manure on *Folsomia candida* in subtropical soils. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, p. 1–10, 2020.
- SEGAT, J. C.; SOUSA, J. P.; BARETTA, D.; KLAUBERG-FILHO, O. Increasing level of liquid pig manure reduces *Eisenia andrei* and *Enchytraeus crypticus* reproduction in subtropical soils. **Scientific Reports**, v. 10, 10687, 2020.
- SHEN, C.; HE, M.; ZHANG, J.; LIU, J.; WANG, Y. Response of soil antibiotic resistance genes and bacterial communities to fresh cattle manure and organic fertilizer application. **Journal of Environmental Management**, v. 349, 119453, 2024.
- SILVA, D. C. O. DA; NASCIMENTO, E. N.; SILVA, A. O. DA; UCHÔA, S. C. P.; BARRETO, G. F. Effect of biofertilization with cattle urine on the chemical properties of an Oxisol from the Amazon savanna. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 53, e75568, 2023.
- SIMÕES, B. F.; MAZUR, N.; CORREIA, M. E. F.; NIEMEYER, J. C.; MATOS, T. DE S. Ecotoxicity test as an aid in the determination of copper guideline values in soils. **Ciencia Rural**, v. 50, n. 6, e20180961, 2020.
- SINGH, N.; KUMAR, S.; UDAWATTA, R. P.; ANDERSON, S. H.; JONGE, L. W. DE; KATUWAL, S. X-ray micro-computed tomography characterized soil pore network as influenced by long-term application of manure and fertilizer. **Geoderma**, v. 385, 114872, 2021.
- SINGH, R. L.; SINGH, P. K. Global Environmental Problems. In: SINGH, R. L. **Principles and applications of environmental biotechnology for a sustainable future**. New York (NY): Springer, 2017. p. 13–41.
- SISINNO, C. L. S.; SAUTTER, K. D.; NIVA, C. C. Ecotoxicologia terrestre e os instrumentos normativos e regulamentadores no Brasil. In: NIVA, C. C.; BROWN, G. G. (Eds.). **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília (DF): Embrapa, 2019. p. 71-78.
- SOARES, P. B.; CARNEIRO, T. C. J.; CALMON, J. L.; CASTRO, L. O. C. O. Análise bibliométrica da produção científica brasileira sobre Tecnologia de Construção e Edificações na base de dados Web of Science. **Ambiente Construído**, v. 16, n. 1, p. 175-185, 2016.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. 13. ed. Washington (DC): USDA Natural Resources Conservation Service, 2022.

SONG, X.; WANG, X.; LIAO, G.; PAN, Y.; QIAN, Y.; QIU, J. Toxic effects of fipronil and its metabolites on PC12 cell metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 224, 112677, 2021.

SOONVALD, L.; LOIT, K.; RUNNO-PAURSON, E.; ASTOVER, A.; TEDERSOO, L. The role of long-term mineral and organic fertilisation treatment in changing pathogen and symbiont community composition in soil. **Applied Soil Ecology**, v. 141, p. 45-53, 2019.

SOUZA, A. J.; PEREIRA, A. P. A.; ANDREOTE, F. D.; TORNISIELO, V. L.; TIZIOTO, P. C.; COUTINHO, L. L.; REGITANO, J. B. Sulfadiazine dissipation as a function of soil bacterial diversity. **Environmental Pollution**, v. 271, 116374, 2021.

TAN, X.; WANG, Z.; CHEN, D.; LUO, K.; XIONG, X.; SONG, Z. Study on the interaction of catalase with pesticides by flow injection chemiluminescence and molecular docking. **Chemosphere**, v. 108, p. 26–32, 2014.

TANG, R.; LI, X.; MO, Y.; MA, Y.; DING, C.; WANG, J.; ZHANG, T.; WANG, X. Toxic responses of metabolites, organelles and gut microorganisms of *Eisenia fetida* in a soil with chromium contamination. **Environmental Pollution**, v. 251, p. 910-920, 2019.

TAO, H.; LI, X.; WANG, Q.; YU, L.; YANG, P.; CHEN, W.; YANG, X.; ZHOU, J.; GENG, D. Redox signaling and antioxidant defense in osteoclasts. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 212, p. 403–414, 2024.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Boletim técnico, n. 5. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995.

TEREKHOVA, V. A. Biotesting of soil ecotoxicity in case of chemical contamination: modern approaches to integration for environmental assessment (a review). **Eurasian Soil Science**, v. 55, n. 5, p. 601–612, 2022.

TIAN, X.; HAN, B.; LIANG, J.; YANG, F.; ZHANG, K. Tracking antibiotic resistance genes (ARGs) during earthworm conversion of cow dung in northern China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 222, 112538, 2021.

USDA. United States Department of Agriculture. **Production, Supply and Distribution – PSD Online**. Washington (DC): USDA Foreign Agricultural Service, 2024. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

UWIZEYIMANA, H.; WANG, M.; CHEN, W.; KHAN, K. The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 55, p. 20-29, 2017.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

VELLINGIRI, B; SURIYANARAYANAN, A.; SELVARAJ, P.; ABRAHAM, K. S.; PASHA, M. Y.; WINSTER, H.; GOPALAKRISHNAN, A. V.; SINGARAVELU, G.; REDDY, J. K.; AYYADURAI, N.; KUMAR, N.; GIRIDHARAN, B.; SIVAPRAKASH, P.; SAMBASIVA RAO, K. R. S.; NACHIMUTHU, S. K.; NARAYANASAMY, A.; MAHALAXMI, I.; VENKATESAN, D. Role of heavy metals (copper (Cu), arsenic (As), cadmium (Cd), iron (Fe) and lithium (Li)) induced neurotoxicity. **Chemosphere**, v. 301, 134625, 2022.

VOSVIEWER. **VOSviewer – Visualizing scientific landscapes**. Disponível em: <<https://www.vosviewer.com/>>. Acesso em: 26 jan. 2024.

WANG, G.; WANG, L.; MA, F.; YANG, D.; YOU, Y. Earthworm and arbuscular mycorrhiza interactions: Strategies to motivate antioxidant responses and improve soil functionality. **Environmental Pollution**, v. 272, 115980, 2021.

WANG, J.; WU, L.; XIAO, Q.; HUANG, Y.; LIU, K.; WU, Y.; LI, D.; DUAN, Y.; ZHANG, W. Long-term manuring enhances soil gross nitrogen mineralization and ammonium immobilization in subtropical area. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 348, 108439, 2023.

WANG, K.; QIAO, Y.; ZHANG, H.; YUE, S.; LI, H.; JI, X.; LIU, L. Bioaccumulation of heavy metals in earthworms from field contaminated soil in a subtropical area of China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 876–883, 2018.

WANG, Q.; ZHAN, X. Y.; ZHANG, S. X.; PENG, C.; GAO, H. J.; ZHANG, X. Z.; ZHU, P.; GILLES, C. Phosphorus adsorption and desorption characteristics and its response to soil properties of black soil under long-term different fertilization. **Scientia Agricultura Sinica**, v. 52, n. 21, p. 3866-3877, 2019.

WANG, X.; DAI, Z.; LIN, J.; ZHAO, H.; YU, H.; MA, B.; HU, L.; SHI, J.; CHEN, X.; LIU, M. KE, X.; YU, Y.; DAHLGREN, R. A.; XU, J. Heavy metal contamination collapses trophic interactions in the soil microbial food web via bottom-up regulation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 184, 109058, 2023.

WANG, X.; LIU, W.; LI, Z.; TENG, Y.; CHRISTIE, P.; LUO, Y. Effects of long-term fertilizer applications on peanut yield and quality and plant and soil heavy metal accumulation. **Pedosphere**, v. 30, n. 4, p. 555-562, 2020.

WU, J.; REN, Z.; ZHANG, C.; MOTELICA-HEINO, M.; DENG, T.; WANG, H.; DAI, J. Effects of soil acid stress on the survival, growth, reproduction, antioxidant enzyme activities, and protein contents in earthworm (*Eisenia fetida*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 27, p. 33419–33428, 2020.

XIE, X.; LI, Y.; WANG, J.; ZHOU, Y.; YANG, Z.; ZHU, Z. Occurrence of veterinary antibiotics in arable soil with different fertilisation modes: a field study. **Soil Research**, v. 61, n. 2, p. 136-144 2023.

XIONG, W.; DING, X.; ZHANG, Y.; SUN, Y. Ecotoxicological effects of a veterinary food additive, copper sulphate, on antioxidant enzymes and mRNA expression in earthworms.

Environmental Toxicology and Pharmacology, v. 37, n. 1, p. 134-140, 2014.

XU, Y.; LI, J.; ZHANG, X.; WANG, L.; XU, X.; XU, L.; GONG, H.; XIE, H.; LI, F. Data integration analysis: Heavy metal pollution in China's large-scale cattle rearing and reduction potential in manure utilization. **Journal of Cleaner Production**, v. 232, p. 308-317, 2019.

XUN, W.; XIONG, W.; HUANG, T.; RAN, W.; LI, D.; SHEN, Q.; LI, Q.; ZHANG, R. Swine manure and quicklime have different impacts on chemical properties and composition of bacterial communities of an acidic soil. **Applied Soil Ecology**, v. 100, p. 38-44, 2016.

YADAV, R.; KUMAR, R.; GUPTA, R. K.; KAUR, T.; KIRAN; KOUR, A.; KAUR, S.; RAJPUT, A. Heavy metal toxicity in earthworms and its environmental implications: A review. **Environmental Advances**, v. 12, 100374, 2023.

YAN, L. J.; LODGE, J. K.; TRABER, M. G.; PACKER, L. Apolipoprotein B carbonyl formation is enhanced by lipid peroxidation during copper-mediated oxidation of human low-density lipoproteins. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 339, n. 1, p. 165-171, 1997.

YANG, X.; LI, Q.; TANG, Z.; ZHANG, W.; YU, G.; SHEN, Q.; ZHAO, F. J. Heavy metal concentrations and arsenic speciation in animal manure composts in China. **Waste Management**, v. 64, p. 333-339, 2017.

YU, W.; ZHANG, Y.; SANG, W. Integration of transcriptomic and metabolomic reveals metabolic pathway alteration in earthworms (*Eisenia fetida*) under copper exposure. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 260, 109400, 2022.

ZANOTELLI, F. L. A. **Relação entre as percepções de qualidade do produtor rural e dos consumidores de carne bovina**. Brasília (DF): UNB, 2021.

ZEB, A.; LI, S.; WU, J.; LIAN, J.; LIU, W.; SUN, Y. Insights into the mechanisms underlying the remediation potential of earthworms in contaminated soil: a critical review of research progress and prospects. **Science of The Total Environment**, v. 740, 140145, 2020.

ZHANG, G.; CHEN, Z.; ZHANG, A.; CHEN, L.; WU, Z.; MA, X. Phosphorus composition and phosphatase activities in soils affected by long-term application of pig manure and inorganic fertilizers. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 45, n. 14, p. 1866-1876, 2014.

ZHANG, YU; CHENG, D.; XIE, J.; ZHANG, YUTING; WAN, Y.; ZHANG, YUEQIANG; SHI, X. Impacts of farmland application of antibiotic-contaminated manures on the occurrence of antibiotic residues and antibiotic resistance genes in soil: A meta-analysis study. **Chemosphere**, v. 300, 134529, 2022.

ZHAO, W.; TENG, M.; ZHANG, JIE; WANG, K.; ZHANG, JIALU; XU, Y.; WANG, C. Insights into the mechanisms of organic pollutant toxicity to earthworms: Advances and perspectives. **Environmental Pollution**, v. 303, 119120, 2022.

ZHAO, Y.; YAN, Z.; QIN, J.; XIAO, Z. Effects of long-term cattle manure application on soil properties and soil heavy metals in corn seed production in Northwest China.

Environmental Science and Pollution Research, v. 21, n. 12, p. 7586-7595, 2014.

ZHOU, B.; WANG, C.; ZHAO, Q.; WANG, Y.; HUO, M.; WANG, J.; WANG, S.

Prevalence and dissemination of antibiotic resistance genes and coselection of heavy metals in Chinese dairy farms. **Journal of Hazardous Materials**, v. 320, p. 10-17, 2016.