



ANA CAROLINE RANGEL SANTOS

**FERTILIZAÇÃO NITROGENADA EM PASTAGENS:
IMPACTOS SOBRE O ESCARABEÍNEO *DICHOTOMIUS BOS*
(BLANCHARD, 1846)**

**LAVRAS-MG
2017**

ANA CAROLINE RANGEL SANTOS

**FERTILIZAÇÃO NITROGENADA EM PASTAGENS: IMPACTOS SOBRE O
ESCARABEÍNEO *DICHOTOMIUS BOS* (BLANCHARD, 1846)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais em Ecossistemas Fragmentados e Agroecossistemas, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Júlio Louzada
Orientador

**LAVRAS-MG
2017**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Santos, Ana Caroline Rangel.

Fertilização nitrogenada em pastagens: impactos sobre o
escarabeíneo *Dichotomius bos* (Blanchard, 1846) / Ana Caroline
Rangel Santos. - 2017.

51 p. : il.

Orientador(a): Júlio Neil Cassa Louzada.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Besouro rola-bosta. 2. Ureia fertilizante. 3. Funções
ecológicas. I. Louzada, Júlio Neil Cassa. . II. Título.

ANA CAROLINE RANGEL SANTOS

**FERTILIZAÇÃO NITROGENADA EM PASTAGENS: IMPACTOS SOBRE O
ESCARABEÍNEO *DICHOTOMIUS BOS* (BLANCHARD, 1846)
NITROGEN FERTILIZATION IN PASTURES: IMPACTS ON THE SCARABEINAE
DICHOTOMIUS BOS (BLANCHARD, 1846)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais em Ecossistemas Fragmentados e Agroecossistemas, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de abril de 2017.
Dra. Vanesca Korasaki, UEMG.
Dr. Luís Cláudio Paterno Silveira, UFLA.

Prof. Dr. Júlio Louzada
Orientador

**LAVRAS-MG
2017**

*Aos meus pais, minha maior força e meu maior orgulho,
Dedico*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelas oportunidades e pela capacidade de passar por cima de todas as dificuldades encontradas nessa longa caminhada.

Aos meus pais, que apesar de todas as dificuldades, compreenderam os motivos que me mantiveram aqui e me deram força suficiente para não desistir, se eu cheguei até aqui, foi por vocês. À minha irmã, pela cumplicidade, pelo apoio, pelos puxões de orelha, pelas brigas, enfim, por ser minha melhor amiga.

À uma pessoa incrível que conheci nessa reta final, Gui, muito obrigada pela paciência, pela lealdade, pelas madrugadas acordadas conversando, pelos conselhos nas crises de ansiedade e por sempre acreditar na minha capacidade e me apoiar em todas as minhas decisões.

Aos meus avós, em especial ao meu vô Iracy, que sempre se mostrou confiante em minha capacidade e se preocupou muito comigo.

Ao meu orientador, Júlio Louzada, pela recepção, disponibilidade, paciência e por todos os ensinamentos ao longo dessa caminhada.

Ao meu grande amigo Marcos Bruno, que topou o desafio das minhas coletas em pleno final de ano, abrindo mão de várias coisas para acordar cedo, mesmo debaixo de chuva e coletar meus tão sofridos besouros.

A todos os meus colegas de laboratório que se envolveram de alguma forma em meu trabalho, seja na ajuda física ou na psicológica. Em especial, à Larissa e Yojana, meninas lindas que toparam passar um final de semana inteiro no laboratório, virando a noite do sábado, comendo pizza e montando meu tão suado experimento. E Nay, que foi além de uma colega de laboratório, foi uma grande amiga e esteve comigo em momentos cruciais, tanto profissionais, quanto pessoais, obrigada pelas nights divertidas em Lavras.

Ao Arleu, por topar essa parceria e contribuir enormemente com o desenrolar desse trabalho, sem você, o trabalho jamais seria o mesmo. Ao professor Daniel Casagrande, por ser paciente comigo, por todas as dicas de grande valia e pela contribuição com o conhecimento em uma área completamente nova para mim.

Ao pessoal do G-Óleo, em especial à Barbara e ao Danilo, que se dispuseram em contribuir com o trabalho e realizaram a extração de gordura dos meus besouros.

Às minhas LuluEcos, Ni, Dri e Mari, que mesmo quando o contato diminuía, eu sabia que as tinha ali para contar sempre. Vocês tornaram meu caminho em Lavras muito menos sofrido.

À Ni, uma pessoa maravilhosa que Deus colocou em meu caminho para me entender, me ouvir chorar, ouvir minhas longas histórias, me xingar quando necessário. Não há palavras

que descrevam o meu apreço. Sofrerei muito com sua ausência daqui pra frente, mas sei que é uma amizade pra vida inteira.

À Rafinha, uma pessoa que tenho tamanha admiração e confiança. Obrigada pelas longas conversas, pela companhia na academia, pelas dicas e por sempre acreditar que eu podia ser melhor. À Júlia, uma grande amiga e um ponto de confiança, agradeço pelas conversas e por todo apoio. Ao Pará e ao Marcos, dois grandes companheiros de farra e amigos, valeu por terem me dado a honra de conhecer Viçosa na melhor das suas formas (Nóis na Nicoloco, Nóis em Lavras, Nóis em todos os lugares).

À minha família de Lavras, minha mãezinha Neusa, Antônio e Arthur, o maior presente que Deus pôde me dar. Obrigada por me acolherem quando mais precisei, por me adotarem e me receberem com tanto amor. Nosso laço jamais será desfeito.

À UFLA, em especial ao Programa de Ecologia Aplicada, pela oportunidade de mostrar um pouco da minha capacidade. À Capes, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Enfim, quero agradecer a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento desse trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Conversões do habitat natural em agricultura e pastagem, somado ao uso de fertilização inorgânica, estão entre os maiores causadores da perda da biodiversidade e conseqüentemente, perda de serviços ecossistêmicos. Vários estudos têm demonstrado o efeito negativo do uso de fertilização nitrogenada sobre a diversidade edáfica. Assim, a fim de verificar os efeitos da fertilização nitrogenada nas funções ecológicas fornecidas por besouros escarabeíneos, na sobrevivência, no peso e na gordura corporal desses organismos, realizamos experimentos em campo e em laboratório utilizando o besouro *Dichotomius bos*, abundante e amplamente distribuídas nas pastagens brasileiras. No primeiro experimento, foram verificadas as funções ecológicas desempenhadas pelos besouros em uma pastagem em função da presença da ureia. No segundo, utilizamos mesocosmos em laboratório para avaliar as funções ecológicas em tempo de exposição prolongado. No terceiro, utilizamos mesocosmos em laboratório para avaliar a sobrevivência, a variação no peso e gordura corporal dos besouros. Nossos resultados apontam que a dosagem comercial da ureia não interfere no desempenho das funções ecológicas pelos besouros, tanto no campo, sob condições naturais, quanto em laboratório, sob condições controladas. Isso pode estar associado ao tempo de reação do agroquímico no solo, que ocorre de forma muito rápida; à dosagem de ureia utilizada, sendo muito baixa para ser sentida pelos besouros; à aplicação em dose única da ureia e; à possibilidade de estar ocorrendo efeitos subletais. Quando a dosagem é aumentada, a sobrevivência, o peso e o acúmulo de gordura corporal dos besouros são alterados. Dessa forma, concluímos que as práticas de manejo com o uso adequado de ureia, o principal fertilizante aplicado sobre as pastagens brasileiras, não interferem no funcionamento desses ecossistemas, referente às funções ecológicas desempenhadas pelos besouros escarabeíneos, desde que usadas em dosagens recomendadas.

Palavras-chave: Besouro rola-bosta. Ureia fertilizante. Funções ecológicas. Manejo de pastagem.

ABSTRACT

Natural habitat conversion to agriculture and pasturelands, associated to the use of inorganic fertilizers, are among the major causes of biodiversity loss and, consequently, reduction on the ecosystem services. Several studies have demonstrated the negative effect of the use of nitrogen fertilization on edaphic diversity. Thus, in order to verify the effects of nitrogen fertilization on, survival, weight, body fat amount, and ecological functions performed by dung beetles, we conducted field and laboratory experiments using the beetle *Dichotomius bos*, an abundant and widely distributed Brazilian pastures. In the first experiment, we verified the ecological functions performed by the beetles in a pasture in function of the presence of urea. Secondly, we used mesocosms in the laboratory to evaluate the ecological functions due to prolonged exposure. In the third, we use mesocosms in the laboratory to evaluate the survival, the variation in weight and body fat of beetles. Our results indicate that the commercial dosage of urea does not interfere on the performance of ecological functions by beetles, both in the field under natural conditions and in the laboratory under controlled conditions. This may be associated to the reaction time of the agrochemical in soil, which occurs very quickly; to the dosage of urea used, being too low to be felt by the beetles; and the single dose application of urea; and the possibility of sublethal effects occurring. When the dosage is increased, the survival, weight, and body fat accumulation of the beetles are altered. Thus, we conclude that the management practices with proper use of urea, the main fertilizer applied to pasture Brazilian not interfere with the operation of these ecosystems, referring to the ecological functions performed by scarabaeinae beetles, since it is used at recommended dosages.

Keywords: Dung beetle. Urea fertilizer. Ecological functions. Pastures management.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Armadilha do tipo pitfall utilizada para coleta dos besouros *D. bos* vivos em pastagens no município de Rio Paranaíba-MG nos meses de dezembro de 2015 e janeiro de 2016 25
- Figura 2 – Mesocosmo instalado em pastagem no município de Lavras para avaliação das funções ecológicas exercidas pelos besouros *D. bos*.....27
- Figura 3 – Mesocosmo utilizado para mensuração das funções ecológicas dos besouros *D. bos* em laboratório com temperatura a $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12/12h, umidade relativa de $80\% \pm 5\%$ 28
- Figura 4 – Mesocosmo utilizado para mensuração da mortalidade, biomassa e gordura corporal dos besouros *D. bos* em laboratório com temperatura a $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12/12h, umidade relativa de $80\% \pm 5\%$30
- Figura 5 – Efeito da aplicação de ureia fertilizante nas funções ecológicas (remoção de fezes e revolvimento de solo) desempenhadas pelos besouros escarabeíneos *D. bos* na pastagem do campus da Universidade Federal de Lavras – MG.....32
- Figura 6 – Médias (símbolos) e erros padrões (linhas verticais) das funções ecológicas de remoção de fezes e revolvimento de solo realizadas pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Baixa, Média e Alta dosagens de ureia e Controle (sem ureia) ao longo dos 32 dias de experimentação33
- Figura 7 – Médias (linhas escuras) e erros padrões (linhas verticais) do acúmulo de gordura corporal apresentado pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Baixa, Média e Alta dosagens de ureia e Controle (sem ureia)33
- Figura 8 – Curva de sobrevivência apresentada pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Controle, Nível I (1g), Nível II (2g), Nível III (4g) ao longo dos 35 dias de experimentação34
- Figura 9 – Relação entre ganho de peso e gordura corporal acumulada apresentada pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Controle, Nível I (1g), Nível II (2g), Nível III (4g).....35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1	As Pastagens no território brasileiro.....	13
2.2	Fertilização das Pastagens	14
2.3	A Ureia	15
2.4	Impactos da fertilização inorgânica na biodiversidade	16
2.5	Poluição por fertilizantes minerais	17
2.6	Insetos como bioindicadores de poluição do solo	18
2.7	Os Besouros Rola-bosta (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) e suas funções ecológicas.....	19
2.8	A espécie <i>Dichotomius bos</i> (Blanchard, 1846)	20
3	OBJETIVOS.....	22
3.1	Objetivo Geral	22
3.2	Objetivos Específicos	22
4	HIPÓTESES	23
5	METODOLOGIA	24
5.1	Área de coleta do besouro <i>D. bos</i>	24
5.2	Método de Coleta.....	24
5.3	Seleção da pastagem.....	25
5.4	Análise do solo	25
5.5	Teste I – Funções ecológicas de <i>D. bos</i> em campo	26
5.6	Teste II – Funções ecológicas de <i>D. bos</i> em laboratório.....	27
5.7	Teste III – A mortalidade de <i>D. bos</i> em laboratório	29
5.8	Método de extração de gordura corporal dos besouros	30
5.9	Análise de Dados	31
6	RESULTADOS.....	32
6.1	Teste I – Funções ecológicas de <i>D. bos</i> em campo	32
6.2	Teste II – Funções ecológicas de <i>D. bos</i> em laboratório.....	32
6.3	Teste III – A mortalidade de <i>D. bos</i> em laboratório	34
7	DISCUSSÃO.....	36
8	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42
	APÊNDICE	50

1 INTRODUÇÃO

Conversões do habitat natural em agricultura e pastagem, somado ao uso de fertilização inorgânica, estão entre os maiores causadores da perda da biodiversidade e de alterações no fluxo de energia e na ciclagem de nutrientes, que levam a uma interrupção do funcionamento normal do ecossistema (MOZUMDER; BERRENS, 2007; PAGIOLA et al., 1998; TILMAN; REICH; KNOPS, 2006). Em certos casos, a fertilização adequada garante o aumento da produção vegetal e muitas vezes o aumento dos níveis de matéria orgânica no solo, mostrando-se benéfica para a biota edáfica devido ao incremento na disponibilidade de recurso alimentar (GEISSELER; SCOW, 2014; SEYMOUR, 2002). Esse efeito pode ser verificado em áreas de prado onde a fertilização inorgânica dobrou o número de minhocas, em comparação com prados não fertilizados (HENDRIX et al., 1992).

Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que o uso de fertilizantes químicos pode exercer efeito negativo sobre a macrofauna invertebrada do solo (RAI; ASHIYA; RATHORE, 2014; SADEJ et al., 2012), reduzindo a biodiversidade edáfica (CHEN et al., 2014; ZENG et al., 2015; ZHOU et al., 2016). Um exemplo disso é o aumento do pH do solo ocasionado pelo uso de fertilização inorgânica, o qual podem levar a modificação na comunidade microbiana (GEISSELER; SCOW, 2014), através da promoção do crescimento de culturas de fungos patogênicos e redução da comunidade de fungos benéficos (PAUNGFOO-LONHIENNE et al., 2015).

O manejo da fertilização inorgânica varia de uma área para outra e leva em consideração as características do solo, além do grau de exigência das espécies forrageiras e a intensidade de uso e manejo da pastagem (VILELA et al., 1998). Essa prática de manejo se faz necessária para maximizar a produtividade e viabilizar o retorno econômico para o produtor (RAI; ASHIYA; RATHORE, 2014). Grandes quantidades de fertilizantes são produzidas e aplicadas a cada ano (MATSON et al., 1997), sendo a ureia o principal fertilizante nitrogenado usado mundialmente, principalmente devido ao baixo custo de produção e à alta concentração de nitrogênio (URQUIAGA; MALAVOLTA, 2002). No Brasil, no ano de 2016, foram entregues ao mercado mais de 34 milhões de toneladas de fertilizantes (ANDA, 2017). A aplicação de nitrogênio em excesso no solo pode causar perdas de espécies úteis para os sistemas pastoris que, por sua vez, afeta os processos ecológicos (VITOUSEK et al., 1997).

As práticas agrícolas podem reduzir a capacidade dos ecossistemas de fornecer bens e serviços (TILMAN et al., 2002). Por exemplo, a diminuição da biodiversidade induzida pela utilização excessiva de nitrogênio pode representar uma séria ameaça à estabilidade dos agroecossistemas (ZENG et al., 2015) afetando diretamente seus serviços (JONES et al., 2014;

TILMAN; REICH; KNOPS, 2006). A perda de serviços ecossistêmicos gera perdas financeiras e o valor destas perdas na agricultura tem sido subestimado (COSTANZA et al., 1997; FOUNTAIN; WRATTEN; DYMOND, 2013).

São considerados serviços ecossistêmicos aqueles promovidos por organismos vivos que afetam processos naturais de interesse humano, como o controle biológico, a ciclagem de nutrientes, a polinização, a dispersão de sementes, a manutenção e a formação dos solos (MYERS, 1996). Dentre esses organismos, os besouros escarabeíneos (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) desempenham importantes serviços ecossistêmicos, como a sanitização das pastagens através da remoção de fezes, controle biológico de parasitas (BIANCHIN; HONER; GOMES, 1992; FLECHTMANN; RODRIGUES; SENO, 1995; KOLLER et al., 2009), ciclagem de nutrientes e aeração do solo (NICHOLS et al., 2008).

O uso de fertilizantes inorgânicos pode ter efeitos diferenciais para diversos grupos de organismos (MOZUMDER; BERRENS, 2007). Porém estudos sobre o efeito da fertilização química nitrogenada sobre a biota de besouros escarabeíneos, e seus serviços ambientais, são inexistentes, e essa importante parcela da fauna edáfica não pode ser negligenciada frente às decisões de manejo que envolvam substâncias potencialmente perigosas a esses insetos. Grande parte dos métodos utilizados para correção de falhas no solo desconsidera os efeitos nocivos sobre os escarabeíneos, podendo acarretar na perda de funções ecológicas essenciais para o funcionamento dos ecossistemas. Tais perdas podem gerar gastos financeiros que seriam dispensáveis caso a biodiversidade fosse mantida (COSTANZA et al., 1997).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 As Pastagens no território brasileiro

O Brasil é o quinto maior país do mundo em território, com 8,5 milhões de km² de extensão, sendo cerca de 20% da sua área ocupada por pastagens (ABIEC, 2016). Segundo o último censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2006, a área total de pastagens no Brasil, incluindo pastagens naturais e plantadas, foi calculada em 172,3 milhões de hectares. Até o ano de 1985, as áreas de pastagens naturais superavam as áreas de pastagens plantadas e, a partir desse ano, essa tendência se inverteu e prevalece até os dias atuais, onde apenas 36% do total das pastagens (aproximadamente 60 milhões de hectares) são de pastagens naturais (IBGE, 2007).

As pastagens plantadas com capins exóticos africanos, em geral, são mais produtivas do que as pastagens naturais brasileiras, o que indica que o uso crescente de pastagens plantadas vem contribuindo para o aumento de produtividade da pecuária nacional (DIAS-FILHO, 2016). Cerca de 70 a 80% das pastagens brasileiras são constituídas por espécies do gênero *Brachiaria*, mas além deste, os gêneros *Panicum*, *Cynodon*, *Andropogon*, *Stylosanthes*, *Hemarthria*, *Arachis*, *Avena*, *Pennisetum*, *Sorghum*, *Arachis*, *Paspalum* e outros também estão presentes nas pastagens brasileiras (MACHADO et al., 2010).

O Brasil é atualmente o segundo maior produtor, sendo os Estados Unidos o primeiro, e o maior exportador mundial de carne bovina. Praticamente toda a produção brasileira de carne bovina tem como base as pastagens, a forma mais econômica e prática de produzir e oferecer alimentos para os bovinos devido a sua grande extensão de terras. As pastagens, portanto, desempenham papel fundamental na pecuária brasileira, garantindo baixos custos de produção (DIAS-FILHO, 2014), contudo, os custos ambientais são grandes.

Dias-Filho (2014) estima que cerca de 50% das pastagens brasileiras estão degradadas, cerca de 30% estão em processo de degradação e apenas 20% estão em bom estado de conservação. O conceito de degradação das pastagens é definido por Macedo e colaboradores (2000), como o processo evolutivo de perda de vigor, de produtividade, de capacidade de recuperação natural das pastagens para sustentar os níveis de produção e qualidade exigida pelos animais, assim como, o de superar os efeitos nocivos de pragas, doenças e invasoras, culminando com a degradação avançada dos recursos naturais, em razão de manejos inadequados.

A degradação das pastagens constitui o maior obstáculo para o estabelecimento de uma pecuária bovina sustentável e está quase sempre associada à deficiência de nutrientes no solo, que é reestabelecida através de correção da acidez e fertilização (CERRADOS, 2005; JUNIOR;

VILELA, 2002). Grande parte dos solos tropicais apresenta alto teor de alumínio e hidrogênio livre, o que configura acidez. Por consequência apresenta baixos teores de cálcio, magnésio e potássio disponível, se tornando um dos fatores mais limitantes para o uso desses solos. A correção da acidez do solo faz parte do manejo das pastagens introduzidas em áreas tropicais e consiste na utilização de calcário ou gesso, que aumenta o pH e neutraliza o alumínio (MOREIRA et al, 2013; VILELA et al., 1998). A calagem é uma das práticas que mais contribui para o aumento da eficiência dos fertilizantes e conseqüentemente, da produtividade e da rentabilidade agropecuária (LOPES et al., 1991).

2.2 Fertilização das Pastagens

Fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes são insumos básicos que, empregados de forma correta, aumentam a produção agrícola (MAPA, 2016). De acordo com o Decreto no 86.955, de 18 de fevereiro de 1982 (BRASIL, 2017), fertilizante é uma substância mineral ou orgânica, natural ou sintética, fornecedora de um ou mais nutrientes das plantas. Os fertilizantes constituem o insumo agrícola mais relevante na economia nacional. Enormes recursos têm sido despendidos na sua importação, produção, distribuição e emprego (GOEDERT, 1981). O consumo aparente dos nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas tem aumentado ao longo dos anos, chegando a 13.690,8 toneladas no ano de 2015, onde 3.647 toneladas são de nitrogênio, 4.661,3 de fósforo e 5.382,5 de potássio (IPNI, 2016). No Brasil, no ano de 2016, foram entregues ao mercado 34.083.415 toneladas de fertilizantes em geral (ANDA, 2017).

A fertilização das pastagens, principalmente a nitrogenada, está entre os fatores determinantes do nível de produção por área mais importantes (PRIMAVESI et al., 2000). Tem por objetivo atender à demanda nutricional das plantas para o estabelecimento e manutenção das forrageiras. As doses de fertilizantes são definidas com base na análise de solo, levando em consideração o nível tecnológico ou a intensidade de uso do sistema de produção, o que se relaciona com características da forrageira, tais como produtividade, valor forrageiro e requerimento nutricional. (RIBEIRO, 1999). O processo de fertilização que mais se adequa às pastagens, é a fertilização por cobertura, tendo em vista o maior aproveitamento do fertilizante (RIBEIRO, 1999).

No processo de fertilização devem ser consideradas duas fases distintas, a de estabelecimento e a de manutenção. Na fase de estabelecimento, os nutrientes são essenciais para que as plantas cresçam e desenvolvam seu sistema radicular e demais órgãos. Já na fase de manutenção, as plantas bem desenvolvidas exploram um grande volume de solo e promovem

associações simbióticas que potencializam a absorção dos nutrientes no solo (VILELA et al., 1998).

Levando em consideração o nível tecnológico, pastos manejados sob sistemas de médio nível tecnológico, recomenda-se a aplicação de 50 kg/ha de N. Para os sistemas de nível tecnológico elevado, recomenda-se a aplicação de 100 a 150 kg/ha de N (RIBEIRO, 1999). Um manejo eficiente poderá aumentar o aporte de nitrogênio aos sistemas de produção de pastagens, equilibrando suas transformações nos diferentes compartimentos do elemento no solo e garantindo a sustentabilidade desses sistemas (SCHUNKE, 2001). Para manter o processo produtivo das pastagens de maneira sustentável, é necessário ao menos repor os elementos químicos extraídos do solo, quando possível, em quantidades maiores que o que foi extraído para melhorar a produtividade (DE SOUSA et al., 2001).

2.3 A Ureia

Uma das fontes de nitrogênio mais utilizadas na agricultura brasileira é a ureia (LARA CABEZAS; TRIVELIN, 1990). A ureia é um fertilizante mineral sintético, produto sólido que se apresenta na forma de grânulos brancos, é higroscópico e solúvel em água, álcool e benzina. Uma vez lançada ao solo, a ureia é hidrolisada pela enzima urease, formando carbonato de amônio [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$], que é rapidamente decomposto, dando origem ao amônio, bicarbonato e hidroxila [$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- + \text{HCO}_3^-$] (ROCHETTE et al., 2009).

Uma molécula de urease é capaz de hidrolisar aproximadamente 500.000 moléculas de ureia por minuto em condições ótimas (pH entre 7 e 8 e temperatura próxima aos 55°C), podendo ser potencializada com o aumento da temperatura (ROSS JR et al., 1971). Pode causar elevação do pH do solo próximo aos grânulos do fertilizante, devido ao consumo de H^+ do meio (KIEHL, 1989). Apresenta alta concentração de nitrogênio, é de fácil manipulação e causa menor acidificação no solo comparado a outros fertilizantes, tornando-a potencialmente superior a outras fontes de N, do ponto de vista econômico (PRIMAVESI et al., 2004), em contrapartida, por ter baixa retenção no solo, ser altamente dinâmico e se apresentar em formas muito instáveis (CARVALHO; ZABOT, 2012), apresenta grande potencial de perda de NH_3 por volatilização e lixiviação (LARA CABEZAS; TRIVELIN, 1990). O risco de perda gasosa de nitrogênio pela ureia como amônia é elevado na agricultura em que a ureia é frequentemente aplicada à superfície sem incorporação (BREMNER, 1995). A incorporação da ureia ao solo é vista como uma alternativa para reter maior quantidade de amônia e minimizar as perdas por

volatilização (LARA CABEZAS et al., 2000; SANGOI et al., 2003), que podem atingir a marca de 78% quando aplicada em superfície (LARA CABEZAS; KORNDORFER; MOTTA, 1997).

A quantidade de ureia utilizada vai variar de uma área para outra, levando em consideração as características do solo, o grau de exigência das espécies forrageiras e a intensidade de uso e manejo da pastagem (VILELA et al., 1998).

A ureia fertilizante é um sólido não inflamável, porém, corrosivo. Não é considerado produto tóxico, mas não se recomenda, no manejo, o contato direto com a pele, visto que pode causar irritação, sendo os sintomas mais frequentes vermelhidão, coceira e dor. Efeitos tóxicos da amônia sobre organismos do solo são conhecidos (CHEN et al., 2014; RAI; ASHIYA; RATHORE, 2014; SADEJ et al., 2012), ZENG et al., 2015), mas a injeção de amônia anidra (fertilizante gasoso com 82% de Nitrogênio) em solos tem um impacto apenas na zona de aplicação e os efeitos são geralmente de curto prazo (SEYMOUR, 2002).

2.4 Impactos da fertilização inorgânica na biodiversidade

Muitos estudos têm sido desenvolvidos buscando elucidar os principais efeitos da fertilização inorgânica na biodiversidade. Esses efeitos são um tanto quanto variáveis, podendo ser diretos ou indiretos, positivos ou negativos e a curto ou longo prazo. No caso do efeito direto, o fertilizante químico vai atuar diretamente sobre o organismo, enquanto que no efeito indireto, pode levar a alterações no ambiente e nos recursos disponíveis (SEYMOUR, 2002). Podem ser também a curto prazo, quando os efeitos são sentidos logo após a primeira aplicação do fertilizante ou a longo prazo, quando os efeitos são tardios e necessitam de mais de uma temporada de aplicação para se desenvolver (BUNEMANN; McEILL, 2004).

Alguns trabalhos vêm relatando o efeito positivo do incremento no nitrogênio na biodiversidade. Geisseler e Scow (2014) em uma metanálise, revelaram que a fertilização do solo agrícola resulta em aumento do teor da biomassa microbiana, o que provavelmente é causado pelo aumento do carbono orgânico do solo, devido à maior produtividade da cultura. Outro trabalho realizado na Geórgia (EUA) em áreas de prado, revelaram que a fertilização inorgânica dobrou o número de minhocas, em comparação com prados não fertilizados, podendo estar relacionado ao fato de que essas minhocas estão associadas à zona radicular de gramíneas, onde o solo é mais rico em matéria orgânica (HENDRIX et al., 1992).

Grande parte dos trabalhos, porém, vêm relatando que os efeitos desses fertilizantes também pode ser negativo. Foi constatado que a dosagem comercial utilizada na Índia foi altamente prejudicial à população de minhocas da espécie *Eisenia foetida*, levando à morte todos os indivíduos utilizados em um experimento em laboratório (RAI, ASHIYA E

RATHORE; 2014). O manejo da fertilização também apresenta influência sobre a comunidade de besouros carabídeos, reduzindo sua abundância e composição de espécies (SADEJ et al., 2012). A comunidade de microrganismos do solo é altamente sensível a fertilização, como tem sido relatado para fungos micorrízicos, com alteração na composição de espécies (CHEN et al., 2014). Também afeta diretamente a diversidade bacteriana do solo aumentando a disponibilidade de nitrogênio e indiretamente, afeta a composição da comunidade bacteriana através da acidificação do solo e da mudança da comunidade vegetal, podendo estar associado às alterações nos ciclos biogeoquímicos (ZENG et al., 2015). Alterações no pH do solo ocasionados pelo uso de fertilização inorgânica podem levar a uma modificação na comunidade microbiana (GEISSELER; SCOW, 2014), através da promoção do crescimento de culturas de fungos patogênicos e a redução da comunidade de fungos benéficos (PAUNGFOO-LONHIENNE et al, 2015).

2.5 Poluição por fertilizantes minerais

O aumento exponencial da utilização de fertilizantes nitrogenados entre 1960 e 2000, por práticas agrícolas intensivas tem ocasionado uma queda na qualidade do ar e da água (TILMAN et al., 2001) e contribuído de forma direta e indiretamente para as emissões de gases de efeito estufa em sistemas agrícolas (LISBOA, 2011).

Uma parte considerável do fertilizante que é lançado sobre a pastagem é perdido, seja por lixiviação ou por volatilização. A lixiviação é o processo de arraste dos nutrientes nos solos com o movimento descendente da água, migrando para fora da zona de absorção das raízes e com possibilidade de atingir os lençóis freáticos (ERNANI; SANGOI, RAMPAZZO, 2002) e, devido à grande mobilidade do íon NO_3^- no solo aliada à crescente utilização de fertilizantes minerais nitrogenados, há uma grande preocupação em diversas áreas do planeta, ocasionada pela eutrofização de águas superficiais e da contaminação de águas subterrâneas (MUCHOVEJ; RECHCIGL, 1995).

O principal gás produzido pela fertilização nitrogenada é o óxido nitroso (N_2O) e este é emitido principalmente através dos processos de nitrificação e desnitrificação do nitrogênio em solos agrícolas (MOISIER et al., 1998). Diferentes fontes de nitrogênio contribuem de forma distinta para a emissão desse gás, sendo que o sulfato de amônio quando comparado à ureia, contribui de forma mais significativa (ZANATTA et al., 2010). A natureza do nitrogênio (mineral ou orgânica), a forma de aplicação (incorporado ou lançado superficialmente) e a fonte (amônio, ureia ou nitrato) influenciam nas emissões do óxido nitroso (SKIBA; SMITH, 2000). As perdas por volatilização também contribuem para a emissão do gás, segundo o IPCC (2006),

10% do nitrogênio aplicado como fertilizante é volatilizado e desses, 1% é emitido como N₂O através dos processos de nitrificação e desnitrificação que ocorreriam após a deposição do N volatilizado.

2.6 Insetos como bioindicadores de poluição do solo

A exploração intensiva dos ecossistemas resulta na diminuição da abundância e diversidade de uma grande quantidade de organismos que habitam o solo e são fundamentais na decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (DE LIMA; DE LIMA; BERBARA, 2006). A avaliação de impactos ambientais da conversão de mata nativa em sistemas agrícolas pode ser realizada utilizando organismos do solo, que são considerados bioindicadores (NETO et al., 1995).

Apesar de recente, a utilização de bioindicadores é uma abordagem inovadora, permitindo avaliar vários tipos de impactos, como a poluição, deposição de dejetos e contaminantes, preparo do solo e o desmatamento (CORREIA, 2002). Para ser considerado um bom bioindicador da qualidade do solo, o organismo precisa estar associado aos grandes processos do ecossistema; integrar propriedades físicas, químicas e biológicas; ser acessível e aplicável a condições de campo; ser sensível a variações no manejo e no clima e; quando possível, fazer parte de banco de dados (DORAN; PARKIN, 1994).

A comunidade de insetos é uma ferramenta importante para a avaliação de impactos antrópicos em ecossistemas tropicais, principalmente devido à sua relativamente fácil amostragem e rápida resposta a mudanças ambientais (ALMEIDA et al., 2011, GRIES et al., 2011), além da grande diversidade de espécies e habitats e da sua importância nos processos biológicos dos ecossistemas naturais (WINK et al., 2005). Os besouros pertencentes à família Scarabaeidae são considerados valiosos bioindicadores de distúrbios antrópicos (HALFFTER; FAVILA, 1993), pois são sensíveis às alterações no solo devido ao seu hábito de nidificação e alimentação (NICHOLS et al., 2008), a alterações na estrutura vegetal e na composição de paisagens (ALMEIDA; LOUZADA, 2009; ALMEIDA et al., 2011; GRIES et al., 2011). Além disso, é considerado um grupo diverso, abundante e bem definido taxonomicamente e funcionalmente, apresenta espécies com características variadas e é de fácil e barata amostragem (GARDNER et al., 2008; NICHOLS et al., 2007)

2.7 Os Besouros Rola-bosta (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) e suas funções ecológicas

A subfamília Scarabaeinae é formada por um grupo de insetos distribuídos globalmente, com maior diversidade em florestas tropicais e savanas. Possui mais de 5.000 espécies descritas em todo o mundo (HANSKI; CAMBEFORT, 1991). São registradas para o Brasil 618 espécies de 49 gêneros, onde 323 são endêmicas do país. Porém o número de espécies de Scarabaeinae existentes em território brasileiro é maior que as 618 registradas e, seguramente, passaria a marca de 1200 espécies, incluindo novas espécies e novos registros. Essa limitação se deve principalmente à falta de amostragem em muitas regiões do país e ao pequeno número de taxonomistas dedicados ao grupo (VAZ-DE-MELLO, 2000). É uma comunidade bem definida em termos taxonômicos e funcionais, e sua eficiência na remoção de excrementos e cadáveres torna este grupo de insetos componentes essenciais na manutenção dos ecossistemas (HALFFTER; MATTHEWS, 1966).

Os besouros escarabeíneos são conhecidos popularmente como rola-bostas. São detritívoros e se alimentam principalmente de fezes de vertebrados e animais mortos. Existem alguns comportamentos alimentares que fogem à coprofagia, onde algumas espécies se alimentam de carcaças, de fungos e frutos em decomposição, de restos vegetais em decomposição e algumas espécies ainda são predadoras de diplópodes, foréticas de caramujos ou generalistas (HALFFTER; MATTHEWS, 1966).

Grande parte das espécies constrói galerias subterrâneas logo abaixo ou distante a alguns metros da fonte primária do recurso e este será utilizado como substrato na postura dos ovos e como alimento para a prole (HALFFTER; MATTHEWS, 1966; HANSKI; CAMBEFORT, 1991). São classificadas de acordo com a forma com que utilizam o recurso alimentar para a nidificação (guilda funcional): as endocoprídeas são as residentes, alimentam-se e nidificam no interior do recurso, as paracoprídeas são as escavadoras, escavam galerias no solo próximas ou logo abaixo do recurso e as telecoprídeas são as roladoras, retiram pequenas porções do recurso e as transformam em esferas que são roladas por diferentes distâncias até serem enterradas no solo (HALFFTER; MATTHEWS, 1966).

Besouros escarabeíneos conduzem uma série de processos ecológicos importantes para o funcionamento dos ecossistemas, como a ciclagem de nutrientes, aeração do solo, dispersão secundária de sementes e supressão de parasitas (NICHOLS et al., 2008). Do ponto de vista agrícola são capazes de remover e/ou aumentar a decomposição do esterco das pastagens, reduzindo a área afetada pelas fezes bovinas onde o gado rejeita o consumo da forragem e suprimir parasitas do rebanho, como os helmintos gastrointestinais e a mosca-do-chifre

Haematobia irritans L. (Diptera: Muscidae) (BIANCHIN; HONER; GOMES; 1992; FLECHTMANN; RODRIGUES; SENO, 1995; KOLLER et al., 2009; WALSH & CORDO, 1997). Os prejuízos providos pela mosca-do-chifre no rebanho estão associados à transmissão de patógenos e, principalmente, ao estresse que causa ao animal que, na tentativa de se livrar das moscas, se debate muito, gastando a energia que poderia ser destinada à produção leiteira (BIANCHIN; ALVES, 2002). Além disso, os besouros escarabeíneos ainda aceleram o processo de ciclagem e potencializam o aproveitamento dos nutrientes, auxiliam a infiltração e retenção da água das chuvas acarretando em uma melhora nas qualidades físico-químicas do solo (FINSHER, 1981), podendo atuar também como inibidores da volatilização da amônia, produto final da ureia nos solos de pastagens (KAZUHIRA et al., 1991; KAZUHIRA; HIDEAKI; HIROFUMI, 1991).

Myers (1996) definiu como serviços ecológicos, aqueles promovidos por organismos vivos que afetam processos naturais, como o controle biológico, a ciclagem de nutrientes, a polinização, a dispersão secundária de sementes, a manutenção e formação dos solos, dentre outros. Apesar das dificuldades de se valorar um serviço ecossistêmico, os serviços promovidos pelos besouros escarabeíneos foram estimados em um valor em torno de US\$ 380 milhões de dólares ao ano nos Estados Unidos (LOSEY e VAUGHAN, 2006), e mesmo assim, consideraram uma estimativa bastante conservadora devido à ausência de dados mais precisos. Como os serviços ecossistêmicos estão em grande parte fora do mercado e incertos, eles são muitas vezes ignorados ou subestimados (COSTANZA et al., 1997). Infelizmente, em relação a outras formas de capital, os ecossistemas são mal compreendidos, pouco monitorados e em muitos casos, submetidos a rápida degradação e esgotamento. Geralmente, a importância dos serviços ecossistêmicos é vastamente apreciada apenas quando perdida (DAILY et al., 2000).

2.8 A espécie *Dichotomius bos* (Blanchard, 1846)

Segundo Alves (1977), a espécie foi originalmente descrita por Mannerheim em 1829 como *Pinotus anaglypticus* n.sp, sendo posteriormente revisada por Martinez em 1951. Descrita como *Dichotomius anaglypticus* por diversos anos, hoje a espécie é sinonimizada, mais conhecida como *Dichotomius bos*.

A pêra de incubação é confeccionada pela fêmea que, após abrir a galeria, leva o esterco para o fundo e, comprimindo-o, forma uma massa característica. É uma espécie paracoprídea, ou seja, escava suas galerias logo abaixo do recurso. Suas galerias podem atingir até 1,00 metro de profundidade e são compostas por apenas uma pêra. Em condições de laboratório, o número máximo de ovos por fêmea observado foi dois, mas estima-se que esse número seja maior em

campo e seu ciclo reprodutivo é anual. A eclosão da larva ocorre de 15 a 25 dias. Todo o desenvolvimento larval ocorre dentro da pêra de incubação. A duração da fase de pé-pupa é de 95 dias enquanto a de pupa é de 85 dias. Quando adulto, sua longevidade em laboratório foi de aproximadamente 100 dias, mas espera-se que seja maior no campo (ALVES, 1977).

Os adultos não se alimentam diretamente com os excrementos depositados logo acima do solo. Galerias são escavadas para enterrio de pequenas porções do recurso, que servirão para a alimentação do casal. Sua atividade é preferencialmente noturna, mas em laboratório foi predominantemente diurna. São comumente encontrados ácaros associados aos adultos e larvas (ALVES, 1977).

A capacidade de incorporação da espécie foi de 313 gramas de recurso por casal, durante 60 dias. Em campo esse valor é maior devido à possibilidade de o inseto sair de um excremento e utilizar outro. Cada casal, durante a nidificação, revolve cerca de 290 gramas de solo (ALVES, 1977).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo investigar o efeito causado pela aplicação da ureia fertilizante em pastagens sobre parâmetros biológicos do besouro escarabeíneo *D. bos* e suas funções ecológicas.

3.2 Objetivos específicos

1. Avaliar o efeito a curto prazo (48 horas) da aplicação da ureia fertilizante sobre as funções ecológicas de enterrio de fezes e revolvimento de solo desempenhadas pelo besouro *D. bos* em uma pastagem.
2. Avaliar o efeito a médio (32 dias) prazo, através de quatro avaliações de dez em dez dias, da aplicação de diferentes dosagens de ureia fertilizante em um mesocosmo no laboratório (sob condições ambientais controladas) sobre as funções ecológicas de enterrio de fezes e revolvimento de solo e verificar se o tempo de exposição ao químico interfere nessas funções realizadas pelo besouro *D. bos*.
3. Avaliar o efeito a médio prazo (35 dias) da aplicação de diferentes dosagens de ureia fertilizante sobre a mortalidade, a biomassa e o acúmulo de gordura corporal, de forma individual, do besouro *D. bos* em um sistema de mesocosmo em laboratório (sob condições ambientais controladas)

4 HIPÓTESES

1. A ureia provoca redução das funções ecológicas, em um curto período de tempo, desempenhadas pelos escarabeíneos. Se a ureia é vista como prejudicial para diversos organismos do solo, então besouros expostos à ureia apresentarão uma redução na capacidade de enterrio de fezes e revolvimento de solo.
2. O impacto negativo da ureia sobre as funções ecológicas é dependente da dosagem e do tempo. Se dosagens elevadas de ureia são prejudiciais a diversos organismos do solo, então besouros expostos a dosagens maiores de ureia apresentarão redução maior na quantidade de fezes enterradas e solo revolvido, de forma decrescente, da menor dosagem para a maior e isso será intensificado com o tempo de exposição dos besouros ao fertilizante químico.
3. A ureia afeta negativamente parâmetros biológicos dos besouros escarabeíneos. Se dosagens elevadas de ureia são prejudiciais para diversos organismos do solo, então besouros expostos a dosagens maiores de ureia apresentarão maior mortalidade, redução na biomassa e no acúmulo de gordura corporal.

5 METODOLOGIA

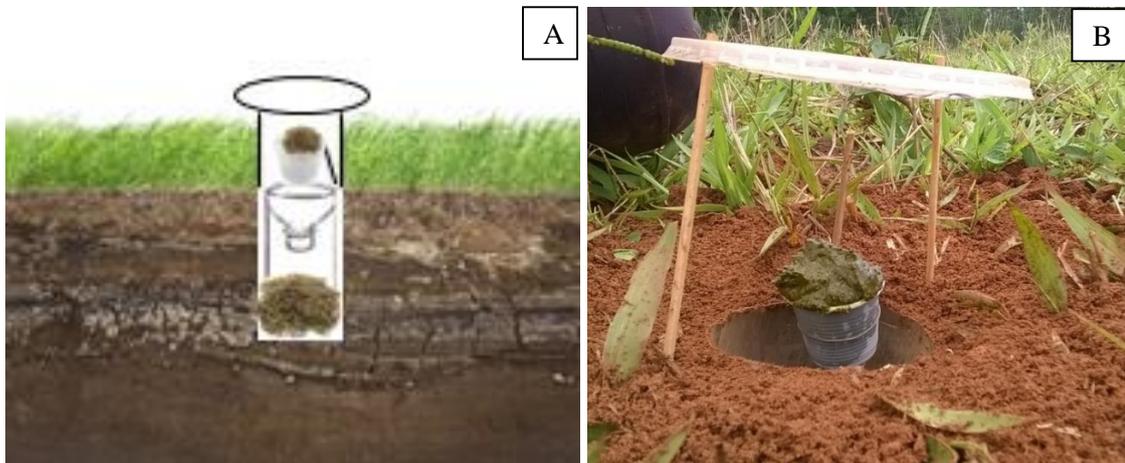
5.1 Área de coleta do besouro *Dichotomius bos*

A coleta dos besouros escarabeíneos da espécie *D. bos* foi realizada nos meses de dezembro de 2015 e janeiro de 2016, durante a estação chuvosa, em pastagens na cidade de Rio Paranaíba, MG, inserido na mesoregião do Alto Paranaíba, uma importante bacia leiteira de Minas Gerais, juntamente com o Triângulo Mineiro (BASTOS; VIGGIANO, 2012). As coletas foram realizadas nas terras da Fazenda Cascudo, sob propriedade do Sr. Lívis Rocha. A região está inserida no bioma Cerrado e seu relevo é caracterizado por superfícies aplainadas com elevação crescente de oeste para leste. A altitude está a aproximadamente 1100 metros. O clima varia desde o Tropical Semi-Úmido, com invernos secos e verões chuvosos, passando pelo Tropical de Altitude no centro-leste (ROCHA; NOVAIS, 2012). Os pontos de coleta compreenderam uma região de aproximadamente 10 hectares, nas coordenadas geográficas de 19° 9' 44.61"S, 46° 16' 36.18"O. A área é composta predominantemente pela gramínea *Urochloa brizantha* cv. Marandu.

5.2 Método de coleta

Para a captura dos besouros vivos foram utilizadas armadilhas do tipo *pitfall*, que consistiram em uma garrafa pet de 2 litros (tipo refrigerante) com a parte superior cortada e encaixada na base da garrafa como um funil e enterrada ao nível do solo (FIGURA 1). A isca atrativa foi aproximadamente 50g de fezes bovinas frescas contidas em um copo plástico descartável de 50mL e suspensa por um palito de bambu e arame ancorado ao solo imediatamente acima da garrafa pet. No interior da garrafa foi colocado terra para acomodação dos besouros capturados. Foram instaladas 50 armadilhas na pastagem, dispostas aleatoriamente e respeitando a distância de pelo menos 30 metros entre elas. As armadilhas foram expostas por 24 horas e os besouros capturados foram armazenados em potes plásticos de um litro de volume contendo 2/3 de substrato (2/3 de terra e 1/3 de areia peneirados, misturados e umidificados) e levados ao Laboratório de Ecologia de Insetos da Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Rio Paranaíba, onde foi identificada e armazenada a espécie focal (*D. bos*) enquanto as demais eram descartadas em pastagens próximas. As iscas foram trocadas a cada 24 horas para realização de nova coleta, sendo este procedimento repetido durante três semanas, até atingir uma quantidade suficiente de indivíduos para a montagem do experimento (1400 indivíduos).

Figura 1 – Armadilha do tipo pitfall utilizada para coleta dos besouros *D. bos* vivos em pastagens no município de Rio Paranaíba-MG nos meses de dezembro de 2015 e janeiro de 2016.



Legenda: A – desenho esquemático da armadilha tipo pitfall. B – foto real da armadilha instalada em campo.

Fonte: Do autor (2017).

No fim das coletas, os besouros foram transferidos para a Universidade Federal de Lavras, mantidos na sala de criação climatizada do Laboratório de Ecologia e Conservação de Invertebrados (LECIN), até a montagem do experimento. A sala foi mantida em temperatura controlada a $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12/12h, umidade relativa de $80\% \pm 5\%$. Os besouros foram alimentados a cada seis dias com duas colheres de sopa de fezes bovinas.

5.3 Seleção da pastagem

O experimento foi realizado em uma pastagem de aproximadamente 600 m² composta predominantemente por *Urochloa decumbens*, localizada no interior do *campus* da Universidade Federal de Lavras ($21^{\circ}13'50.95''\text{S}$, $44^{\circ}57'54.08''\text{O}$). Essa pastagem foi selecionada por ter sido pouco utilizada nos meses anteriores ao experimento, fazendo com que a fertilização fosse necessária e a montagem do experimento não interferisse nas atividades locais, e declividade inferior a 5%, evitando assim, escoamento do produto lançado, impedindo a interferência entre réplicas.

5.4 Análise do solo

Foram realizadas análises físico-químicas do solo para o estabelecimento das dosagens de ureia e para verificar a necessidade de correção de acidez da pastagem onde foi montado o experimento de campo.

O método de coleta de solo foi feito conforme recomendações apresentadas por Ribeiro (1999). Foi utilizada a amostragem composta (amostras simples homogeneizadas), com dez pontos de coleta, seguindo proporcionalmente a área da pastagem. O ponto de coleta foi escolhido aleatoriamente em zig-zag, abrangendo toda a área do experimento. O solo foi coletado a 10 cm de profundidade, homogeneizado em um balde e aproximadamente 250cm³ dessa mistura foi armazenado em um saco plástico apropriado, devidamente etiquetado e foi encaminhado ao laboratório de análise de solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Seguindo as recomendações de Ribeiro (1999), os resultados das análises de fertilidade de solo, para todos os experimentos, não indicaram a necessidade de correção da acidez do solo através do processo de calagem.

5.5 Teste 1 - Funções ecológicas de *D. bos* em campo

Os besouros capturados em campo foram separados de acordo com a sua atividade, dando preferência aos indivíduos mais ativos. Foram realizadas 29 repetições de cada tratamento, sendo eles: solo tratado com ureia granulada (22g/50cm²) e solo sem tratamento, servindo como testemunha. A quantidade de ureia utilizada foi estabelecida seguindo as recomendações de Ribeiro (1999), que se assemelham às dosagens reais utilizadas pela maioria dos produtores rurais (dosagem comercial). O produto foi aplicado a lanço em cobertura.

Cada réplica consistiu de 50 cm² de pastagem isolada por uma gaiola, delimitada por uma tela de nylon de 100x80cm, costurada com grampos, de modo a impedir a saída dos besouros selecionados e a entrada de novos besouros (FIGURA 2). Dentro de cada gaiola foram introduzidos seis besouros e 500 gramas de fezes bovinas frescas sob um telhado para proteção das fezes contra chuva. A superfície foi limpa e a tela foi enterrada a 30cm de profundidade para garantir a permanência dos besouros no interior da gaiola.

As repetições foram aleatorizadas através de sorteio em campo e distantes entre si 5 metros, de modo a não haver influência de um tratamento para o outro. A cada 10 repetições houve uma estrutura similar, cercada com a mesma tela e também com 500 gramas de fezes bovinas frescas, porém, sem os besouros, para cálculo da perda natural de umidade das fezes por evaporação. Foram instalados então seis medidores de umidade e o cálculo foi realizado através da média entre eles. Para o cálculo da perda de umidade, foi calculado a diferença do peso inicial e final das fezes.

Os mesocosmos foram mantidos em campo por 48 horas e as fezes não utilizadas pelos besouros escarabeíneos foram coletadas e pesadas, bem como o solo revolvido por eles, que foi

armazenado em sacos plásticos, etiquetado, seco em estufa a 40°C por 30 dias para padronização da umidade e somente após esse procedimento, foram pesados.

Figura 2 – Mesocosmo instalado em pastagem no município de Lavras para avaliação das funções ecológicas exercidas pelos besouros *D. bos*.



Fonte: Do autor (2017).

5.6 Teste 2 - Funções ecológicas de *D. bos* em laboratório

Foram realizadas 20 repetições de cada tratamento, sendo eles: solo tratado com dosagem pequena de ureia (0,138g/balde), solo tratado com dosagem média de ureia (0,277g/balde), solo tratado com dosagem grande de ureia (0,555g/balde) e solo sem tratamento, servindo como testemunha. A quantidade de ureia utilizada foi estabelecida seguindo as recomendações de Ribeiro (1999), se assemelham às dosagens reais utilizadas pela maioria dos produtores rurais, sendo a dosagem em menor quantidade, a dosagem comercial. Para as dosagens experimentais foram usadas o dobro e o quádruplo da dosagem real. A ureia foi diluída em 10mL de água e aplicada na superfície para facilitar sua incorporação no solo e reduzir as perdas de nitrogênio por volatilização.

Cada réplica consistiu de um balde de sete litros preenchido com aproximadamente seis quilos de solo compactado (2/3 de terra e 1/3 de areia peneirados, misturados e umidificados) (FIGURA 3). Em cada balde foram colocados quatro besouros da espécie *D. bos* com biomassa

total conhecida (peso coletivo), pesados utilizando a balança de precisão (0,001g). Os baldes foram tampados com tela do tipo mosquiteiro e elásticos.

Figura 3 – Mesocosmo utilizado para mensuração das funções ecológicas dos besouros *D. bos* em laboratório com temperatura a $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12/12h, umidade relativa de $80\% \pm 5\%$.



Fonte: Do autor (2017).

O experimento foi avaliado por 32 dias, sendo que a cada 10 dias foram verificadas as funções ecológicas, sendo, ao final, quatro avaliações (2, 12, 22, 32 dias). Para cada avaliação, foram adicionadas 500g de fezes bovinas frescas, após 48h as fezes não utilizadas pelos besouros foram coletadas e pesadas, bem como o solo revolvido, que foi armazenado em sacos plásticos, etiquetado, seco em estufa a 40°C por 30 dias para perder toda a umidade e posteriormente foram pesados.

Nos intervalos entre as avaliações das funções ecológicas, os besouros foram alimentados a cada cinco dias com dez gramas de fezes bovinas frescas. As fezes não utilizadas para alimentação foram sempre retiradas na avaliação posterior.

Os baldes foram aleatorizados e para cada bloco de nove repetições foi montado uma estrutura similar, porém sem os besouros, para controle da perda natural de umidade das fezes

por evaporação. Foram montados então oito medidores de umidade e o cálculo foi feito através da média entre eles, descontando a porcentagem perdida sobre o valor das fezes restantes em cada réplica.

Diariamente foi examinada a existência de indivíduos mortos superficialmente. Quando encontrados, esses indivíduos foram recolhidos, pesados e levados ao freezer. Na desmontagem do experimento, os besouros ainda vivos foram pesados e levados ao freezer para análise de acúmulo de gordura corporal.

5.7 Teste 3 - A mortalidade de *D. bos* em laboratório

Os besouros capturados em campo foram separados de acordo com a sua atividade, dando preferência aos indivíduos visualmente mais ativos. Foram realizadas 20 repetições de cada tratamento, sendo eles: solo tratado com dosagem pequena de ureia (1g/kg de solo), solo tratado com dosagem média de ureia (2g/kg de solo), solo tratado com dosagem grande de ureia (4g/kg de solo) e solo sem tratamento, servindo como testemunha. A quantidade de ureia utilizada foi estabelecida seguindo como modelo comparativo, as dosagens estabelecidas por Rai, Ashiya e Rathore (2014) transformadas para o mais usual nas pastagens brasileiras. Essas dosagens foram usadas de modo a forçar a produção da amônia através da ureia e para termos um estudo comparativo. Aqui, chamaremos os diferentes tratamentos como: controle (sem ureia), nível I (dosagem menor), nível II (dosagem mediana) e nível III (dosagem maior). A ureia foi incorporada ao solo por movimentação mecânica de modo a evitar as perdas de Nitrogênio por volatilização e homogeneizar sua distribuição ao longo do recipiente.

Cada repetição consistiu de um pote plástico de um litro de capacidade, preenchido com um quilo de substrato (2/3 de terra e 1/3 de areia peneirados, misturados e umidificados) e um indivíduo da espécie *D. bos* de biomassa conhecida (peso individual) (FIGURA 4), utilizando a balança de equilíbrio de precisão (0,001g).

O experimento foi avaliado por 35 dias e, diariamente, foram feitas verificações para detectar a presença de indivíduos mortos. Quando houve mortalidade, os indivíduos foram recolhidos e pesados imediatamente, de modo a evitar a alteração no peso corporal devido à perda de água. Após pesados, os indivíduos mortos foram congelados em freezer para análise de extração de gordura. A alimentação foi realizada a cada cinco dias com 50g de fezes bovinas frescas por réplica.

Ambos os experimentos laboratoriais foram realizados na sala de criação do Laboratório de Ecologia e Conservação de Invertebrados com condições de temperatura, umidade relativa e fotofase reguladas ($27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $80\% \pm 5\%$, 12h respectivamente).

Figura 4 – Mesocosmo utilizado para mensuração da mortalidade, biomassa e gordura corporal dos besouros *D. bos* em laboratório com temperatura a $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12/12h, umidade relativa de $80\% \pm 5\%$.



Fonte: Do autor (2017).

5.8 Método de extração de gordura corporal dos besouros

Avaliamos o teor de gordura corporal dos besouros escarabeíneos utilizados nos dois últimos experimentos para verificar se a presença da ureia fertilizante induz respostas de estresse subletal em invertebrados, conforme proposto por França e colaboradores (2016).

Antes da extração de gordura, todos os indivíduos foram retirados do freezer, secos em estufa a 40°C por 48 h e pesados com uma balança de equilíbrio de precisão (0,0001g). Os indivíduos secos e pesados receberam um número de identificação e foram colocados num envelope de extração marcado (~30 mm de largura e 60 mm de comprimento) confeccionado com papel de filtro espesso. Todos os envelopes de extração foram levados à câmara principal do Soxhlet Extractor, que foi acoplado a um frasco de destilação tarado contendo cinco reguladores de vidro em ebulição. O teor de gordura corporal foi extraído utilizando 200 mL de n-hexano aquecido sob refluxo durante 4h (18-22 ciclos/h) a $63-65^{\circ}\text{C}$.

Após a extração, todos os envelopes foram deixados em uma capela de exaustão de gases (*velocidade média do duto* = $60 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$) por 24h para eliminar o solvente. Posteriormente, os envelopes foram secos em estufa por mais 48h a 40°C para avaliar o peso livre de gordura. O teor de matéria gorda total (g) foi medido subtraindo o peso livre de gordura do peso seco para os quatro besouros de cada réplica no segundo experimento e para cada besouro no terceiro experimento.

5.9 Análise de Dados

Para avaliar o efeito da ureia nos serviços de remoção de fezes (y_1) e revolvimento de solo (y_2) realizado pelos besouros nos experimentos de campo, fizemos uma análise de variância (ANOVA) para cada variável dependente.

Para verificar o efeito prologando da ureia sobre os serviços ecológicos fornecidos pelos *D. bos* usamos modelos lineares de efeito misto (GLMM), uma vez que realizamos medidas repetidas no curso do experimento. Esses modelos assumem pseudorreplicação temporal na qual precisamos indicar na formula qual o efeito aleatório associado às avaliações a cada 10 dias (efeito aleatório contínuo) de cada réplica experimental (tempo de avaliação|réplicas) (Crawley, 2013). Para nos certificar que o efeito aleatório temporal é importante nas construções dos modelos, fizemos uma análise de auto-correlação temporal e pudemos observar que existe um efeito das medidas repetidas que não podemos excluir (APENDICE A). Assim nossos modelos foram testados contrastando o modelo explicativo contra o modelo nulo e o valor do teste e da significância foram extraídos dessa comparação.

Para comparar a taxa de mortalidade dos indivíduos em cada tratamento no experimento 3 usamos uma análise de regressão seguida pela distribuição de Weibull (Weibull, 1951). Assim nós usamos o tempo de morte de cada individuo do experimento como variável resposta e os tratamentos como variável explicativa.

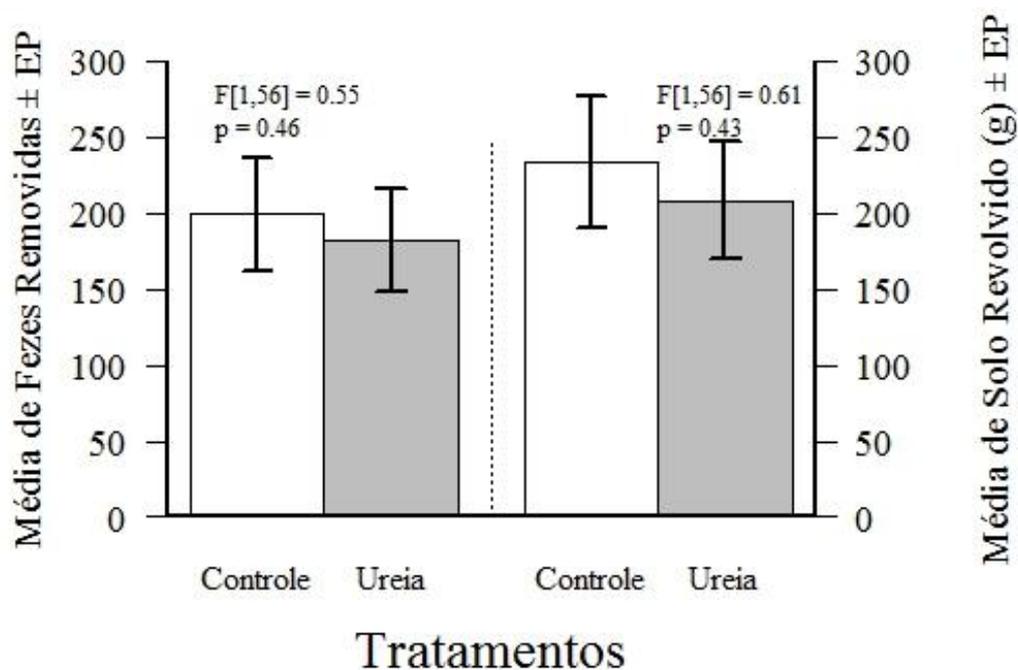
Por fim, para verificar os efeitos da ureia nos aspectos fisiológicos dos besouros, fizemos para o segundo experimento uma análise de variância (ANOVA) onde utilizamos o teor de gordura corporal como variável resposta e os tratamentos como variável explicativa, e para o terceiro experimento realizamos uma análise de covariância (ANCOVA) usando diferença de peso final e inicial como variável resposta, tratamentos como variável explicativa e teor de gordura individual como uma covariável. Todas as análises foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2016).

6 RESULTADOS

6.1 Teste 1 - Funções ecológicas de *D. bos* em campo

Verificamos que a dosagem comercial de ureia fertilizante aplicada sobre os mesocosmos em campo não afetou significativamente as funções ecológicas desempenhadas pelos besouros escarabeíneos *D. bos* (FIGURA 5).

Figura 5 – Efeito da aplicação de ureia fertilizante nas funções ecológicas (remoção de fezes e revolvimento de solo) desempenhadas pelos besouros escarabeíneos *D. bos* na pastagem do *campus* da Universidade Federal de Lavras – MG.

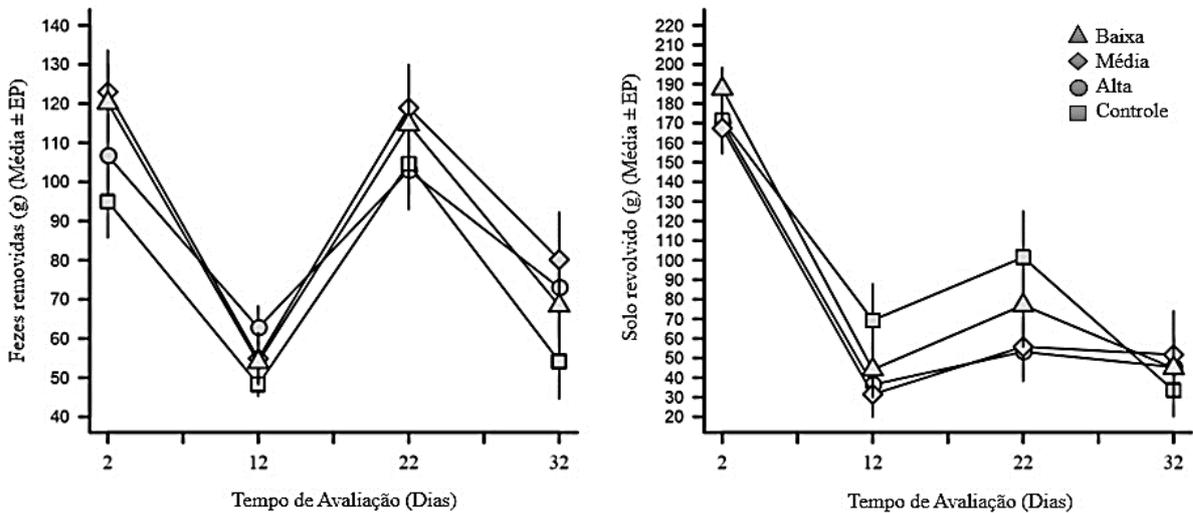


Legenda: Remoção de fezes, à esquerda, e revolvimento de solo, à direita.
Fonte: Do autor (2017).

6.2 Teste 2 - Funções ecológicas de *D. bos* em laboratório

O tempo de exposição (2, 12, 22, 32 dias, respectivamente) e as diferentes dosagens de ureia fertilizante (baseado na dosagem comercial) aplicadas em cada tratamento (Controle, Baixa, Média e Alta) não influenciaram a função ecológica de remoção de fezes ($\chi^2=6.2111$, $p=0.1018$ – Figura 7), bem como de revolvimento de solo ($\chi^2=2.9765$, $p=0.3953$ – FIGURA 6) desempenhadas pelos besouros escarabeíneos *D. bos*.

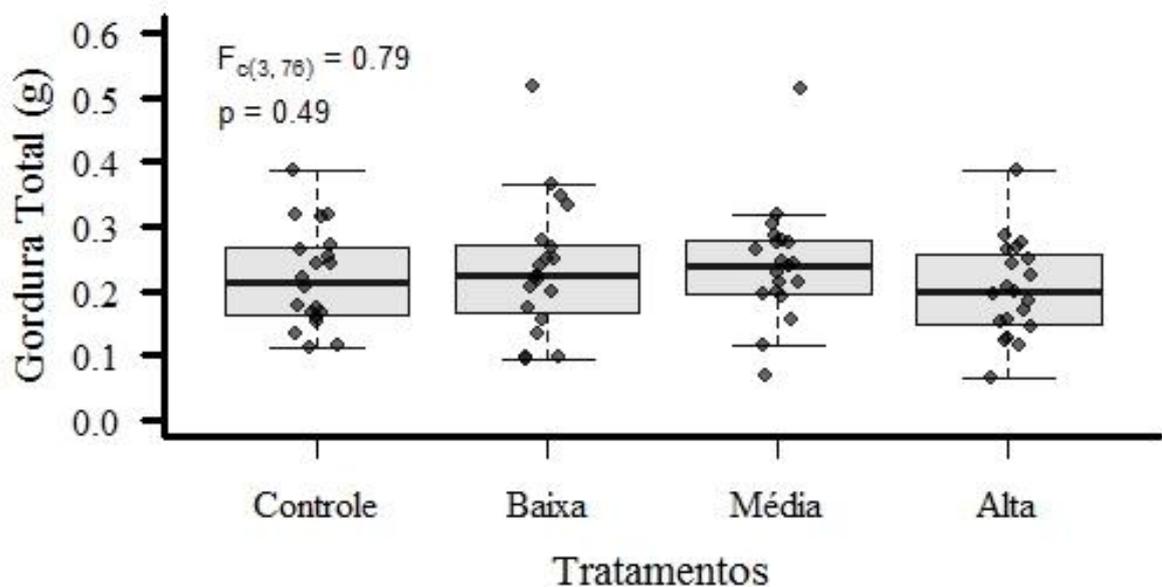
Figura 6 – Médias (símbolos) e erros padrão (EP - linhas verticais) das funções ecológicas de remoção de fezes e revolvimento de solo realizadas pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Baixa, Média e Alta dosagens de ureia e Controle (sem ureia) ao longo dos 32 dias de experimentação.



Fonte: Do autor (2017).

Também não foi detectada diferença significativa quando analisamos o acúmulo de gordura corporal dos besouros expostos às diferentes dosagens de ureia (FIGURA 7).

Figura 7 – Médias (linhas escuras) e erros padrões (linhas verticais) do acúmulo de gordura corporal apresentado pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Baixa, Média e Alta dosagens de ureia e Controle (sem ureia).

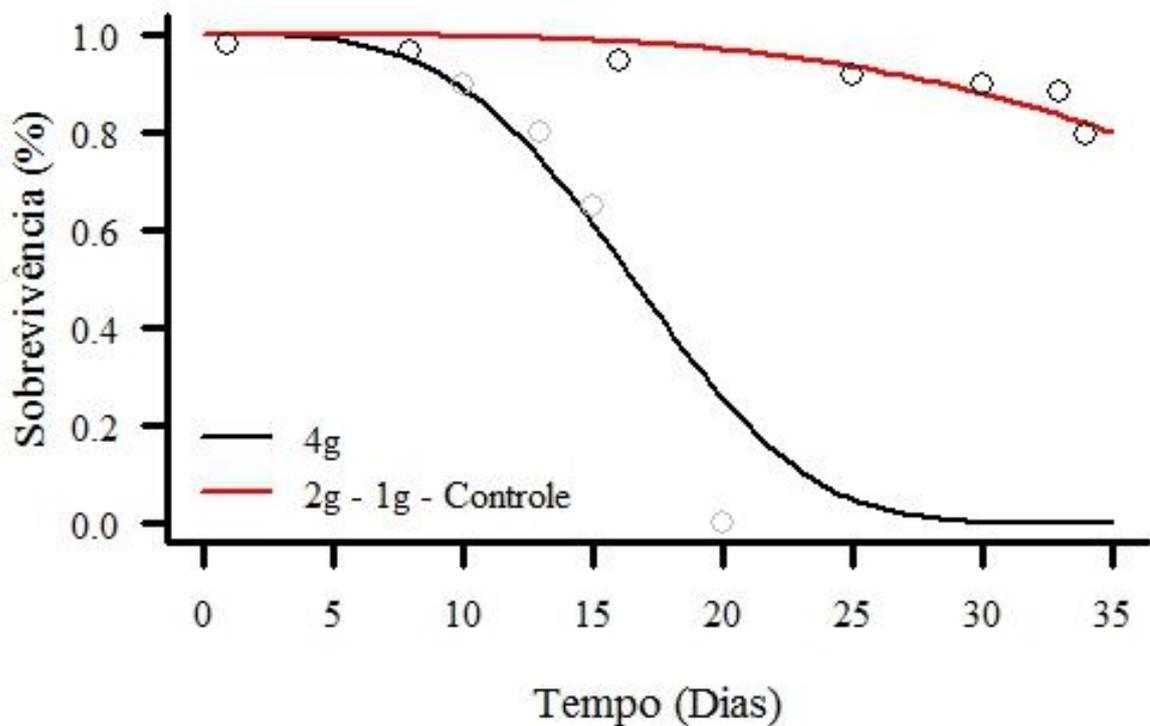


Fonte: Do autor (2017).

6.3 Teste 3 - A mortalidade de *D. bos* em laboratório

O efeito das superdosagens propostas por Rai, Ashiya e Rathore (2014), geraram taxas de mortalidade significativamente maiores apenas nas dosagens de 4 g (nível III), com tempo de morte estimado em 16 dias, onde 100% dos besouros estavam mortos ($\chi^2=67.09$, $p<0.01$ – FIGURA 8).

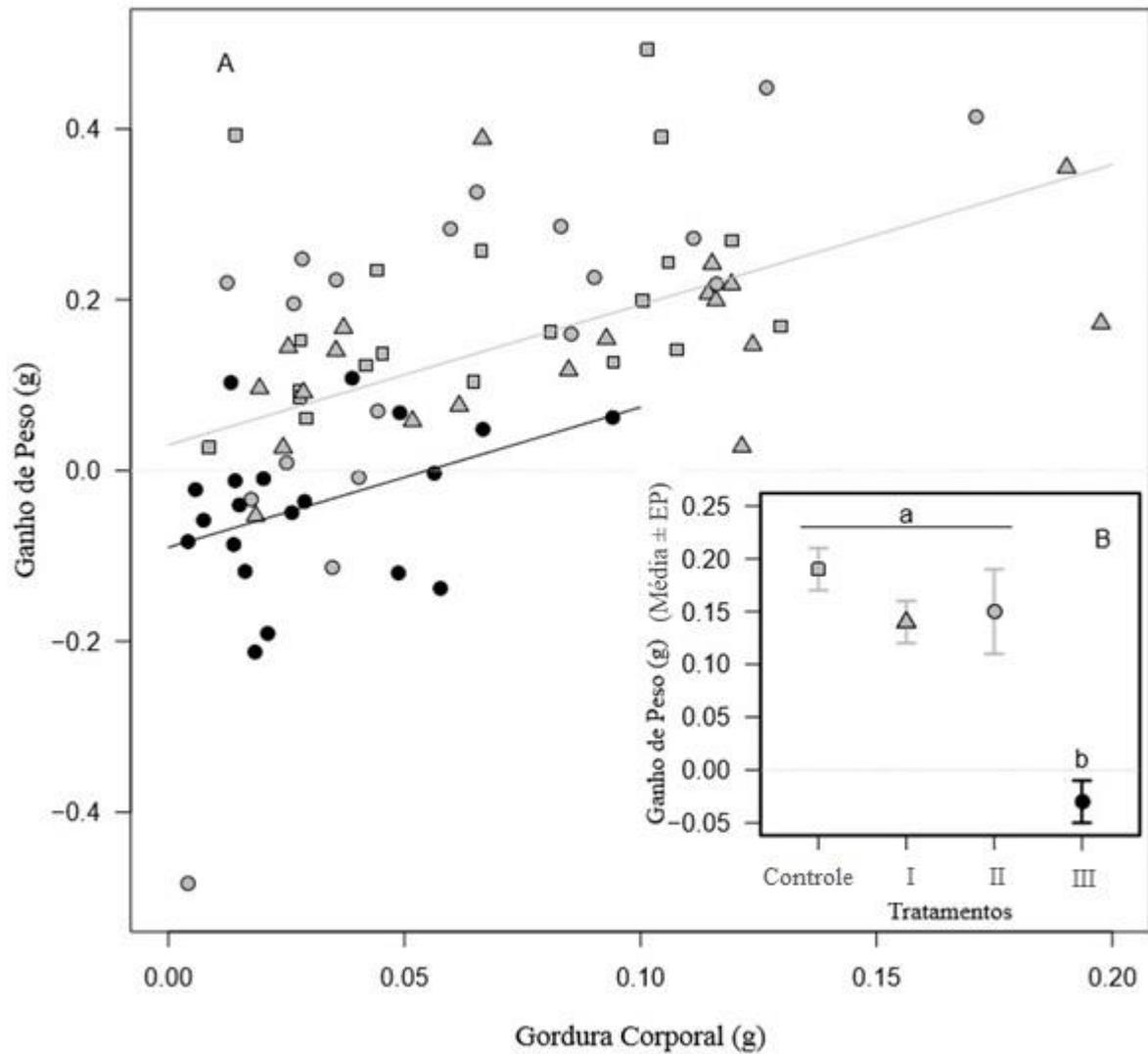
Figura 8 – Curva de sobrevivência apresentada pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Controle, Nível I (1g), Nível II (2g), Nível III (4g) ao longo dos 35 dias de experimentação.



Fonte: Do autor (2017).

A superdosagem de ureia fertilizante afetou o ganho de peso e o acúmulo de gordura corporal ($F_{3.75}=14.52$, $p<0.01$ – FIGURA 9) dos besouros e estas variáveis são relacionadas ($F_{1.74}=23.92$, $p<0.01$). Besouros expostos aos tratamentos nível I e nível II não se diferiram significativamente do controle, enquanto aqueles expostos a dosagem nível III apresentaram redução em seu peso e acúmulo de gordura inferior.

Figura 9 – Relação entre ganho de peso e gordura corporal acumulada apresentada pelos besouros escarabeíneos *D. bos* submetidos aos tratamentos Controle, Nível I (1g), Nível II (2g), Nível III (4g).



Legenda: Figura A. Relação entre ganho de peso e gordura corporal e B. Ganho de peso corporal em função dos tratamentos apresentado pelos besouros escarabeíneos *D. bos*.

Fonte: Do autor (2017).

7 DISCUSSÃO

Este trabalho fornece a primeira evidência experimental de que a aplicação da ureia fertilizante, em doses recomendadas pelos receituários agrônômicos para pastagens, não afeta os serviços fornecidos e a sobrevivência do besouro escarabeíneo *D. bos*. Os resultados aqui apresentados mostram robustez e consistência uma vez que os experimentos foram realizados tanto em campo, com todas as fontes de variação e heterogeneidade do sistema, como em laboratório, havendo controle de uma série de parâmetros ecológicos (DIAMOND, 1983; HILLEBRAND; GUREVITCH, 2014).

No primeiro teste desenvolvido, o tratamento que recebeu a dosagem comercial de ureia não diferiu do tratamento testemunha, onde a ureia não foi aplicada, isto é, a presença da ureia não interferiu no desempenho das funções ecológicas. Barth (2014) verificou que esse fertilizante também não é capaz de interferir na abundância e na riqueza de coleópteros coprófagos. Quando aplicada sobre o solo, a lanço, parte da ureia penetra na massa fecal já presente na pastagem e parte fica na sua superfície. A parte da ureia que penetra na massa fecal poderia, em tese, permanecer em maior contato com os besouros, uma vez que estes passam grande parte do seu tempo no interior das massas (OIKAWA, 2007) e poderia afetar principalmente seus estágios larvais, comprometendo seu desenvolvimento. Porém, o efeito observado parece ser efêmero, já que o nitrogênio que fica na superfície da massa fecal volatiliza ou pode ser lixiviado após um a dois dias (KAZUHIRA et al., 1991), evidenciando que o tempo de experimentação foi suficiente para que os efeitos diretos da ureia fossem percebidos pelos besouros, mas não suficiente para que a ureia provocasse algum dano biológico nas características testadas, não podendo descartar a possibilidade de haver efeitos subletais. Apesar da ureia, de forma geral, ser tóxica a animais (SCHMIDT-NIELSEM, 2002) e ter potencial para afetar a população de Scarabaeidae coprófagos, pode-se considerar que ela não permanece em sua forma tóxica original tempo suficiente para afetar qualquer aspecto biológico e/ou ecológico destes insetos (OIKAWA, 2007).

Tendo em vista a possibilidade da existência de efeitos diretos da ureia sobre os insetos ao longo do tempo, foi desenvolvido o segundo teste. O fato do tempo de exposição e as diferentes dosagens comerciais não terem interferido na realização das funções ecológicas de remoção de fezes e revolvimento de solo, se deve, provavelmente, à utilização de dosagens muito baixas para serem sentidas pelos besouros e à aplicação em dose única da ureia. A utilização de fertilizantes nitrogenados acelera o processo de acidificação do solo em uma dinâmica dose-dependente, ou seja, mesmo que em pequenas doses de nitrogênio a taxa de acidificação seja baixa, ela cresce com o aumento do uso desses fertilizantes (LOPES, 1998).

Possivelmente, uma única aplicação da ureia tenha sido incapaz de induzir à acidificação do solo, impedindo assim, outra causa potencial de alterações na ecologia do besouro, além do possível efeito tóxico da amônia. Podemos supor então a ocorrência de um efeito sinérgico da baixa concentração e da aplicação em dose única como possíveis explicações para a não influência da fertilização nitrogenada na realização das funções ecológicas pelos besouros.

Outra vertente capaz de explicar o fato de o tempo de exposição não ter interferido na capacidade de desenvolvimento das funções ecológicas é a velocidade de reação da ureia no solo. Quando lançada ao solo, a ureia é hidrolisada pela enzima urease, formando carbonato de amônio [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$], que é rapidamente decomposto, dando origem ao amônio, bicarbonato e hidroxila [$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- + \text{HCO}_3^-$] (ROCHETTE et al., 2009). Com a reação ocorrendo rapidamente, parte do amônio é perdido por volatilização e lixiviação e parte é disponibilizada para as plantas. Por ter baixa retenção no solo, ser altamente dinâmico e se apresentar em formas muito instáveis (CARVALHO; ZABOT, 2012), podemos supor que o nitrogênio fornecido pela fertilização não permanece no solo tempo suficiente para afetar a população de besouros coprófagos e suas funções ecológicas de forma direta nos parâmetros analisados, não descartando a possibilidade de consequências subletais. Esse efeito pode variar de acordo com a estação do ano em que o elemento é lançado, pois a reação ocorre mais rapidamente sob altas temperaturas e alta umidade do solo (ROSS et al., 1971), características observadas no verão, quando o experimento foi montado, e pode ser diferente no inverno. O experimento foi conduzido em apenas um tipo de solo, assim, outras respostas podem ser esperadas em pastagens com características físico-químicas distintas, uma vez que as reações do fertilizante podem variar de acordo com as características do solo (RIBEIRO et al., 1999).

Ainda no segundo experimento, quando avaliamos o peso e o acúmulo de gordura corporal, a não significância dos diferentes tratamentos pode também, estar relacionada às dosagens aplicadas (dosagem comercial). Tais dosagens não foram suficientes para intervir no desenvolvimento do besouro ou causar algum tipo de estresse que seja capaz de alterar seu potencial de acúmulo de gordura. Esse fato pode indicar a ausência de impactos negativos subletais da ureia quando aplicada em dosagens recomendadas, tendo em vista que besouros submetidos a estresse ambiental tendem a acumular mais gordura (FRANÇA et al., 2016).

É importante ressaltar que utilizamos apenas uma espécie de besouro, sendo que outras espécies podem apresentar respostas diferentes. O *D. bos* é um besouro amplamente distribuído nas pastagens brasileiras e isso pode ser uma evidência de que essa espécie já esteja em um processo de seleção natural, onde sobrevivem os indivíduos resistentes à presença desse produto

químico, visto que é o fertilizante nitrogenado mais utilizado nesses sistemas (LARA CABEZAS; TRIVELIN, 1990; URQUIAGA; MALAVOLTA, 2002). Novas pesquisas precisam ser realizadas utilizando outras espécies para se conhecer o real impacto desse fertilizante sobre a comunidade de escarabeíneos.

No terceiro teste, onde potencializamos os efeitos da ureia com uma superdosagem, encontramos um limiar em que a dosagem de ureia não é sentida pelos besouros, até 2g/kg de solo. A dosagem nível III (4g/kg de solo) provoca a morte dos escarabeíneos. Alguns trabalhos vêm mostrando o efeito negativo da ureia, como o trabalho conduzido por Paungfoo-Lonhienne e colaboradores (2015) com a comunidade fúngica do solo e rizosfera em uma plantaçao de cana-de-açúcar, onde foi observado que a ureia promove o crescimento de culturas de fungos patogênicos e reduz a comunidade de fungos benéficos. Outro exemplo é o trabalho de Saratchandra e colaboradores (2001) com a diversidade funcional da microflora e nematoides do solo em pastagens, que foi diminuída como resultado de grandes aplicações de fertilizantes nitrogenados, como a ureia.

Rai, Ashiya e Rathore (2014) constataram que a ureia foi fatal para minhocas da espécie *Eisenia foetida* quando a dose atingiu mais de 1,5 gramas de ureia por quilo de solo. A dosagem fatal para os besouros ter sido maior que a apresentada pelas minhocas, pode ser devido ao fato de que as minhocas não possuem exoesqueleto que funciona como proteção ao corpo do inseto, apresentando corpo mole e passam todo o ciclo de vida enterradas no solo, enquanto os besouros passam apenas parte do seu ciclo de vida. Todo o desenvolvimento larval desse besouro ocorre dentro das pêsas de incubação, com temperatura e umidade constantes (ALVES, 1977). Nosso estudo não permitiu averiguar se a ureia provoca efeito negativo sobre o desenvolvimento larval dos escarabeíneos, mas não podemos descartar a possibilidade desse agroquímico causar danos às fases larval e pupal, uma vez que as larvas são organismos de corpo mole e muito vulneráveis a líquidos que contenham substâncias tóxicas. A pupa é a fase mais sensível de todo o ciclo biológico dos escarabeíneos, provavelmente devido às transformações morfo-fisiológicas que ocorrem (ALVES, 1977). Alterações nos estágios iniciais de larva e pupa podem causar danos ao adulto e comprometer gerações futuras.

Alterações no peso e no acúmulo de gordura corporal dos besouros expostos a superdosagem eram esperadas, uma vez que a ureia tem potencial para causar estresse e, besouros estressados tendem a ter modificações no acúmulo de gordura (FRANÇA et al., 2016). Foi observado uma redução no peso corporal dos besouros expostos a dosagem nível III e isso se deve, possivelmente, à perda de água após a morte, mesmo que fossem feitas verificações diárias a fim de reduzir esse efeito e à mortalidade total dos besouros no décimo sexto dia de

experimento. O menor acúmulo de gordura corporal provavelmente ocorreu devido a mortalidade dos besouros, não possibilitando o acúmulo de gordura. O fornecimento de alimento ocorreu a cada cinco dias e, no tratamento com maior dosagem, era necessário a retirada das fezes que não foram utilizadas pelo besouro. Mesmo com o besouro ainda vivo, não havia utilização total das fezes ofertadas, evidenciando que pode ter ocorrido alterações fisiológicas que o impedia de se alimentar.

O impacto do uso de insumos agrícolas na biodiversidade tem sido bem documentado. Por exemplo, o uso de lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas) para o controle de pragas do gado afetam negativamente os insetos não-alvo (FLOATE; COWELL; FOX, 2002), inclusive os besouros escarabeíneos, reduzindo o número de besouros adultos emergentes, bem como o tamanho corporal, a massa muscular e a razão sexual (GONZÁLES-TOKMAN et al., 2017). A ureia pode ter potencial de apresentar efeitos similares, visto sua toxicidade a vários organismos do solo (CHEN et al., 2014; RAI; ASHIYA; RATHORE, 2014; SADEJ et al., 2012), ZENG et al., 2015), então, há necessidade de novos estudos que visem avaliar os impactos do manejo da fertilização nas pastagens e assim, assegurar um ecossistema ecologicamente sustentável.

A gestão agrícola intensiva, incluindo o uso de fertilizantes químicos e medicamentos veterinários, podem prejudicar a biodiversidade e comprometer a decomposição de esterco nas pastagens, reduzindo a abundância, a biomassa, a riqueza e a diversidade de espécies de besouros coprófagos (HUTTON; GILLER, 2003). Altas taxas de aplicação de fertilizantes nitrogenados levam a potenciais osmóticos temporariamente altos e concentrações potencialmente tóxicas das formas de nitrogênio adicionadas (ENO; BLUE; GOOD, 1955; OMAR; ISMAIL, 1999). A biodiversidade desempenha importantes serviços ecológicos e pode gerar agroecossistemas capazes de manter a fertilidade por mais tempo, serem mais resistentes e resilientes a distúrbios e apresentarem alta produtividade (ALTIERI, 1999), possibilitando formas de manejo mais sustentáveis e menos agressivas. Compreender como os ecossistemas são modificados pela intensificação da agricultura e desenvolver novas estratégias que visem aproveitar as interações ecológicas nos sistemas agrícolas são cruciais para a continuidade da agricultura de alta produtividade no futuro (MATSON et al., 1997). Para avançar, será necessário concentrar-se no terreno comum compartilhado por aqueles que têm interesse na gestão sábia dos serviços ecossistêmicos e, quaisquer desentendimentos metodológicos devem ser resolvidos através de um diálogo aberto entre formuladores de políticas, cientistas e profissionais (FOUNTAIN; WRATTEN; DYMOND, 2013).

Esse foi um estudo pioneiro que investigou como o uso do fertilizante químico ureia pode influenciar a capacidade de fornecimento de serviços ecossistêmicos prestado pela espécie *D. bos*, bem como sua biomassa, acúmulo de gordura e mortalidade. Novos estudos podem ser desenvolvidos a partir desse, buscando averiguar o efeito desses produtos sobre a fisiologia, o desenvolvimento e a reprodução desses besouros, a longo prazo, analisando a capacidade reprodutiva ao longo de gerações (utilizando besouros com ciclos de vida mais curtos) e desenvolvendo testes fisiológicos para confirmar os possíveis efeitos.

8 CONCLUSÃO

Concluimos então, que as práticas de manejo com o uso adequado de ureia como principal fertilizante aplicado sobre as pastagens brasileiras, não interferem no funcionamento desses ecossistemas, no que diz respeito às funções ecológicas de remoção de fezes e revolvimento de solo desempenhadas pelo besouro escarabeíneo *D. bos*, bem como na sua biomassa, acúmulo de gordura e mortalidade. Porém, quando foi utilizada uma superdosagem, houve efeito negativo sobre a mortalidade e consequentemente sobre a biomassa e acúmulo de gordura corporal desses besouros.

É importante ressaltar que investigamos apenas uma pequena parte de uma vasta biodiversidade importante para o funcionamento dos ecossistemas pastoris. Isso implica que tomadores de decisões devem estar atentos à biodiversidade como um todo, não apenas a grupos específicos e levar em consideração todos os pontos positivos e negativos oriundos da fertilização nitrogenada. Esta recomendação se faz crítica no caso dos fertilizantes nitrogenados visto que já é reportado na literatura que o nitrogênio pode ter impactos sobre os serviços ecossistêmicos através da redução do pH do solo, da alteração dos ciclos biogeoquímicos e da decomposição da matéria orgânica, bem como alterações na abundância ou diversidade de organismos e na composição das comunidades de invertebrados do solo. É necessário que o uso de fertilizantes nitrogenados, como a ureia, esteja dentro dos limites ecologicamente seguros.

REFERÊNCIAS

- ABIEC: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. Pecuária; Pecuária Brasileira. Disponível em: http://www.abiec.com.br/3_pecuaria.asp. Acesso em 27 de dez. de 2016.
- ALMEIDA, S. et al. Subtle Land-Use Change and Tropical Biodiversity: Dung Beetle Communities in Cerrado Grasslands and Exotic Pastures. **Biotropica**, v. 43, n. 6, p. 704-710, 2011.
- ALMEIDA, S. S. P.; LOUZADA, J. N. C. Estrutura da comunidade de Scarabaeinae (Scarabaeidae: Coleoptera) em fitofisionomias do Cerrado e sua importância para a conservação. **Neotropical entomology**, v. 38, n. 1, p. 32-43, 2009.
- ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 74, n. 1, p. 19-31, 1999.
- ALVES, S. B. **Biologia e importância econômica do *Dichotomius anaglypticus* (Mannerheim, 1829) (Coleoptera: Scarabaeidae)**. 1977. 72.f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1977.
- ANDA: ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS: Planilha de 2017. Disponível em: http://www.anda.org.br/estatistica/Principais_Indicadores_2017.pdf. Acessado em 30 de mar. 2017.
- BARTH, D. **População de coprófagos em área de integração lavoura pecuária em dois níveis de adubação nitrogenada**. Trabalho de Conclusão de Curso em Agronomia – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.
- BASTOS, S. Q. A.; VIGGIANO, L. C. F. Fontes de crescimento da pecuária leiteira: uma análise para o estado de Minas Gerais. **Economia Mineira**, p. 1-18, 2012
- BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O. Mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans*: comportamento e danos em vacas e bezerros Nelore antes da desmama. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 109-113, 2002.
- BIANCHIN, I.; HONER, M. R. O.; GOMES, A. Controle integrado da mosca-dos-chifres na região Centro-Oeste. **Hora Vet**, v. 11, p. 43-46, 1992.
- BRASIL. Decreto nº 6.894, de 1980 – art. 3º; Decreto nº 4.954, de 2004 – art. 1º; IN SDA nº 23, de 2005 – art. 1º. Acessado em 30 de mar. 2017.
- BREMNER, J. M. Recent research on problems in the use of urea as a nitrogen fertilizer. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 42, n. 1, p. 321-329, 1995.
- BÜNEMANN, E. K.; MCNEILL, Annie. Impact of fertilisers on soil biota. **Soil Biology in Agriculture**, p. 64, 2004.

CARVALHO, N. L.; ZABOT, V. Nitrogênio: Nutriente ou Poluente?. **Electronic Journal of Management, Education and Environmental Technology (REGET)**, v. 6, n. 6, p. 960-974, 2012.

CERRADOS, Embrapa. **Conhecimento, tecnologia e compromisso ambiental**. 2005.

CHEN, Y. et al. Six-year fertilization modifies the biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate steppe in Inner Mongolia. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 69, p. 371-381, 2014.

CORREIA, M. E. F. Potencial de utilização dos atributos das comunidades de fauna de solo e de grupos chave de invertebrados como bioindicadores do manejo de ecossistemas. **Embrapa Agrobiologia. Documentos**, 2002.

COSTANZA, R. et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital. **Ecological economics**, v. 25, n. 1, p. 3-16, 1998.

DAILY, G. C. et al. The value of nature and the nature of value. **Science**, v. 289, n. 5478, p. 395-396, 2000.

DE LIMA, A. A.; DE LIMA, W. L.; BERBARA, R. L. L. Diversidade da mesofauna de solo em sistemas de produção agroecológica. **Cadernos de Agroecologia**, v. 1, n. 1, 2006.

DE SOUSA, D. M. G. et al. **Uso de gesso, calcário e adubos para pastagens no cerrado**. Embrapa Cerrados, 2001.

DIAMOND, J. M. Ecology: laboratory, field and natural experiments. **Nature**, v. 304, n. 5927, p. 586-587, 1983.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das pastagens no Brasil. **Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental**, 2014.

DIAS-FILHO, M. B. Uso de Pastagens para a Produção de Bovinos de Corte no Brasil: Passado, Presente e Futuro. **Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental**, 2016.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. **Defining soil quality for a sustainable environment**, n. definingsoilqua, p. 1-21, 1994.

ENO, C. F.; BLUE, W. G.; GOOD, J. M. The effect of anhydrous ammonia on nematodes, fungi, bacteria, and nitrification in some Florida soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 19, n. 1, p. 55-58, 1955.

ERNANI, P. R.; SANGOI, L.; RAMPAZZO, C. Lixiviação e imobilização de nitrogênio num nitossolo como variáveis da forma de aplicação da uréia e da palha de aveia. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 26, n. 4, p. 993-1000, 2002.

FINCHER, G. T. The potential value of dung beetles in pasture ecosystems [Texas]. **Journal of the Georgia Entomological Society**, 1981.

- FLECHTMANN, C. A. H.; RODRIGUES, S. R.; SENO, M. C. Z. Controle biológico da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans irritans*) em Selvíria, Mato Grosso do Sul. 3. Levantamento de espécies fimícolas associadas à mosca. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 39, n. 2, p. 249-258, 1995.
- FLOATE, K. D. Off-target effects of ivermectin on insects and on dung degradation in southern Alberta, Canada. **Bulletin of Entomological Research**, v. 88, n. 01, p. 25-35, 1998.
- FOUNTAIN, E. D.; WRATTEN, S. D.; DYMOND, J. A narrative of agriculture and biodiversity loss. **Ecosystem Services in New Zealand: Conditions and Trends**, p. 115-120, 2013.
- FRANÇA, F. et al. Does selective logging stress tropical forest invertebrates? Using fat stores to examine sublethal responses in dung beetles. **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 23, p. 8526-8533, 2016.
- GARDNER, T. A. et al. The cost-effectiveness of biodiversity surveys in tropical forests. **Ecology letters**, v. 11, n. 2, p. 139-150, 2008.
- GEISSELER, D.; SCOW, K. M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms—A review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 75, p. 54-63, 2014.
- GOEDERT, W. J. et al. Consumo e produção de fertilizantes no Brasil. In: **Consumo e produção de fertilizantes no Brasil**. EMBRAPA, 1981.
- GONZÁLEZ-TOKMAN, D. et al. Ivermectin alters reproductive success, body condition and sexual trait expression in dung beetles. **Chemosphere**, 2017.
- GRIES, R. et al. Evaluating the impacts and conservation value of exotic and native tree afforestation in Cerrado grasslands using dung beetles. **Insect Conservation and Diversity**, v. 5, n. 3, p. 175-185, 2011.
- HALFFTER, G.; FAVILA, M. E. The Scarabaeinae (Insecta: Coleoptera) an animal group for analysing, inventorying and monitoring biodiversity in tropical rainforest and modified landscapes. **Biology International**, v. 27, n. 27, p. 15-21, 1993.
- HALFFTER, G.; MATTHEWS, E. G. The natural history of dung beetles of the subfamily Scarabaeinae (Coleoptera, Scarabaeidae). 1966.
- HANSKI, I.; CAMBEFORT, Y. (Ed.). **Dung beetle ecology**. Princeton University Press, 2014.
- HENDRIX, P. F. et al. Abundance and distribution of earthworms in relation to landscape factors on the Georgia Piedmont, USA. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, n. 12, p. 1357-1361, 1992.
- HILLEBRAND, H.; GUREVITCH, J. Meta-analysis results are unlikely to be biased by differences in variance and replication between ecological lab and field studies. **Oikos**, v. 123, n. 7, p. 794-799, 2014.

HUTTON, S. A.; GILLER, P. S. The effects of the intensification of agriculture on northern temperate dung beetle communities. **Journal of Applied Ecology**, v. 40, n. 6, p. 994-1007, 2003.

IBGE: INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA: Censo agropecuário 1920/2006. Até 1996, dados extraídos de: Estatística do Século XX. Rio de Janeiro, IBGE, 2007 Disponível em: <http://seriesestatisticas.ibge.gov.br/>. Acessado em 04 de jan. 2017.

IPCC: INTERNATIONAL PANEL FOR CLIMATE CHANGE. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. 2006.

IPNI: INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE. Disponível em: <http://brasil.ipni.net/article/BRS-3132#evolucao>. Acessado em 04 de jan. 2016.

JONES, L. et al. A review and application of the evidence for nitrogen impacts on ecosystem services. **Ecosystem Services**, v. 7, p. 76-88, 2014.

JUNIOR, G. B. M; VILELA, L. **Pastagens no cerrado: baixa produtividade pelo uso limitado de fertilizantes**. Embrapa Cerrados, 2002.

KAZUHIRA, Y. et al. Nitrogen mineralization and microbial populations in cow dung, dung balls and underlying soil affected by paracoprid dung beetles. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, n. 7, p. 649-653, 1991.

KAZUHIRA, Y; HIDEAKI, K; HIROFUMI, T. Paracoprid dung beetles and gaseous loss of nitrogen from cow dung. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, n. 7, p. 643-647, 1991.

KOLLER, W. W. et al. Sacarabaeidae e Aphodiidae coprófagos em pastagens cultivadas em área do cerrado sul-mato-grossense. **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 9, n. 1, 2009.

KIEHL, J. C. Distribuição e retenção da amônia no solo após aplicação de uréia. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 13, n. 1, p. 75-80, 1989.

LARA CABEZAS, W. A. R. et al. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura de milho, em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 363-376, 2000.

LARA CABEZAS, W. A. R.; TRIVELIN, P. C. O. Eficiência de um coletor semi-aberto estático na quantificação de N-NH₃ volatilizado da uréia aplicada ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 14, n. 3, p. 345-352, 1990.

LARA CABEZAS, W. A. R.; KORNDORFER, G. H.; MOTTA, S. A. Volatilização de N-NH₃ na cultura de milho: II. Avaliação de fontes sólidas e fluidas em sistema de plantio direto e convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, n. 3, p. 489-496, 1997.

LISBOA, C. C. et al. Bioethanol production from sugarcane and emissions of greenhouse gases—known and unknowns. **Gcb Bioenergy**, v. 3, n. 4, p. 277-292, 2011.

LOPES, A. S. Acidez do solo e calagem. 3a ed. Ver./LOPES, A. S.; SILVA, M. C.; GUILHERME, L. R. G. São Paulo, ANDA 1990. 22 p. (Boletim Técnico, 1). 1991.

- LOPES, A. S. Manual Internacional de Fertilidade do Solo. rev. e amp. **Piracicaba: Potafos**, 1998.
- LOSEY, J. E.; VAUGHAN, M. The economic value of ecological services provided by insects. **Bioscience**, v. 56, n. 4, p. 311-323, 2006.
- MACEDO, M. C. M.; KICHEL, A. N.; ZIMMER, A. H. Degradação e alternativas de recuperação e renovação de pastagens. Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC. 4 p. (Comunicado Técnico, 62). 2000.
- MACHADO, L. et al. Principais espécies forrageiras utilizadas em pastagens para gado de corte. Bovinocultura de corte. Piracicaba: FEALQ, v. 1, p. 375-417, 2010.
- MAPA: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em 27 de dez. de 2016.
- MATSON, P. A. et al. Agricultural intensification and ecosystem properties. **Science**, v. 277, n. 5325, p. 504-509, 1997.
- MOSIER, A. et al. Closing the global N₂O budget: nitrous oxide emissions through the agricultural nitrogen cycle. **Nutrient cycling in Agroecosystems**, v. 52, n. 2-3, p. 225-248, 1998.
- MOREIRA, F. M. S. et al. **O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. Ed. UFLA, 352 p. 2013
- MOZUMDER, P.; BERRENS, R. P. Inorganic fertilizer use and biodiversity risk: An empirical investigation. **Ecological Economics**, v. 62, n. 3, p. 538-543, 2007.
- MUCHOVEJ, R. M. C.; RECHCIGL, J. E. Nitrogen fertilizers. **Soil amendments and environmental quality**. Boca Raton: **Lewis Publishers**, p. 1-64, 1995.
- MYERS, N. Environmental services of biodiversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 7, p. 2764-2769, 1996.
- NETO, S. S. et al. Uso da análise faunística de insetos na avaliação impacto ambiental. **Scientia agrícola**, v. 52, n. 1, p. 9-15, 1995.
- NICHOLS, E. et al. Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. **Biological conservation**, v. 141, n. 6, p. 1461-1474, 2008.
- NICHOLS, E. et al. Global dung beetle response to tropical forest modification and fragmentation: a quantitative literature review and meta-analysis. **Biological conservation**, v. 137, n. 1, p. 1-19, 2007.
- OIKAWA, F. **Influência da irrigação na atividade e sazonalidade de besouros coprófagos (coleoptera: scarabaeidae) em pastagem**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista.

OMAR, S. A.; ISMAIL, M. A. Microbial populations, ammonification and nitrification in soil treated with urea and inorganic salts. **Folia microbiologica**, v. 44, n. 2, p. 205-212, 1999.

PAGIOLA, S. et al. Mainstreaming biodiversity in agricultural development. **Finance and Development**, v. 35, n. 1, p. 38, 1998.

PAUNGFOO-LONHIENNE, C. et al. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. **Scientific reports**, v. 5, p. 8678, 2015.

PRIMAVESI, A. C. et al. Adubação nitrogenada em capim-coastcross: efeitos na extração de nutrientes e recuperação aparente do nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 68-78, 2004.

PRIMAVESI, A. C. et al. Eficiência nutricional de duas fontes de nitrogênio na produção de matéria seca de Coastcross. **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, v. 37, 2000.

RAI, N.; ASHIYA, P.; RATHORE, D. S. Comparative study of the effect of chemical fertilizers and organic fertilizers on *Eisenia foetida*. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, v. 3, n. 5, p. 12991-12998, 2014.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2016

RIBEIRO, A. C. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999.

ROCHA, L., NOVAIS, G. T. Mapeamento Pluviométrico da Mesorregião do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba- MG. **REVISTA GEONORTE**, v. 2, n. 5, p. 1352-1363. 2012.

ROCHETTE, P. et al. Banding of urea increased ammonia volatilization in a dry acidic soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 38, n. 4, p. 1383-1390, 2009.

ROSS JR, L. et al. **Urease inhibited urea-containing compositions**. U.S. Patent n. 3,565,599, 23 fev. 1971.

SADEJ, W. et al. Effects of fertilizer and land-use type on soil properties and ground beetle communities. **Bulletin of Insectology**, v. 65, n. 2, p. 239-246, 2012.

SANGOI, L. et al. Volatilization of N-NH₃ influenced by urea application forms, residue management and soil type in lab conditions. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 687-692, 2003.

SARATHCHANDRA, S. U. et al. Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 7, p. 953-964, 2001.

SCHMIDT-NILSEN, K. **Fisiologia Animal Adaptação e Meio Ambiente**, São Paulo, SP, Editora Santos, 611 p. 2002.

SCHUNKE, R. M.. **Alternativas de manejo de pastagem para melhor aproveitamento do nitrogênio do solo.** Embrapa Gado de Corte, 2001.

SEYMOUR, N. P. Impacts of pesticides and fertilizers on soil biota. **Doctor of philosophy, University of Queensland. Department of primary industries and fisheries. PO Box, v. 2282, 2002.**

SKIBA, U.; SMITH, K. A. The control of nitrous oxide emissions from agricultural and natural soils. **Chemosphere-Global Change Science**, v. 2, n. 3, p. 379-386, 2000.

TILMAN, D. et al. Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, v. 418, n. 6898, p. 671-677, 2002.

TILMAN, D. et al. Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. **Science**, v. 294, n. 5543, p. 843-845, 2001.

TILMAN, D; REICH, P. B.; KNOPS, J. M. H. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. **Nature**, v. 441, n. 7093, p. 629-632, 2006.

URQUIAGA, S; MALAVOLTA, E. Ureia: um adubo orgânico de potencial para a agricultura orgânica. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 19, n. 2, p. 333-339, 2002.

VAZ-DE-MELLO, F. Z. Estado actual de conhecimento dos Scarabaeidae s. str.(Coleoptera: Scarabaeoidea) do Brasil. In: **Proyecto Iberoamericano de Biogeografía y Entomología Sistemática: PRIBES 2000: trabajos del 1er taller iberoamericano de entomología sistemática.** Sociedad Entomológica Aragonesa, SEA, 2000. p. 183-195.

VILELA, L. et al. **Calagem e adubação para pastagens na região do cerrado.** Embrapa Cerrados, 1998.

VITOUSEK, P. M. et al. Human domination of Earth's ecosystems. **Science**, v. 277, n. 5325, p. 494-499, 1997.

WALSH, G. C.; CORDO, H. A. Coprophilous arthropod community from Argentina with species of potential use as biocontrol agents against pest flies. **Environmental Entomology**, v. 26, n. 2, p. 191-200, 1997.

WINK, C. et al. Insetos edáficos como indicadores da qualidade ambiental= Soilborne insects as indicators of environmental quality. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 4, n. 1, p. 60-71, 2005.

ZANATTA, J. A. et al. Nitrous oxide and methane fluxes in South Brazilian Gleysol as affected by nitrogen fertilizers. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 5, p. 1653-1665, 2010.

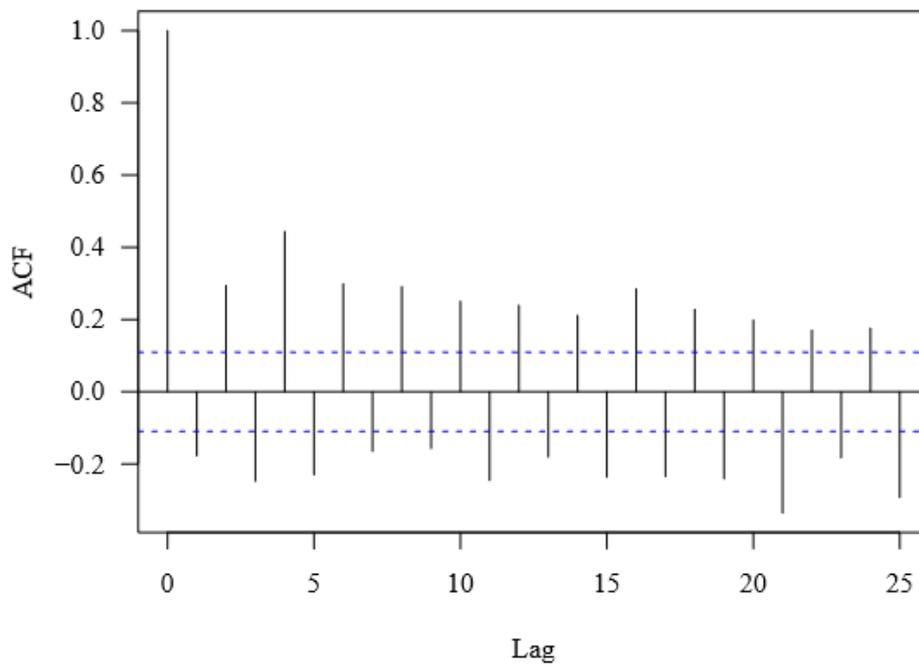
ZENG, J. et al. Nitrogen fertilization directly affects soil bacterial diversity and indirectly affects bacterial community composition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 92, p. 41-49, 2015.

ZHOU, J. et al. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in NorthEast China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 95, p. 135-143, 2016.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Gráficos de autocorrelação temporal gerado com os dados do experimento 2.
A linha tracejada indica o limiar do valor da correlação significativa.

Fezes removidas



Solo revolvido

