

Oligoquetas da Espécie *Eisenia andrei* como Bioindicadores na Avaliação do Potencial Tóxico de Latossolos e Chernossolos Acrescidos de Lodo de Esgoto

Raphael Corrêa da Silva

Bolsista de Iniciação Científica, Ciências Biológicas, Univ. Santa Úrsula.

Silvia Gonçalves Egler

Orientadora, Bióloga, M. Sc.

Ricardo Gonçalves Cesar

Co-orientador, Geógrafo, B. Sc.

Resumo

O lodo de esgoto (LE) é um composto comumente empregado na agricultura visando o melhoramento das características físicas e químicas dos solos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade de latossolo e de chernossolo acrescidos de LE. Para tanto, a análise química do LE e dos solos foram realizadas por absorção atômica, e comparada com os padrões exigidos pela legislação brasileira. Os testes de toxicidade aguda e de comportamento (fuga) foram realizados de acordo com ASMT (2004) e ISO (2002), respectivamente. A análise química revelou um aumento substancial dos metais pesados nos solos acrescidos de LE. No entanto, os resultados do teste de toxicidade aguda demonstraram que a dose de LE utilizada não causou efeito letal aos organismos testados, enquanto o LE *in natura* provocou a mortalidade de 100% dos indivíduos. Por fim, o latossolo acrescido de LE parece apresentar maior potencial tóxico em comparação ao chernossolo.

1. Introdução

A crescente população dos centros urbanos tem desempenhado papel fundamental na produção de resíduos, os quais comumente são dispostos de maneira inadequada ou não recebem um tratamento que possibilite sua reciclagem ou reaproveitamento. Desde a década 70, com o advento da questão ambiental, autoridades públicas, empresas e sociedade têm buscado soluções sustentáveis visando à minimização dos impactos ambientais sobre os ecossistemas. Neste contexto, a construção de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) tem se tornado uma alternativa interessante no tratamento de efluentes provenientes de cidades e indústrias. No entanto, o referido tratamento gera, além de uma fração líquida, considerável quantidade de resíduo sólido - denominado lodo de esgoto (LE) ou bio-sólido - e que demanda por disposição final adequada (Alamino et al., 2007).

O esgoto é composto por uma mistura de água (99,9%) e sólidos (0,1%). Do total de sólidos (que dizem respeito ao LE), 70% correspondem a compostos orgânicos (proteínas, carboidratos, gorduras) e 30% inorgânicos (substâncias minerais e metais pesados) (Alamino et al., 2007).

O emprego do LE em atividades agrícolas tem demonstrado resultados promissores (Souza et al., 2005). O elevado conteúdo de carbono orgânico, associado à alta concentração de nutrientes, parece otimizar

propriedades físicas (porosidade, permeabilidade e agregabilidade) e químicas (fertilidade) dos solos (Epstein et al., 1975 *apud* Souza et al., 2005), possibilitando o cultivo de gêneros agrícolas não adaptados às condições ambientais originais. Alguns autores têm também demonstrado o potencial da aplicação do LE como fertilizante em diversas condições de solo, clima e cultivos, dentre os quais se destacam a soja, o trigo, milho e o feijão de girassol (Deschamps & Favareto, 1997 *apud* Nascimento et al., 2004).

Barros et al. (2002 *apud* Nascimento et al., 2004) verificaram uma tendência de aumento dos teores de nitrogênio em plantas cultivadas em solos acrescidos de LE. De acordo com estes autores, as concentrações de nitrogênio foram diretamente proporcionais ao aumento das doses de LE. Silvia et al. (2002 *apud* Nascimento et al., 2004) ainda comprovaram que a aplicação do LE estimulou o aumento de 25% da produção de potássio em comparação à aplicação de superfosfato triplo (composto químico comumente empregado na agricultura) em solos cultivados com milho.

A presença de microorganismos patogênicos e de metais tóxicos [tais como zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), chumbo (Pb), cádmio (Cd) e mercúrio (Hg)] constitui a principal restrição ao uso do LE na agricultura. De maneira geral, os teores de metais pesados no LE são extremamente altos quando comparados às concentrações naturalmente encontradas nos solos (Borges & Coutinho, 2004). Sendo assim, o acúmulo de metais pesados em solos acrescidos de LE pode causar severos danos à biota e à saúde humana.

A absorção e/ou acumulação de metais pelas plantas e pela macro-pedofauna favorece a inserção dos contaminantes na cadeia trófica, prejudicando a saúde dos ecossistemas. A transposição de contaminantes para a flora pode inviabilizar o consumo humano dos vegetais cultivados, e a inserção de microorganismos patogênicos no ambiente pode modificar a atividade microbiana do solo, bem como causar sérios efeitos negativos à saúde humana. Além disso, a lixiviação química dos solos, promovida pela ação da água pluvial, pode disseminar a contaminação para aquíferos e sistemas fluviais vizinhos, alterando o funcionamento ótimo destes ecossistemas.

A análise química do contaminante no compartimento abiótico trata somente da concentração do elemento ou substância tóxica no ambiente, e não traduz a sua real disponibilidade à biota. Para tanto, são realizados testes de toxicidade, que se baseiam na análise dos efeitos adversos (letais e sub-letais) provocados a bioindicadores expostos à contaminação em experimentos controlados de laboratório (Lanno et al., 2003).

Alguns autores vêm utilizando oligoquetas (minhocas) na avaliação do potencial tóxico de contaminantes em ecossistemas terrestres (Neuhauser et al., 1985). O largo emprego das oligoquetas na avaliação da toxicidade decorre da sua importância na macro-fauna do solo, já que servem de alimento para diversas espécies de animais. Além disso, as oligoquetas possuem a capacidade de modificar características físicas e químicas do ambiente, ingerem uma considerável quantidade de solo e seu tecido de preenchimento (celoma) possui elevado potencial de complexação química de metais pesados (Liu et al., 2005)

2. Objetivos

Avaliar a toxicidade de latossolos e chernossolos acrescidos de LE, utilizando oligoquetas da espécie *Eisenia andrei* como organismos bioindicadores; determinar a concentração de metais pesados no LE e nos solos *in natura*, e comparar os valores obtidos com aqueles propostos pela legislação brasileira (CETESB, 2001); efetuar a caracterização química e mineralógica dos solos estudados.

3. Materiais e Métodos

O LE utilizado para este trabalho foi coletado na ETE da Ilha do Governador, no Rio de Janeiro (RJ), pela equipe do Setor de Geologia de Engenharia e Ambiental do Departamento de Geologia da UFRJ (Alamino et al., 2007). As amostras de horizonte B de latossolo e de chernossolo foram coletadas próximas à rodovia Washington Luiz km 111, no município de Duque de Caxias (RJ) (Alamino et al., 2007).

A escolha do horizonte B se deu pelo fato de que o Horizonte A comumente sofrer intenso processo de erosão em áreas de manejo inadequado. Em decorrência disso, muitos agricultores são obrigados a plantar no horizonte subjacente (horizonte B). Optou-se por trabalhar com latossolo, visto que esta classe possui ampla distribuição geográfica no Brasil e é largamente utilizada na agricultura deste país. O chernossolo, embora não possua expressão espacial significativa no Brasil, é intensamente utilizado na agricultura (em lavouras intensivas), principalmente nos Estados Unidos e Argentina (Lepsch, 2002), devido à sua elevada fertilidade.

A determinação de Fe, Al, Zn, Cu e Pb nos solos foi efetuada através da solubilização de 1g de amostra em mistura ácida composta por ácido fluorídrico (HF), ácido clorídrico (HCl) e ácido perclórico (HClO₄) (2:1:1), e posterior leitura em absorção atômica. A análise de Hg foi efetuada através da pirólise da amostra, e subsequente leitura no equipamento LUMEX, uma absorção atômica acoplada à técnica de termodessorção. A caracterização mineralógica dos solos e do LE foi executada por difratometria de Raios-X, e a matéria orgânica foi quantificada por perda ao fogo. A magnitude da contaminação dos solos acrescidos de LE foi avaliada através da comparação com os valores recomendados pela legislação brasileira (Tabela 1)

Tabela 1. Valores orientadores da CETESB para qualidade de solos.

Poluentes	Referência de Qualidade		Intervenção Agrícola Imediata (mg/kg)
	(mg/kg)	Prevenção (mg/kg)	
Cobre (Cu)	35	60	200
Chumbo (Pb)	17	72	180
Mercúrio (Hg)	0,05	0,5	12
Zinco (Zn)	60	300	450

Fonte: Adaptado de CETESB (2005)

O teste de toxicidade aguda com oligoquetas da espécie *Eisenia andrei* (Minhoca Vermelha da Califórnia) foi realizado de acordo com as recomendações de ASTM (2004). Sendo assim, o teste foi conduzido com três

réplicas de 200 gramas de solo, sendo o pH e a umidade ajustados para 7 e 45%, respectivamente. O pH foi determinado em água, conforme sugerido por Embrapa (1997), e a umidade por gravimetria (24 horas em estufa a 105°C). Durante os 14 dias de experimento, os indivíduos testados foram mantidos à temperatura de 22°C e iluminação constante. Antes de serem introduzidas no solo, as oligoquetas foram deixadas durante 24 horas para o purgamento do conteúdo intestinal. Ao final do ensaio, os organismos sobreviventes também foram deixados para o purgamento, e posteriormente foram enviados para análise química. O ensaio de toxicidade de toxicidade aguda foi realizado com o LE *in natura*, latossolo acrescido de LE, latossolo *in natura*, chernossolo acrescido de LE e chernossolo *in natura*. As doses utilizadas para crescer os solos de LE seguiram as recomendações de Alamino et al (2007): o latossolo foi acrescido de 6,66% de LE, e o chernossolo de 6,58%.

O teste de fuga ("*avoidance test*") foi realizado conforme o procedimento proposto por ISO (2002). Em virtude da massa disponível para a realização deste ensaio, somente as amostras LE *in natura*, latossolo acrescido de LE e chernossolo acrescido de LE foram testadas, além de solo artificial como controle. Para a execução do experimento, são utilizados 600 gramas de solo-teste e de solo artificial, que são dispostos em um único recipiente com o auxílio de um divisor (Figura 1), a fim de avaliar o comportamento de fuga das oligoquetas. Antes de introduzir o total de 10 indivíduos em cada réplica (três réplicas), as oligoquetas foram condicionadas por 24 horas em solo artificial. Durante as 48 horas de teste, as oligoquetas foram mantidas sob temperatura de 22°C em incubadora, com ciclos de luz e escuridão de 12 horas. Ao final do ensaio, verificou-se a porcentagem de oligoquetas presentes no solo-teste e no solo controle (artificial). Quando menos de 20% dos organismos são encontrados no solo teste, considera-se que o solo tem "*função de habitat limitada*" (ISO, 2002).



Figura 1 – Teste de comportamento (fuga) com oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*.

4. Resultados e Discussão

Como esperado, o LE apresentou elevadíssimo teor de matéria orgânica, conforme apresentado na Tabela 2. No LE *in natura*, as concentrações de Zn e Cu revelaram valores acima do limite de intervenção agrícola proposto pela CETESB (2005), enquanto Hg e Pb foram enquadrados acima do valor de prevenção. Nos solos *in natura*, somente o latossolo acusou valor acima da referência para Hg (Tabela 2). Porém, a adição de LE nestes solos provocou o aumento substancial dos metais estudados (Tabela 2). Sendo assim, o latossolo e o chernossolo acrescidos de LE acusaram valores acima da referência para Hg, Pb e Zn, e no chernossolo o teor de Cu margeou o limite de referência (35 mg/kg).

Tabela 2 – Concentrações totais de Hg, Pb, Zn, Cu, Al, Fe e matéria orgânica (M.O.) no LE, solos *in natura* e solos acrescidos de LE, incluindo a comparação com a legislação brasileira.

Amostra	Hg (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	M.O (%)	Al (%)	Fe (%)
Latossolo	0,097*	10	34,2	10,0	0,22	11,1	4,4
Chernossolo	0,019	10	57	21,8	0,34	9,2	7,8
Lodo	2,2***	129**	800***	203***	30,5	4,8	2,3
Lodo + Latossolo	0,234*	17,85*	84,8*	22,7	2,33	DI	DI
Lodo + Chernossolo	0,16*	17,83*	106,5*	33,73	2,21	DI	DI

Notas: Acima da Referência*; Acima da Prevenção**; Acima da Intervenção***; DI: Dado Indisponível.

A caracterização mineralógica do latossolo revelou como fases minerais: quartzo, caulinita e gibbsita. A presença abundante de gibbsita e caulinita era esperada, já que se trata de uma classe de solo submetida a intenso processo intempérico. Os elevados valores obtidos para Al total (Tabela 2) também podem ser explicados pela abundância de gibbsita. O chernossolo acusou a presença de argilas expansivas (minerais de vermiculita, clorita e do grupo das esmectitas), com elevado potencial de adsorção de cátions.

Os resultados referentes ao teste de toxicidade aguda revelaram que o LE *in natura* foi letal a 100% dos organismos testados (Figura 2). O latossolo *in natura* apresentou maior porcentagem de mortandade do que o chernossolo *in natura*. Provavelmente, os maiores teores de nutrientes e de carbono orgânico do chernossolo (Alamino et al, 2007) desempenharam papel importante na sobrevivência dos organismos em comparação com o latossolo. Não houve diferença significativa de mortalidade entre as amostras latossolo *in natura* e latossolo acrescido de LE, e entre as amostras chernossolo *in natura* e chernossolo acrescido de LE. Estas constatações sugerem que a dose de LE aplicada aos solos testados não foi capaz de provocar efeitos letais aos bioindicadores testados.

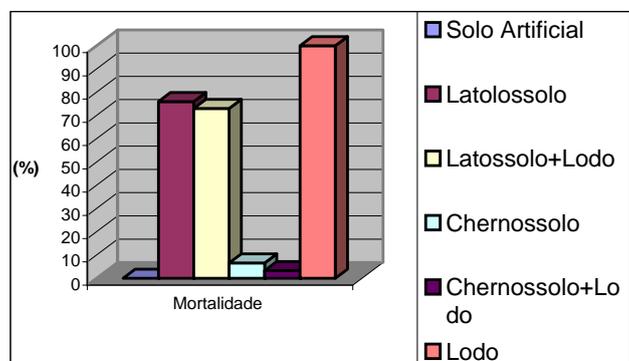


Figura 2 – Porcentagem de mortalidade dos organismos testados.

Os resultados referentes ao teste de fuga revelaram que as amostras de latossolo acrescido de LE e LE *in natura* demonstraram “função de habitat limitada”, já que apenas 3,57% e 1,6% dos organismos, respectivamente, foram encontrados nos solos-teste (Figura 3). No chernossolo acrescido de LE, foram encontrados 68,96 % dos indivíduos testados (Figura 3). Esta observação sugere que o latossolo acrescido de LE de fato apresenta maior potencial tóxico em comparação ao chernossolo acrescido de LE. Seguramente as características naturais desses materiais (fertilidade, mineralogia das argilas, teor de matéria orgânica, etc.) desempenharam papel fundamental na biodisponibilidade dos contaminantes. No caso do chernossolo, a presença de argilominerais com maior potencial de adsorção catiônica parece estimular a diminuição do aporte dos contaminantes (Tabela 2) para a solução do solo e, dessa forma, os íons se tornam menos biodisponíveis.

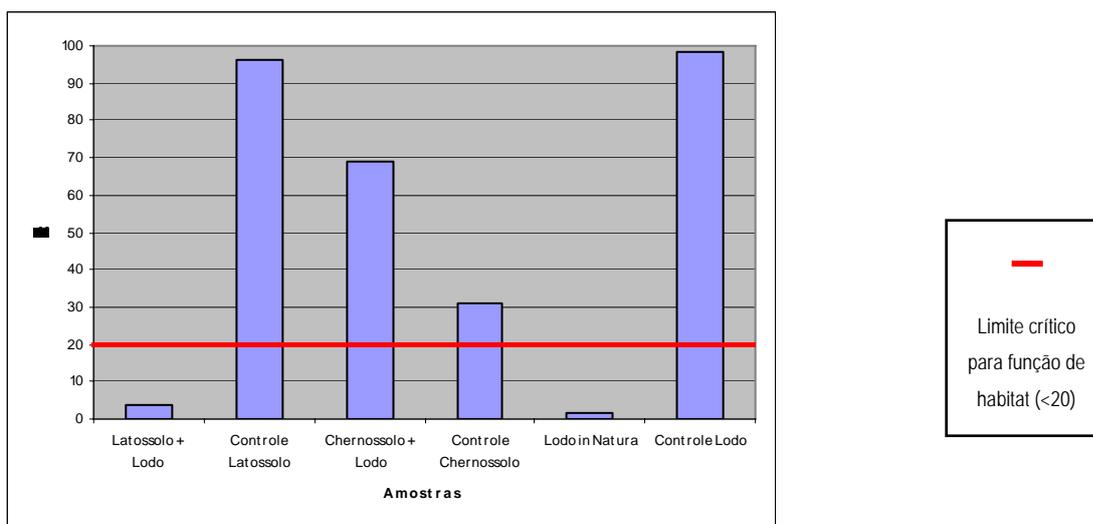


Figura 3 – Teste de fuga: porcentagem de organismos nos solos-testes e nos seus respectivos controles.

5. Conclusão

A análise química dos solos acrescidos de LE indicou um aumento substancial do teor de metais pesados em comparação às matrizes *in natura*. No LE *in natura*, as concentrações dos metais ficaram acima dos valores de intervenção e/ou prevenção.

O LE *in natura* causou 100% de mortalidade dos indivíduos e ainda estimulou a fuga de 98,3% dos organismos testados. A dose de LE utilizada para crescer os solos parece não provocar efeitos letais aos bioindicadores testados. Em trabalhos futuros, será investigada a dose de LE capaz de causar 50% de letalidade dos organismos (CL50), bem como será determinada a concentração de metais nas oligoquetas, a fim de avaliar a absorção e/ou acumulação preferencial de metais nestes organismos.

6. Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa concedida; às colaboradoras do Departamento de Geologia da UFRJ, Renata Alamino e Helena Polivanov, por cederem as amostras para a realização deste trabalho; à minha orientadora Sílvia

Gonçalves Egler e ao meu co-orientador Ricardo Gonçalves Cesar pela ajuda no desenvolvimento dos testes e do trabalho.

7. Referências Bibliográficas

ALAMINO, R. C. J.; POLIVANOV, H.; CAMPOS, T. M. P. C.; SILVA, V. H. G.; SANTOS, L. V.; MENDES, J. C. Biodisponibilidade de cádmio em latossolo acrescido de lodo de esgoto. **Anuário do Instituto de Geociências**, v.30, p.45-54, 2007.

ASTM (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS). Conducting Laboratory Soil or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm *Eisenia fetida* and the Enchytraeid Potworm *Enchytraeus albidus*. **Standard Guide E 1676-04**, 2004, 26 p.

BORGES, M. R.; COUTINHO, E. L. M. Metais pesados do solo após aplicação de biossólido II - Disponibilidade. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.557-568, 2004.

CETESB (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL). **Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo**, 2005. Disponível em:<http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: Mar. 2008.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Manual de métodos de análises de solo**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro, RJ, 1997.

ISO (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION). **Draft. Avoidance Test for Testing the Quality of Soils And The Toxicity of Chemicals – Part 1: Test With Earthworms (*Eisenia foetida*)**. Geneva, ISO, 2002.

LANNO, R.; WELLS, J.; CONDER, J.; BRADHAM, K.; BASTA, N. Bioavailability of Chemicals in Soil for Earthworms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.57, p.39-47, 2003.

LEPSCH, I. F. **Formação e Conservação dos Solos**. São Paulo, Ed. Oficina de Textos, p.101-103, 2002.

LIU, X.; CHENGXIAO, H.; ZHANG, S. Effects on Earthworm Activity on Fertility and Heavy Metals Bioavailability in Sewage Sludge. **Environmental International**, v.31, p.874-879, 2005.

NASCIMENTO, C. W. A.; BARROS, D. A. S.; MELO, E. E. C.; OLIVEIRA, A. B. Alterações químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.385-392, 2004.

NEUHAUSER, E. F.; LOEHR, R. C.; MILLIGAN, D. L.; MALECKI, M. R. Toxicity of Metals to the Earthworms *Eisenia foetida*. **Biology and Fertility of Soils, Springer-Verlag 1**, p.149-152, 1985.

SOUZA, Z. M.; BEUTLER, A. N.; MELO, V. P.; MELO, W. J. Estabilidade de Agregados e Resistência à Penetração em Latossolos Adubados por Cinco Anos com Biossólido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.117-123, 2005.