

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC  
UNIDADE ACADÊMICA DE HUMANIDADES, CIÊNCIAS E EDUCAÇÃO  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

**JULIANE MUSSAK**

**TOXIDADE CRÔNICA DE SOLOS CONTAMINADOS POR CINZAS DE FORNOS  
TERMOELÉTRICOS EM *EISENIA FOETIDA* (SAVIGNY, 1826) (MINHOCA-  
VERMELHA-DA-CALIFÓRNIA)**

**CRICIÚMA  
2014**

**JULIANE MUSSAK**

**TOXIDADE CRÔNICA DE SOLOS CONTAMINADOS POR CINZAS DE FORNOS  
TERMOELÉTRICOS EM *EISENIA FOETIDA* (SAVIGNY, 1826) (MINHOCA-  
VERMELHA-DA-CALIFÓRNIA)**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para  
obtenção do grau de Bacharel no Curso de Ciências  
Biológicas da Universidade do Extremo Sul  
Catarinense, UNESC.

Orientador: Prof. MSc. Cláudio Ricken

**CRICIÚMA  
2014**

**JULIANE MUSSAK**

**TOXIDADE CRÔNICA DE SOLOS CONTAMINADOS POR CINZAS DE FORNOS  
TERMOELÉTRICOS EM *EISENIA FOETIDA* (SAVIGNY, 1826) (MINHOCA-  
VERMELHA-DA-CALIFÓRNIA)**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para  
obtenção do grau de Bacharel no Curso de Ciências  
Biológicas da Universidade do Extremo Sul  
Catarinense, UNESC.

Criciúma, 27 de junho de 2014

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Cláudio Ricken – Mestre (UNESC) – Orientador

Prof. Jairo José Zocche – Doutor (UNESC)

Prof. Marcos Back – Mestre (UNESC)

**Dedico esse trabalho a minha família, pai, mãe e irmãos. Que sempre acreditaram em meu potencial e me deram total apoio, e muito amor durante a minha jornada acadêmica.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pela família e pelos amigos que conquistei nesta trajetória, pois este conjunto proporcionou trilhar um caminho com amor, companheirismo e muitas alegrias.

Aos meus pais Maria do Carmo Geffer Mussak e Nicolau Mussak, que me educaram e me orientaram para um caminho correto, e mesmo estando longe sempre participaram das minhas decisões e apoiaram minhas escolhas.

Aos meus irmãos que tenho como um tesouro em minha vida, em especial ao meu irmão Silvionei Mussak, que além de encher meus dias de alegria com seu sorriso e seus conselhos, me cobria nas tarefas domésticas para que eu me dedicasse ao trabalho e aos estudos.

A minha segunda família Jucenei D. Pereira, Simone da Silva Pereira, Jaqueline e Júlia Beatriz que me cuidam, amam, e participam da minha vida com muito carinho.

Ao meu orientador Cláudio Ricken, que me ajudou na escolha do projeto e me acompanhou durante todo o trabalho, se mostrando presente e companheiro, sem dúvidas um dos melhores orientadores que eu poderia ter.

Aos componentes da banca professor Marcos Back, que sempre se mostrou atencioso e sorridente durante as aulas e conversas. Ao professor Jairo José Zocche que compartilhou seus amplos conhecimentos se mostrando preocupado com nosso futuro profissional. Por ambos aceitarem participar da finalização de mais uma etapa da minha vida.

A todos os professores do curso de Ciências Biológicas que compartilharam seus conhecimentos durante a graduação, entre eles os mais especiais. Birgit Harter – Marques, Mainara Figueiredo, Tiago Moretti, Marcos Back, Cláudio Ricken e Jairo José Zocche.

Ao meu amigo e colega Samuel Galvão Elias, que se mostrou disponível sempre que preciso, tanto para ajudas em trabalhos da faculdade, quanto para conversas durante o jantar no trabalho.

A um amigo especial Saimon de Souza que se tornou um irmão durante os anos de graduação, pela compreensão, pelas ajudas com meu trabalho, e principalmente pelo amor.

E finalmente, as minhas amigas e colegas que de tudo o que conquistei, considero um dos maiores tesouros, Andressa, Marina, Fran, Bobby, Altamir. Amo vocês.

**"Sonhos determinam o que você quer. Ação  
determina o que você conquista."**

**Aldo Novak**

## RESUMO

A atividade mineradora de carvão ocasionou alterações no ar, na água e no solo, disponibilizando elementos tóxicos, principalmente por meio da solubilização de sais de metais pesados. A introdução de substâncias tóxicas no solo pode provocar alterações do mesmo, uma vez que os organismos ali presentes possuem íntima, obrigatória e recíproca relação com suas partículas. Como forma de verificar como os efeitos das variáveis ambientais são capazes de afetar a toxicidade das substâncias aos componentes vivos de um ecossistema, utiliza-se análises ecotoxicológicas com organismos bioindicadores. Tais ensaios podem indicar uma resposta mais precisa da toxicidade dos contaminantes presentes nas amostras para os organismos vivos. O presente trabalho teve como objetivo estudar o potencial de toxicidade dos solos contaminados por cinzas de carvão mineral oriundas de fornos termoelétricos, utilizando *Eisenia foetida* (minhoca-vermelha-da-califórnia) como bioindicador. As amostras de cinzas foram coletadas em uma antiga área de deposição de rejeitos de carvão, localizada no município de Capivari de Baixo, Santa Catarina. Foram realizadas amostragens compostas em quatro regiões (R1, R2, R3 e R4). Foi realizado o teste de fuga com as amostras proveniente da área contaminada e solo artificial, e exposição direta nas amostras com umidade devidamente ajustada para avaliar a taxa de letalidade e crescimento de *Eisenia foetida*. Foi observado o comportamento de fuga para o solo controle e também que a contaminação por cinzas possui efeito na sobrevivência destes organismos, de forma diretamente proporcional ao grau de contaminação. Também foi percebida que apesar de que em algumas concentrações não ter havido mortalidade, os contaminantes causaram a perda de peso dos indivíduos, caracterizando um efeito crônico mensurável. Tais efeitos podem estar relacionados ao estresse dos organismos frente a fatores como baixo pH e altos teores de sais de metais pesados.

**Palavras-chave:** Cinzas de carvão, ecotoxicologia, toxicidade de solos.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização da área conhecida como Estiva dos Pregos, localizada no município de Capivari de Baixo, estado de Santa Catarina.....	13
Figura 2: Área degradada delimitada pelo polígono em vermelho e sua área de influência delimitada pelo polígono em amarelo, formando o banhado da Estiva dos Pregos, localizado no município de Capivari de Baixo, SC. ....	16
Figura 3- Mapa de coleta composta das regiões de amostragem no Banhado da Estiva dos Pregos .....	17
Figura 4- Aspecto físico da amostra proveniente da Região 1 (R1).....	18
Figura 5- Aspecto físico da amostra proveniente da Região 2 (R2).....	18
Figura 6- Aspecto físico da amostra proveniente a Região 3 (R3).....	19
Figura 7- Aspecto físico da amostra proveniente a Região 4 (R4).....	20
Figura 8- Minhoca <i>Eisenia foetida</i> .....	20
Figura 9- Disposição das amostras em triplicata para o teste de fuga (evitamento) .....	22
Figura 10- Parâmetros químicos em desacordo com os limites máximos estabelecidos pela norma ABNT NBR 10006:2004 das quatro regiões de estudo, localizadas no banhado da Estiva dos Pregos.....	25
Figura 11- Percentual de fuga (evitamento) de <i>Eisenia foetida</i> expostas as amostras R1, R2, R3 e R4 procedentes do Banhado da Estiva .....	26
Figura 12- Percentual de letalidade de <i>Eisenia foetida</i> expostas ao solo artificial (controle) e as amostras R1, R2, R3 e R4 procedentes do Banhado da Estiva .....	28
Figura 13- Percentual de perda de peso expresso em média $\pm$ desvio padrão em <i>Eisenia foetida</i> expostas ao solo artificial (controle) e as amostras R1, R2, R3 e R4 procedentes do Banhado da Estiva .....	29

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
3.1 LOCALIZAÇÃO DA REGIÃO DE ESTUDO.....	13
3.2 DESCRIÇÃO DA REGIÃO DE ESTUDO.....	13
<b>3.2.1 Clima.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2.2 Solos.....</b>	<b>14</b>
3.3 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO .....	14
3.4 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	16
3.5 DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE TESTE .....	20
<b>4 ANÁLISES EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>21</b>
4.1 TESTE DE TOXICIDADE .....	21
<b>4.1.1 Teste de fuga ou análise de comportamento .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1.2 Teste de Letalidade e crescimento .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1.3 Teste de sobrevivência .....</b>	<b>23</b>
<b>4.1.4 Tratamento estatístico .....</b>	<b>23</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>24</b>
5.1 DADOS FÍSICO - QUÍMICOS DAS AMOSTRAS R1, R2, R3 E R4.....	24
5.2 TESTE DE FUGA OU ANÁLISE DE COMPORTAMENTO .....	26
5.3 TESTE DE LETALIDADE E CRESCIMENTO .....	27
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa uma posição mundial dominante como detentor de grandes reservas mundiais, para uma diversificada gama de minerais metálicos e não-metálicos, colocando-se seguramente entre os seis mais importantes países mineradores do mundo. Um dos maiores problemas na atividade de mineração está em sua relação com o meio ambiente, aspecto que em parte se deve a interferência direta sobre os sistemas e recursos naturais (BARRETO, 2001).

Sendo uma das atividades econômicas mais impactantes no sul do estado de Santa Catarina, a atividade mineradora de carvão ocasionou alterações no ar, na água e no solo, disponibilizando elementos tóxicos, principalmente sais de metais pesados (COSTA, 2010). A introdução de substâncias tóxicas no solo pode provocar alterações do mesmo, uma vez que os organismos ali presentes possuem íntima, obrigatória e recíproca relação com suas partículas (LIMA, 2010).

A interação dos contaminantes do solo com os organismos de um ambiente é um ponto importante a se destacar, pois os contaminantes entram em contato com os organismos edáficos, com os quais interagem direta ou indiretamente. Esses organismos têm, principalmente, três vias de exposição aos contaminantes: a ingestão de alimentos ou água contaminada, a inalação e o contato desses produtos com a pele ou exoesqueleto (LIMA, 2010).

Como forma de verificar como os efeitos das variáveis ambientais são capazes de afetar a toxicidade das substâncias aos componentes vivos de um ecossistema, tem-se sugerido o uso de análises ecotoxicológicas. Tais ensaios podem indicar uma resposta mais precisa da toxicidade dos contaminantes presentes nas amostras para os organismos vivos; o que apenas a análise química de cada composto, separadamente, não é capaz de avaliar (SISSINO et al 2006).

Lima (2010) considera que os testes de toxicidade devem ser uma análise indispensável para a avaliação ambiental, pois tem a capacidade de detectar os efeitos de poluentes sobre a biota, ao tempo que as análises químicas somente identificam e quantificam os possíveis agentes tóxicos.

Por fornecerem medidas diretas da biodisponibilidade dos poluentes ou agentes tóxicos, os testes de toxicidade podem ajudar a estabelecer as ligações entre os índices de contaminação local e os efeitos ecológicos resultantes. Sendo capazes de avaliar exposições,

agudas, sub-crônicas e crônicas e medir os efeitos biológicos resultantes dessas exposições tais como, mortalidade, desempenho reprodutivo, crescimento e mudanças comportamentais (ANDREA, 2010).

A Resolução CONAMA nº 357 define efeito tóxico agudo como efeito deletério aos organismos vivos causados por agentes físicos ou químicos, usualmente letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede, em um curto período de exposição, em geral 24 ou 48 horas. Já o efeito crônico é definido como aquele causado por agentes físicos ou químicos que afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos, tais como a reprodução, o crescimento e o comportamento, em um período de exposição que pode abranger a totalidade de seu ciclo de vida ou parte dele (CONAMA, 2005).

Por sua grande importância no solo, sua ampla distribuição e por todas as razões previamente citadas, as minhocas, principalmente as espécies *Eisenia foetida* (Savigny, 1826) e *E. andrei*, foram escolhidas para diversos testes de toxicidade para fins de registro de agrotóxicos junto aos órgãos regulamentadores de diversos países, inclusive do Brasil (ANDREA, 2010).

A espécie *Eisenia foetida* (Savigny, 1826), foi adotada pela OECD (Organização Européia de Cooperação e Desenvolvimento Econômico), da EPA (Agência Americana de Proteção do Ambiente) e da ISO (Organização Internacional para Padronização) entre outros, para os testes de toxicidade aguda desde, respectivamente 1984, 1991 e 1993, e posteriormente para os testes de reprodução e rejeição ou evitamento de agrotóxicos. No Brasil, o IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Desenvolvimento dos Recursos Naturais Renováveis) solicita apenas o teste de toxicidade aguda (ABNT, 2007) e aceita resultados obtidos por meio das metodologias dos testes das organizações internacionais (ANDREA, 2010).

Segundo Andréa (2010) a relativa facilidade de criação das *Eisenia*; as condições destes testes são internacionalmente aceitas; permitem padronização de estudos e comparações internacionais; fornecem estimativas sobre toxicidade relativa para espécies semelhantes e permitem avaliações preliminares em relação a intervalo de doses do poluente sob estudo.

O teste de toxicidade aguda, realizado em laboratório consiste na exposição à concentrações conhecidas de um agente tóxico específico ou efluente, da espécie-teste durante um curto período de tempo, geralmente num período de 24 a 96 horas. A vantagem do teste agudo refere-se à obtenção de resultados rápidos e reprodutíveis em curvas de concentração

resposta, facilitando a visualização, identificação e estimativa dos efeitos de substâncias químicas na população em estudo (MATIAS, 1996 apud COSTA, 2010).

A ausência de efeito agudo não caracteriza necessariamente a ausência de efeito sobre a biota. Segundo Terra e Feiden (2003) a expressão de muitos agressores ambientais somente torna-se visível quando estão presentes em altas doses. Entretanto, quando eles existem em quantidades menores seus efeitos na bagagem genética dos indivíduos podem interferir em suas funções fisiológicas, alterando a frequência reprodutiva e/ou a qualidade e quantidade de organismos gerados (BRENTANO, 2006).

Por sua vez, os testes crônicos permitem avaliar os possíveis efeitos adversos de uma amostra sob condições de longo tempo de exposição a concentrações subletais (RAND, 1995 apud COSTA, 2010). O teste crônico expõe o organismo-teste ao agente potencialmente tóxico durante todo ou parte de seu ciclo de vida, incluindo estágios sensíveis como juventude, crescimento, maturidade sexual e reprodução (COSTA, 2010).

A área de estudo banhado da Estiva dos Pregos, município de Capivari de Baixo, SC, é um antigo depósito de rejeitos piritosos de carvão e cinzas provenientes da atividade de uma estação geradora termelétrica. Parte dessa área também foi impactada pela pluma de contaminação decorrente do rompimento do dique de um depósito de cinzas provenientes da mesma termoelétrica (IPAT/UNESC, 2012 a).

Entendemos que a realização de análises toxicológicas utilizando animais provenientes da biota dos solos é uma forma de contribuir para o diagnóstico ambiental de áreas degradadas. Como forma de acrescer o entendimento a respeito do grau de toxicidade em relação ao teor de poluentes na contaminação por rejeitos. Apresentamos testes que relatam os efeitos agudos e crônicos sobre *Eisenia foetida* expostas a solos provenientes diferentes áreas do banhado da Estiva dos Pregos, Capivari de Baixo, estado de Santa Catarina.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o potencial de toxicidade dos solos contaminados por cinzas de carvão mineral oriundas de fornos termoelétricos, utilizando *Eisenia foetida* (minhoca-vermelha-da-califórnia) como bioindicador.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

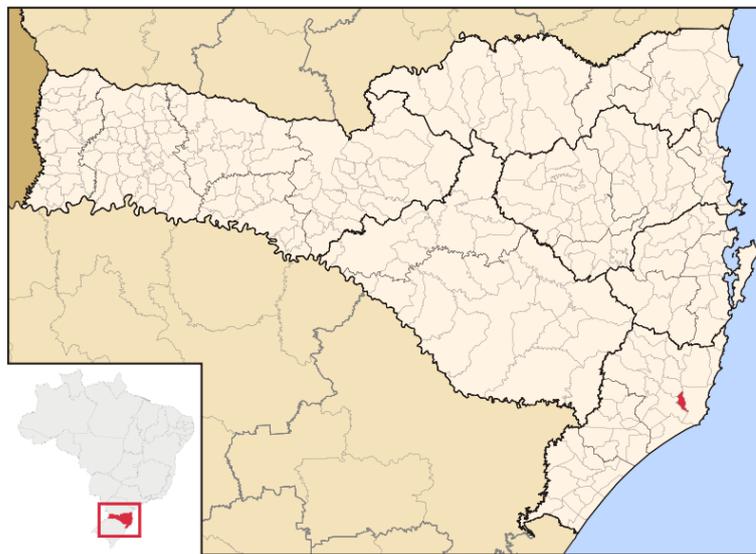
- Avaliar o percentual de evitamento (fuga) aos solos pelos indivíduos expostos.
- Determinar a letalidade crônica em *Eisenia foetida* expostas a solos contaminados por cinzas de fornos termoelétricos.
- Avaliar a taxa de crescimento de *Eisenia foetida* expostas a solos contaminados por cinzas de fornos termoelétricos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 LOCALIZAÇÃO DA REGIÃO DE ESTUDO

A área de estudo está localizada no banhado da Estiva dos Pregos, no município de Capivari de Baixo, Santa Catarina, onde faz divisa com o município de Laguna (figura 01).

Figura 1: Localização da área conhecida como Estiva dos Pregos, localizada no município de Capivari de Baixo, estado de Santa Catarina.



Fonte: GOOGLE, 2012.

#### 3.2 DESCRIÇÃO DA REGIÃO DE ESTUDO

##### 3.2.1 Clima

A área de Capivari de Baixo de acordo com a Epagri, (2001) está inserida em clima Cfa, segundo a classificação climática de Köppen (1948), ou seja, clima subtropical úmido, sem estação seca, com verão quente. A temperatura anual média é de 19,0 a 19,5 °C, as máximas de 26,1 a 26,5°C e as mínimas de 15,1 a 16,0 °C. A precipitação pluviométrica total anual varia, em termos normais, de 1.270 a 1.600mm, contabilizando entre 140 e 158 dias anuais de chuva, constituindo-se numa das zonas mais secas do Estado. A média anual da umidade relativa do ar varia de 81,7 a 82,4%.

### 3.2.2 Solos

A região de Capivari de Baixo de acordo com dados fornecidos pela Epagri (2001) tem os solos constituídos de 33% de Argissolos e Alissolos, 13 % de Cambissolos, 22% de Gleissolos correlacionados pelo Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 1999). Os Argissolos compreendem solos constituídos por material mineral, que tem como características diferenciais, argila de atividade baixa e horizonte B textural, imediatamente abaixo de qualquer horizonte superficial, exceto o hístico. Os Alissolos são solos minerais com características diferenciais, argila de atividade  $\geq 20$  cmol<sub>c</sub>, baixa saturação por bases, alto conteúdo de alumínio extraível ( $Al^{+3} \geq 4$  cmol<sub>c</sub>/Kg de solo), conjugado com saturação por alumínio  $\geq 50\%$  ou saturação por bases  $< 50\%$ . (EPAGRI, 2001).

Os Cambissolos são solos constituídos por material mineral que apresentam horizonte A ou horizonte hístico com espessura inferior a 40 cm seguido de horizonte B. Estes solos ocorrem desde relevos planos à relevos montanhosos, apesar de predominarem em ambientes com relevo forte ondulado, ondulado e suave ondulado. (EPAGRI, 2001).

Os Gleissolos são constituídos por material mineral com horizonte glei imediatamente abaixo do horizonte A, ou horizonte hístico com espessura menor que 40 cm; ou horizonte glei começando dentro de 50% da superfície do solo. Em condições naturais estes solos apresentam condições mínimas de utilização, pela deficiência química, teores elevados de Alumínio trocável e principalmente pelas restrições impostas pelo excesso de água no solo, impedindo ou limitando o uso de máquinas e implementos agrícolas (EPAGRI, 2001).

### 3.3 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO

A usina de beneficiamento Lavador de Capivari LAVACAP entrou em operação em 1945, quando começou a deposição de rejeitos de forma inadequada na área, fazendo com que a pirita ficasse em contato com o ar e com a água, gerando drenagem ácida de mina (ZANETTE, 2006). No local era efetuada a separação do carvão metalúrgico, que seria destinado às siderúrgicas, e do carvão energético, utilizado nas termelétricas. Um dos rejeitos do processo de separação constituía-se em finos de carvão, fração do material cujo transporte

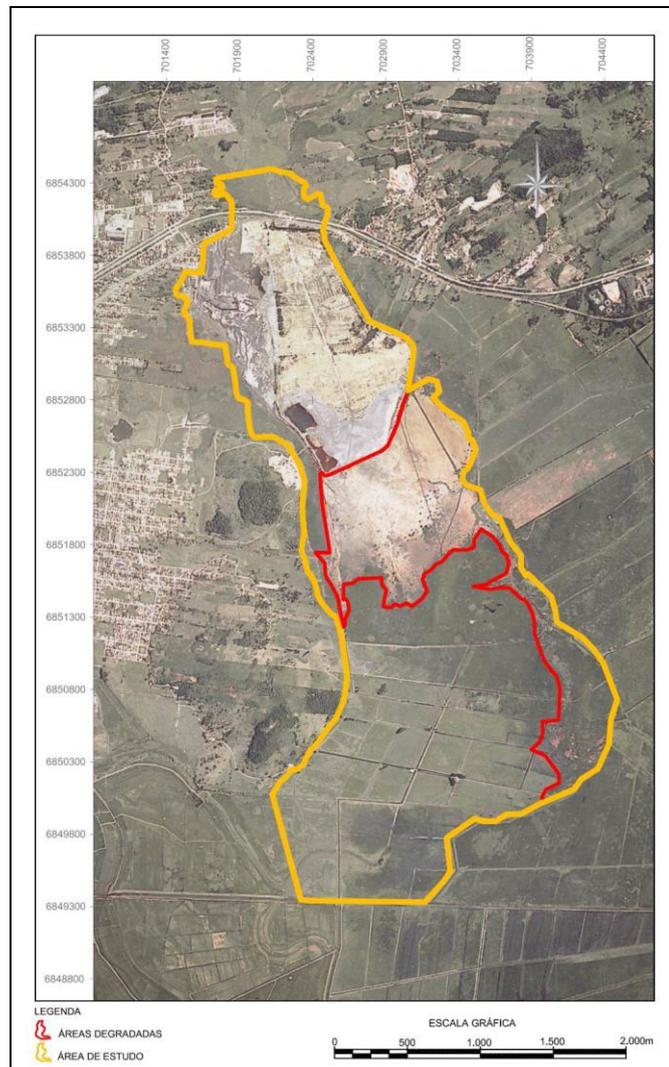
era inviável por ser formado por partículas muito finas. O acúmulo dos finos formou um depósito com cerca de 1 milhão de toneladas, em uma área de 60 hectares conhecida como Depósito de Finos do Lavacap (AMBIENTAL, 2009).

A deposição de rejeitos finos de carvão mineral na localidade de Estiva dos Pregos foi realizada na década de 1980. Como matéria prima, foram utilizados os rejeitos provenientes do (LAVACAP) gerados na década de 60 e estocados no banhado da Estiva dos Pregos (MATTIA, 2012).

A área impactada, com coordenadas 703.150 metros leste e 6.852.070 metros norte (Coordenadas UTM – SAD 069), compreende cerca de 160 ha (em vermelho) e tem uma área de influência de 685 ha (em amarelo), conforme mostra a figura 02 (IPAT/UNESC, 2012 a).

Estiva dos Pregos está localizada a menos de dez quilômetros do Lavacap, o local denominado Estiva dos Pregos também recebeu a deposição de rejeitos do carvão. No início da década de 1950, cerca de 150 hectares receberam o depósito de rejeitos piritoso. A área também era propriedade do LAVACAP (AMBIENTAL 2009).

Figura 2: Área degradada delimitada pelo polígono em vermelho e sua área de influência delimitada pelo polígono em amarelo, formando o banhado da Estiva dos Pregos, localizado no município de Capivari de Baixo, SC.



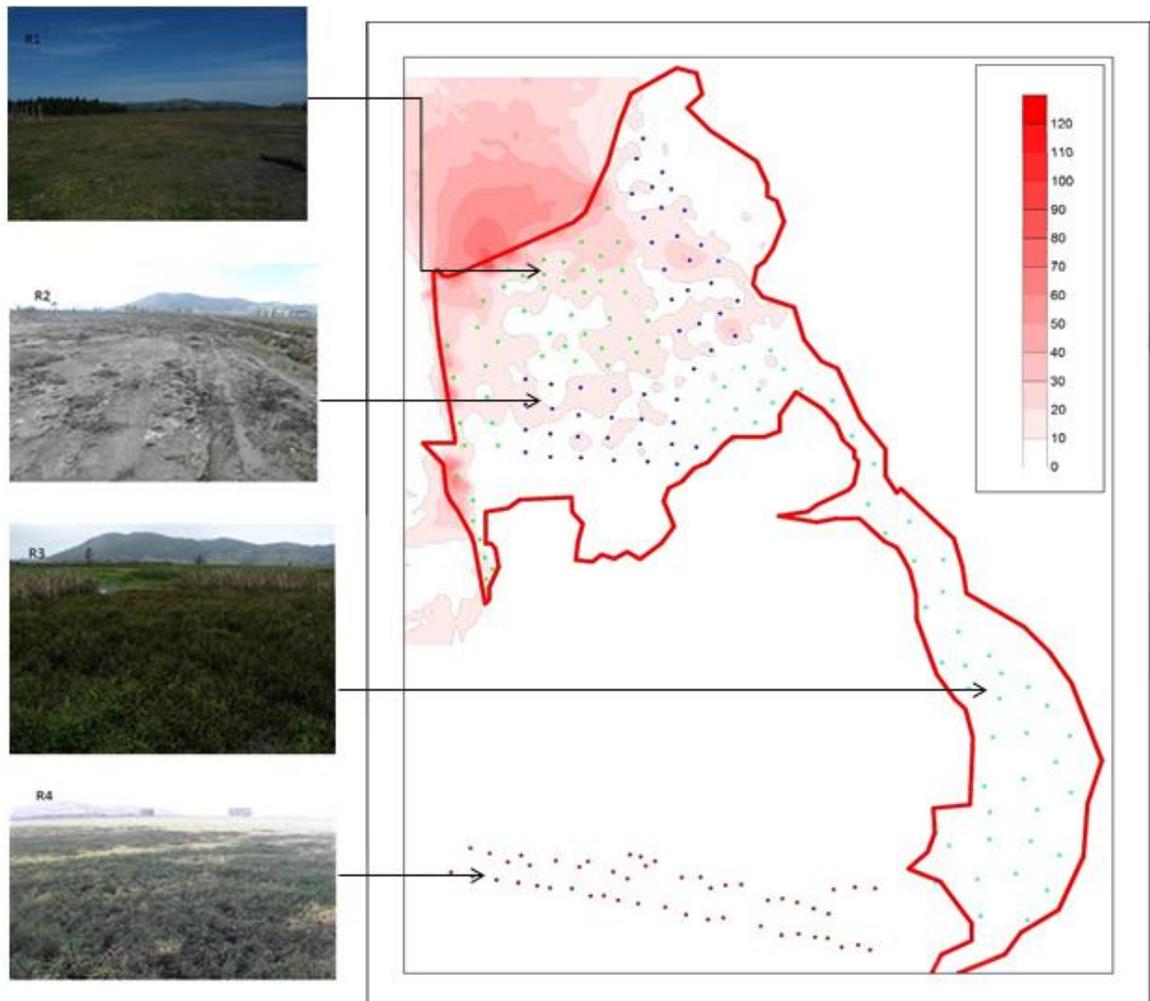
Fonte: IPAT/UNESC, (2012 a).

### 3.4 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

A coleta das amostras foi realizada na área de Estiva dos Pregos, município de Capivari de Baixo, Santa Catarina, em quatro regiões por meio de amostragem composta, na qual foram coletadas em 10 pontos aleatórios de cada região. As amostras utilizadas nesta pesquisa foram coletadas anteriormente por Isoppo (2012) para o teste subagudo com bulbos de cebola da espécie *Allium cepa*, teste agudo com sementes de alface da espécie *Lactuca*

*sativa e teste agudo com minhocas da espécie Eisenia foetida. As amostras foram preservadas sob refrigeração. As mesmas amostras foram utilizadas para a realização do presente estudo.*

Figura 3- Mapa de coleta composta das regiões de amostragem no Banhado da Estiva dos Pregos



Fonte: IPAT/UNESC, (2012 a).

A região (R1 - pontos verdes) é a mais crítica, onde os finos de carvão e as cinzas estão mais concentrados. De acordo com análise do resíduo feito por IPAT/ UNESC (2012 b) se trata de um lodo marrom escuro pastoso, sem odor, não corrosivo, não reativo, não tóxico, caracterizado como não perigoso no ensaio de lixiviação, a umidade a 105°C (%): 48,36 e densidade (g/cm<sup>3</sup>): 1,34. O resíduo é caracterizado como não inerte, sendo classificado como **Classe II A – Não Inerte** (figura 04).

Figura 4- Aspecto físico da amostra proveniente da Região 1 (R1)



Fonte: IPAT/UNESC (2012 b).

A região 2 (R2 – pontos azuis escuros) foi caracterizada pela presença de finos e cinzas, porém não em grande quantidade. De acordo com análise do resíduo feito por IPAT (2012 c), se trata de um lodo marrom escuro pastoso, não corrosivo, não reativo, não tóxico, caracterizado como não perigoso no ensaio de lixiviação, com umidade a 105°C (%): 62,99 e densidade (g/cm<sup>3</sup>): 1,16. O resíduo é caracterizado como não inerte, sendo classificado como **Classe II A – Não Inerte** (figura 05).

Figura 5- Aspecto físico da amostra proveniente da Região 2 (R2)



Fonte: IPAT/UNESC (2012 c).

A Região 3 (R3 - pontos azuis claros), finos e cinzas em menor quantidade que o R2 situada em uma grande faixa de banhado. De acordo com análise do resíduo feito por IPAT (2012 d) se trata de um lodo marrom escuro pastoso, não corrosivo, não reativo, não tóxico, caracterizado como não perigoso no ensaio de lixiviação, umidade a 105°C (%): 77,06 e densidade (g/cm<sup>3</sup>): 1,09. O resíduo é caracterizado como não inerte, sendo classificado como **Classe II A – Não Inerte** (figura 06).

Figura 6- Aspecto físico da amostra proveniente a Região 3 (R3)



Fonte: IPAT/UNESC (2012 d).

Na região 4 (R4 – pontos vermelhos) não há presença de finos e cinzas, e foi utilizada como um controle para as amostras contaminadas, que posteriormente foram também comparadas ao solo artificial (controle negativo) para as quatro amostras dos diferentes locais coletados. De acordo com análise do resíduo feito por IPAT (2012 e) se trata de um solo sólido, preto, não corrosivo, não reativo, não tóxico, caracterizado como não perigoso no ensaio de lixiviação, umidade a 105°C (%): 70,76 e densidade (g/cm<sup>3</sup>): 0,30. O resíduo é caracterizado como não inerte, sendo classificado como **Classe II A – Não Inerte** (figura 07).

Figura 7- Aspecto físico da amostra proveniente a Região 4 (R4)



Fonte: IPAT/UNESC (2012 e).

### 3.5 DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE TESTE

A oligoqueta *Eisenia foetida* (Savigny, 1826), conhecida como minhoca-vermelha-californiana pertencente à Família Lumbricidae. Possui o corpo cilíndrico medindo de 35 a 130 mm de comprimento e de 3 a 5 mm de diâmetro e pode apresentar as seguintes colorações: roxo, vermelho, vermelho escuro e marrom-avermelhado. Há indivíduos cujo corpo é unicolor, e indivíduos cujas cores são intercaladas entre o marrom-avermelhado na região dorsal e um tom de amarelo nas áreas apigmentadas entre os segmentos. A coloração vermelha é restrita apenas à região dorsal (COSTA, 2010).

Figura 8- Minhoca *Eisenia foetida*



Fonte: SYDNEY ENVIRONMENTAL & SOIL LABORATORY, 2007

## 4 ANÁLISES EXPERIMENTAIS

### 4.1 TESTE DE TOXICIDADE

Os ensaios de toxicidade com *Eisenia foetida* foram realizados de acordo com a ISO 11268-2 de 1998 com o solo artificial composto por 70% de areia lavada, 20% de caulim e 10% de musgo *Sphagnum* moído e seco, para ser utilizado como controle negativo.

As amostras a serem analisadas foram distribuídas separadamente em bandejas com capacidade de 3 kg e levadas à estufa com circulação de ar na temperatura de 50 C° durante três dias, para a defaunação das mesmas. Após este período as amostras foram distribuídas em bandejas menores. Para garantir à sobrevivência dos organismos a umidade foi ajustada conforme necessidade de cada amostra, pois as mesmas possuem diferentes características e densidades, a umidade foi ajustada para aproximadamente 60 %, conforme exigências das condições para o ensaio (SISINNO,2006).

Após a preparação do solo cada amostra foi dividida em triplicata, e acondicionada em recipientes de plástico preenchidos com cerca de 600 gramas de amostra. As minhocas utilizadas foram indivíduos adultos e com clitelo desenvolvido.

Antes da realização do teste crônico, as minhocas foram depositadas sobre um papel filtro umedecidas com água destilada por 24 horas, para fazer o purgamento do conteúdo intestinal, logo após foram previamente pesadas e acondicionadas nos recipientes onde permaneceram em estufa incubadora por um período de 30 dias. Durante este período de incubação, foram verificadas a pesagem e a contagem dos indivíduos (ISO, 1998).

#### 4.1.1 Teste de fuga ou análise de comportamento

O teste de comportamento ou fuga foi realizado conforme o procedimento proposto por ISO (2002). O principal objetivo deste teste é expor as minhocas simultaneamente a uma amostra de solo teste e um solo controle, avaliando assim o comportamento de fuga das minhocas. Para tal, são utilizadas amostras de solos contaminados e de solos controles (solo artificial) não contaminados. Quando menos de 20% de indivíduos são encontrados no solo-teste, considera-se que o solo tem “função de habitat limitada”.

O solo contaminado e o solo-controle foram dispostos em um único recipiente separado em duas seções com o auxílio de uma placa divisora, em cada amostra (R1, R2, R3 e R4) foram feitas três réplicas. Depois que as amostras foram acondicionadas no recipiente, o divisor foi retirado formando uma linha onde foram colocadas as 10 minhocas adultas. O teste foi mantido em incubadora com temperatura controlada de 22 °C por um período de 24 horas. Após término do ensaio, foi verificada a percentagem de minhocas presentes no solo-teste e no solo-controle. A figura 09 mostra a disposição das amostras para o teste de fuga (ISO, 2002).

Figura 9- Disposição das amostras em triplicata para o teste de fuga (evitamento)



Fonte: AUTOR,2014

#### 4.1.2 Teste de Letalidade e crescimento

O método é baseado na contagem da mortalidade de minhocas em solos com diferentes graus de contaminação (ISO, 1998). O teste foi realizado em recipientes de plásticos previamente identificados e com tampa perfurada. Para cada réplica foram utilizados 600 gramas de solo a ser analisado, com umidade ajustada conforme a proporcionar um ambiente propício para a sobrevivência dos indivíduos (SISINNO, 2006). As amostras foram feitas em triplicata e para cada réplica foram adicionadas 10 minhocas adultas com clitelo desenvolvido, foram anotados os pesos médios antes e no fim do ensaio. Os recipientes com o teste foram acondicionados em incubadora com temperatura 22°C até o final do experimento, sem adição de alimentação. Foram feitos acompanhamentos semanais para análise de umidade das amostras e quando necessária adicionado água destilada para controlar a mesma.

Ao fim do teste (30 dias) os organismos sobreviventes foram retirados dos recipientes, contabilizados e pesados. O percentual de mortalidade e o peso obtido foram comparados com o controle. A perda de peso dos oligoquetos sobreviventes foi avaliada considerando o peso individual médio de cada organismo, pesados antes e depois do ensaio (ISO, 1998).

#### **4.1.3 Teste de sobrevivência**

Este teste foi realizado somente na amostra R1, onde os indivíduos não sobreviveram os 30 dias de ensaio, com o objetivo de determinar a relação de tempo e percentual de mortalidade da *Eisenia foetida*. Os indivíduos foram expostos ao solo contaminado e observados após uma hora de exposição. Após este período constatou-se a mortalidade total das minhocas. O experimento foi repetido e observado minuto a minuto onde constatou-se a mortalidade total após 30 minutos de exposição.

#### **4.1.4 Tratamento estatístico**

Os cálculos estatísticos foram realizados com o software Past® (HAMMER et al., 2001). Com base no número de indivíduos localizados no solo controle em relação ao número total de indivíduos submetidos ao teste (10 em cada amostra) foi calculado o percentual médio de fugas. Com base no número de indivíduos mortos em relação ao número total de indivíduos submetidos ao teste (10 em cada amostra) foi calculado o percentual médio de letalidade para cada amostra. A razão entre o peso final e o peso inicial das minhocas (10 em cada amostra) foi determinada o percentual médio de perda de peso. A comparação entre os percentuais médios de perda de peso das minhocas das diferentes amostras foi realizada por meio do teste  $\chi^2$ . Para elaboração dos gráficos e tabelas foram utilizados o programa Microsoft Excel® 2012 e Prisma® 2007.

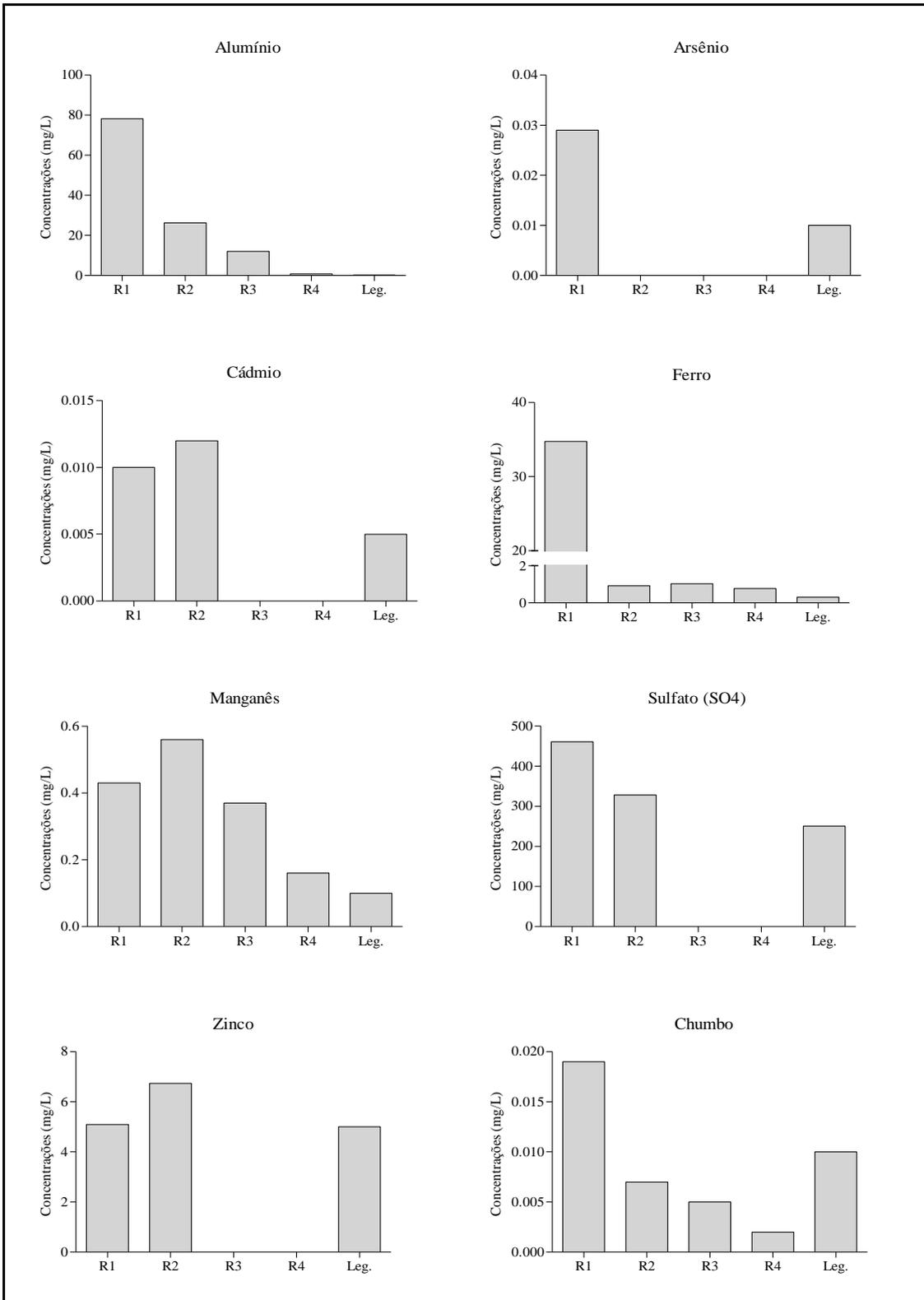
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 DADOS FISICO - QUÍMICOS DAS AMOSTRAS R1, R2, R3 E R4

A figura 10 apresenta os resultados das análises físico-químicas provenientes dos solos das quatro áreas do Banhado da Estiva dos Pregos. Os resultados foram obtidos a partir de ensaios de solubilização, seguindo ABNT NBR 10004:2004 (IPAT/UNESC, 2012 a). De acordo com a figura 10, os parâmetros de alumínio, arsênio, cádmio, chumbo, ferro, manganês, sulfatos ( $\text{SO}^{4-}$ ) e zinco apresentaram valores acima do permitido pela legislação.

Apresentando, em quase todos os parâmetros, um gradiente negativo de concentrações a partir da amostra R1, com exceção de manganês e zinco na amostra R2 e fenóis na amostra R3. Alumínio, ferro e manganês apresentaram valores acima dos limites estabelecidos pela legislação (ABNT NBR 10004:2004) em R1, R2, R3 e R4. Cádmio, sulfatos e zinco em R1 e R2. Arsênio e chumbo somente na amostra R1.

Figura 10- Parâmetros químicos em desacordo com os limites máximos estabelecidos pela norma ABNT NBR 10006:2004 das quatro regiões de estudo, localizadas no banhado da Estiva dos Pregos.

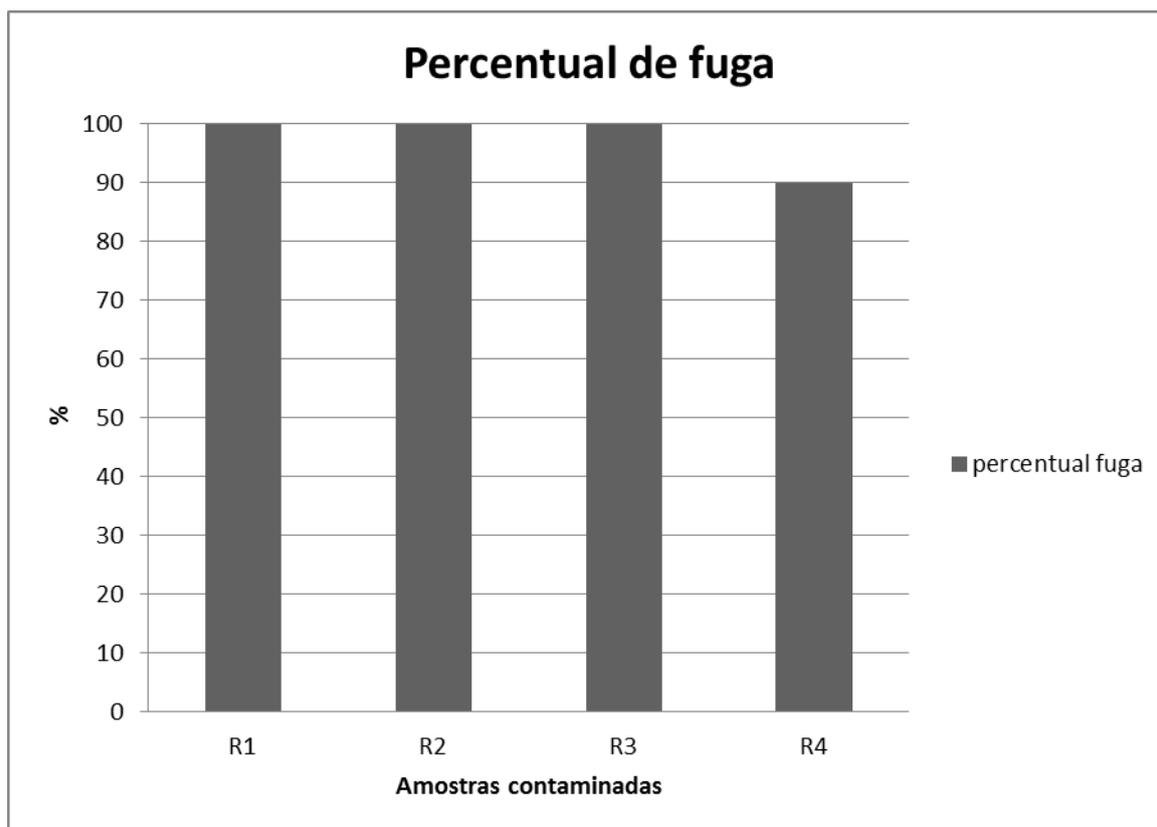


Fonte: AUTOR, 2014.

## 5.2 TESTE DE FUGA OU ANÁLISE DE COMPORTAMENTO

Foi observado nas amostras R1, R2 e R3 a presença de 100% dos organismos vivos na seção que continha o solo artificial, enquanto que na amostra R4 foram encontrados 90% dos indivíduos vivos em solo artificial (Figura 11).

Figura 11- Percentual de fuga (evitamento) de *Eisenia foetida* expostas as amostras R1, R2, R3 e R4 procedentes do Banhado da Estiva



Fonte: AUTOR, 2014

Ainda que nas amostras R1, R2, R3 e R4 tenham sido registrado o comportamento de fuga em direção ao solo controle. Demonstrando que todas as amostras apresentam função de habitat limitada, consideramos que a diferença de percentual, ainda que não significativa, da amostra R4 pode se dever ao fato da mesma não ser diretamente contaminada por cinzas.

No caso da amostra R4, esta limitação pode ser explicada pela ausência de nutrientes na amostra quando comparada ao solo artificial, que possui 10% de *Sphagnum* na mistura. A porosidade das amostras também pode ser um fator limitante, as amostras são compostas por cinzas que estão presentes em maior quantidade na R1 diminuindo consecutivamente até a R4. Segundo Lourenço (2010) o substrato que apresenta elevada

densidade e compactação, possui um baixo teor de oxigênio e as diferenças de texturas entre as amostras afetam a porosidade dos substratos.

O pH ideal para a sobrevivência das minhocas está entre 5 e 6 e é um fator influente na limitação de habitat para estes organismos (LOURENÇO, 2010). Dessa forma podemos justificar o comportamento de fuga para o solos artificiais, uma vez que o solo artificial possui pH corrigido para aproximadamente 6.

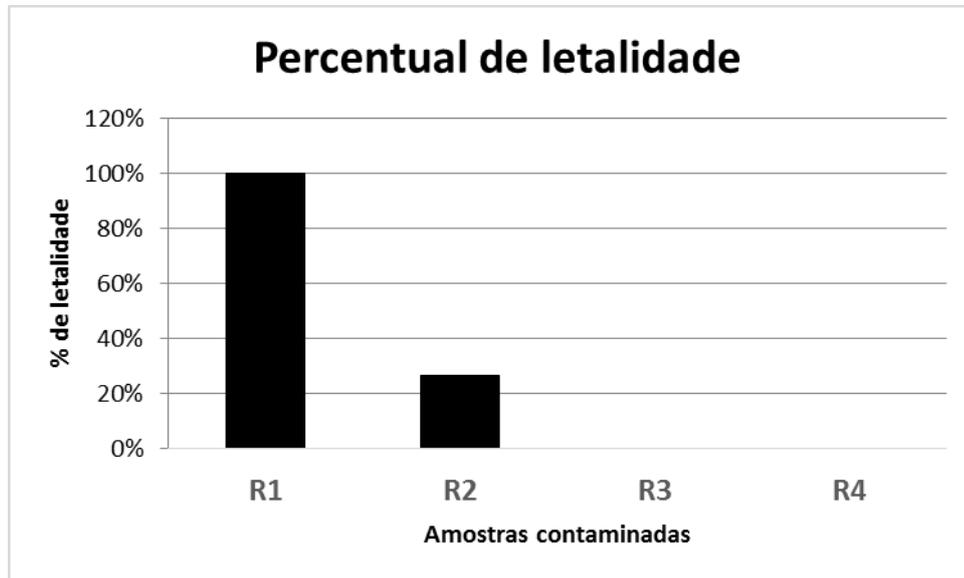
As minhocas são capazes de detectar e evitar os solos com metal contaminado (LUKKARI, 2004). A alta sensibilidade do comportamento de evitação em minhocas também foi encontrado em estudos anteriores com certos xenobióticos (YEARDLEY et al. 1996, HUND-RINKE & WIECHERING 2001 HUND-RINKE et al. 2003, SCHAEFER, 2003 apud LUKKARI, 2004).

Conhecimentos gerais sobre as características das minhocas, como estrutura e permeabilidade da pele, as características específicas de quimiorreceptores, requisitos de oligoelementos e eficiências de desintoxicação, são tão restritos que as suas conseqüências para o comportamento de minhocas não podem ser avaliadas de forma confiável e quantificável. De qualquer forma, diversos fatores potencialmente afetam o comportamento de evitação de minhocas, e uma variação interespecífica nas respostas também pode ser esperada. O comportamento de evitação pode ser de importância crucial para as populações de espécies e contribui significativamente para a sua sobrevivência em campo. Quando minhocas evitam o solo contaminado, pode haver potenciais implicações ecológicas, mesmo sem quaisquer alterações mensuráveis na fisiologia das minhocas testadas (LUKKARI, 2004).

### 5.3 TESTE DE LETALIDADE E CRESCIMENTO

No ensaio de letalidade e crescimento, os organismos expostos ao solo contaminado pela amostra R1 morreram no primeiro dia de exposição, na amostra R2 houve a mortalidade de 26,7 % dos indivíduos, enquanto que na R3, R4 e solo artificial 100 % dos indivíduos sobreviveram até o fim do ensaio (Figura 12).

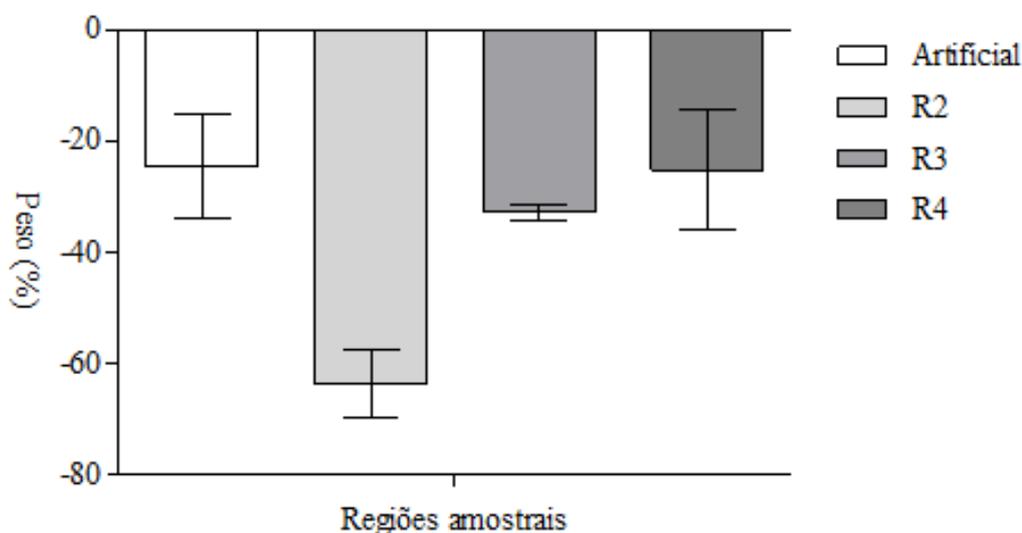
Figura 12- Percentual de letalidade de *Eisenia foetida* expostas ao solo artificial (controle) e as amostras R1, R2, R3 e R4 procedentes do Banhado da Estiva



Fonte: AUTOR, 2014

Em todos os substratos houve perda de peso dos indivíduos, porém nas amostras com maior índice de contaminação a perda de peso foi mais significativa. O solo artificial apresentou perda de peso médio nas minhocas de 24,7%, a subamostra R2 apresentou perda de peso de 63,8%, a R3 de 32,8 % e R4 de 25,3% (figura 12).

Figura 13- Percentual de perda de peso expresso em média  $\pm$  desvio padrão em *Eisenia foetida* expostas ao solo artificial (controle) e as amostras R1, R2, R3 e R4 procedentes do Banhado da Estiva



Fonte: AUTOR, 2014.

Tabela 1- Teste de Chi<sup>2</sup> da variação percentual média de peso para *Eisenia foetida* expostas ao solo artificial (controle) e as amostras R1, R2, R3 e R4 procedentes do Banhado da Estiva

Amostras	Chi <sup>2</sup> :	p(same):
Solo artificial x R2	7,9384	0,018889
Solo artificial x R3	5,5516	0,0623
Solo artificial x R4	0,72974	0,69429

Fonte: AUTOR, 2014

O teste Chi<sup>2</sup> entre a variação percentual do peso médio de *E. foetida* dos diferentes tratamentos demonstrou diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) apenas para a comparação Solo artificial x R2. Nas comparações solo artificial x R3 e Solo artificial x R4 não houve diferença estatisticamente significativa considerando um valor de  $p \leq 0,05$ .

De acordo com Yasmin e Souza (2010), em análises toxicológicas com minhocas, a mortalidade das mesmas está relacionada principalmente com as variáveis de disponibilidade de matéria orgânica, capacidade de retenção de água, capacidade de troca catiônica, pH, relação carbono/nitrogênio, teor de argila e interação com substâncias químicas.

Os resultados obtidos a partir dos testes de letalidade e crescimento, demonstram que as amostras com maior concentração de cinzas apresentam maior concentração de metais

pesados e íons (figura 10) diminuindo gradativamente da R1 (mais contaminada por cinzas) para R4 (sem contaminação por cinzas), o valor de pH aumentou com a diminuição desta contaminação.

O excesso de alumínio nas amostras mais contaminadas tem relação com o pH ácido das mesmas. Em pH baixo, o hidrogênio (H<sup>+</sup>) atua sobre os minerais liberando íons alumínio (Al<sup>3+</sup>) que ficam predominantemente retidos pelas cargas negativas das partículas de argila do solo, em equilíbrio com o Al<sup>3+</sup> em solução. Assim, a quantidade de Al<sup>3+</sup> em solução aumenta com a acidez do solo (BOHNEN, 1995).

O pH do solo pode afetar a sobrevivência dos organismos adultos e, assim, a produção de juvenis. Amorim, Rombke e Soares (2005) observaram baixa reprodução em minhocas em solos finos peneirados, em comparação ao solo indicando que a porosidade do solo pode influenciar a mobilidade minhoca e troca gasosa, afetando assim o seu ciclo de vida.

Nahmani, Hodson e Black (2006) relatam que o aumento da concentração de acidez do solo e de metais, reduziu a produção de casulos, e com este resultado constatou que a produção de casulos, densidade e diversidade de minhocas são maiores na faixa de pH entre 5 e 6.

Em ambientes com alta salinidade o crescimento populacional de minhocas *Eisenia foetida* decrescem e tem uma perda de massa corpórea, atestando que o excesso de sais, é um dos interferentes na perda de peso das minhocas (ROCHA et al,2007).

No presente estudo a perda de peso corporal ao longo do tempo foi observado em todos os experimentos, inclusive no solo artificial, mas estava significativamente mais pronunciado na amostra R2, Sendo a perda de peso menos pronunciada nos pontos R3 e R4. Helling, Reinecke e Reinecke (2000) citam que em estudos onde *E. foetida* é alimentado regularmente, geralmente uma vez por semana com material orgânico nenhuma perda de peso é relatada nos solos controles. Nahmani, Hodson e Black (2006) concluíram que a perda de peso corporal nos solos controles é provavelmente devido ao fato de que nenhum alimento é adicionado ao longo do experimento, e pelo carbono orgânico pouco disponível nos solos ser insuficientes para as minhocas manterem seu peso corporal inicial. Tal como o presente estudo, onde em todos os substratos inclusive os solos controles houve perda de peso dos indivíduos. No entanto, a gradativa perda de peso em relação ao grau de comprometimento ambiental de cada ponto amostral demonstra que o método possui sensibilidade necessária para o uso no monitoramento desse tipo de situação.

Spurgeon, Hopkin e Jones (1994) relatam a exposição de *Eisenia foetida* a uma série geométrica de concentrações de cádmio, cobre, chumbo e zinco em solo artificial utilizando o protocolo da OECD. Onde demonstram que o cobre causou maior mortalidade do que o chumbo e zinco em *Eisenia foetida* quando presentes na mesma concentração, os valores de cádmio não foram determinados no experimento, pois não houve mortalidade observada. Assim, a toxicidade relativa de cádmio em termos de mortalidade está em algum lugar entre os de zinco e chumbo. A elevada tolerância de minhocas para envenenamento por cádmio é devido, provavelmente, a desintoxicação por proteínas metalotioneína no canal alimentar posterior (Morgan et al, 1989). Cádmio teve o maior efeito prejudicial na produção de casulo, seguido por cobre, zinco e chumbo. Os resultados também indicam que, onde foram produzidos os casulos, a viabilidade e o número de juvenis que surgiram não foram afetados por qualquer dos quatro metais, nas concentrações utilizadas. Efeitos de cádmio e cobre na taxa de reprodução de *Eisenia foetida* eram particularmente agudos. No entanto os autores não estudaram as relações de interação entre os diferentes poluentes.

Em resumo, as minhocas primeiro tentam evitar solos contaminados com metais quando enfrentam manchas de solos contaminados em seu habitat. Se elas não têm possibilidades para evitar este solo contaminado por metais, induzem respostas bioquímicas. Se a exposição continua e os sistemas de desintoxicação bioquímicos contra a exposição de metal não são adequadas para reduzir os efeitos nocivos dos metais, são percebidas mudanças na atividade individual, reprodução e perda de biomassa. Se esta exposição for continua ou as minhocas não forem capazes de tolerar o nível de contaminação, serão percebidas taxas de mortalidade desproporcionais ao ambiente controle (LUKKARI, 2004).

## 6 CONCLUSÃO

As cinzas provenientes do beneficiamento do carvão é o fator de contaminação do local e demonstram toxicidade para a *Eisenia foetida*. As amostras do local onde eram feitas as deposições de finos de carvão, correspondente a R1, apresenta uma toxicidade decrescente até a R4 proveniente de uma área sem a presença de cinzas.

Os resultados dos testes de fuga mostraram a preferência das *Eisenia foetida* pelo solo artificial. Tal observação demonstra a toxidez dos solos testados, mas deve tal observação ser tomada com cautela, visto que vários autores indicam o uso de solos controle com a mesma consistência dos solos testados.

Foi percebido que a contaminação por cinzas tem efeito direto na sobrevivência destes organismos, sendo que 100% dos mesmos morreram quando expostos ao R1. Com a diminuição do grau de contaminação, a mortalidade também decresceu. No entanto, as amostras R2 e R3 apresentam considerável perda de peso comparado ao solo controle, o que está relacionado ao estresse destes organismos frente a fatores como baixo pH e altos teores de sais de metais pesados.

Dessa forma, as minhocas demonstraram-se indicadores sensíveis ao quadro de degradação ambiental do solo registrado para a área de estudo. Partindo do princípio que as diversas espécies de minhocas apresentam sensibilidade maior ou igual a *Eisenia foetida* perante a exposição a diversas classes de poluentes, sugerimos o uso de espécies da fauna nativa de anelídeos para o monitoramento da condição de solos contaminados por poluentes de origem similares ao encontrado na área de estudo.

## REFERÊNCIAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10004. Resíduos sólidos – Classificação**. Rio de Janeiro, 2004.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15537. Ecotoxicologia terrestre – Ecotoxicidade Aguda – Método de ensaio com minhocas**. Rio de Janeiro, 2007.

AMBIENTAL, Associação de Informação. **Carvão Mineral, Passivos Socioambientais, Mineração**. 2008. Disponível em: <[http://ambienteja.info/ver\\_cliente.asp?id=130699](http://ambienteja.info/ver_cliente.asp?id=130699)>. Acesso em: 10 jun. 2014.

AMORIM, M. J. B.; ROMBKE, J.; SOARES, A. M. V. M. Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of Benomyl, Carbendazim, phenmedipham and different soil types. **Chemosphere**, Aveiro, v. 25, n. 9, p.501-510, abr. 2005.

ANDREA, Mara Mercedes de. El uso de las lombrices de tierra como bioindicadoras de la contaminación de los suelos. **Acta Zoológica Mexicana**. México, v. 26, n. 2, p 95-107. 2010. ISSN 0065-1737.

BARRETO, Maria Laura. **Mineração e Desenvolvimento Sustentável: Desafios para o Brasil**. Rio de Janeiro: cetem/mct, 2001. 215 p.

BOHNEN, H. Acidez e calagem. In: GIANELLO, C., BISSANI, C.A., TEDESCO, M.J. (eds.) **Princípios de fertilidade de solo**. Porto Alegre: Dep. de Solos. Fac. de Agronomia. UFRGS, 1995. p.51-76.

BRENTANO D. M. **Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*: Avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário**. 2006. 145p. Dissertação (Pós – graduação em engenharia ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis SC 2006.

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**. 2005. 23 f.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**. 2005. 23 f.

COSTA C. H. **Estudo toxicológico para valorização do resíduo produzido no processo de polimento de piso porcelanato na indústria cerâmica**. 2010. 153 f. Dissertação (Pós-graduação em engenharia ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis SC 2010.

SPURGEON D. J. HOPKIN S.P. & JONES D. T. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *eisenia fetida* (savigny): assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution** 84 (1994) 123 130.

EMBRAPA, Centro de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos – Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 1999. Xxvi, 412 p.

EPAGRI. Dados e informações biofísicas da Unidade de Planejamento Regional Litoral Sul Catarinense – UPR 8. 2001.

HAMMER; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analyses. **Paleontological electronica** 4, 2001.

HELLING, B; REINECKE, S.A; REINECKE, A. J... Effects of fungicide copper oxochloride on the growth and reproduction of *Eisenia fetida* (Oligochaeta). **Ecotoxicology And Environmenta**, Safety, v. 46, p.108-116, 2000.

HUND-RINKE, K. & WIECHERING, H. 2001. Earthworm avoidance test for soil assessments: An alternative for acute and reproduction tests. **J. Soils Sedim.** 1: 15-20.

HUND-RINKE, K., ACHAZI, R., RÖMBKE, J. & WARNECKE, D. 2003. Avoidance test with *Eisenia fetida* as indicator for the habitat function of soils: Results of a laboratory comparison test. **J. Soils Sedim.** 1: 7-12.

IPAT/ UNESC a – Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas; UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense. **1º Relatório de medição**. Planejamento das atividades do projeto de recuperação de áreas degradadas (PRAD) na bacia carbonífera sul catarinense. Criciúma. 2012. 53 p.

IPAT/UNESC b – Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas; UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense a. **Relatório de ensaio nº 32/2012**. Análises de caracterização e classificação de resíduos sólidos. Criciúma. 2012. 7 p.

IPAT/UNESC c – Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas; UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense b. **Relatório de ensaio nº 33/2012**. Análises de caracterização e classificação de resíduos sólidos. Criciúma. 2012. 7 p.

IPAT/UNESC d – Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas; UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense c. **Relatório de ensaio nº 34/2012**. Análises de caracterização e classificação de resíduos sólidos. Criciúma. 2012. 7 p.

IPAT/UNESC e – Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas; UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense. **Relatório de ensaio nº 36/2012**. Análises de caracterização e classificação de resíduos sólidos. Criciúma. 2012. 7 p.

ISO. International Organization for Standardization, 1998, ISO 11268-2. Soil quality – **Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*)** – Part 2: determination of effects on reproduction. Geneva, ISO.

ISO. International Organization for Standardization. 2002, Draft. **Avoidance test for testing the quality of soils and the toxicity of chemicals** – Part 1: test with earthworms (*Eisenia foetida*). Geneva, ISO.

ISOPPO M. M. **Toxicidade de solos alterados utilizando modelos vegetais e animais**. 2012. 62 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Ambiental)- Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, Criciúma, 2012.

KÖPPEN, W. 1948. **Climatologia: com um estúdio de los climas de la tierra**. **Publications In: Climatology**. Laboratory of Climatology, New Jersey. 104p

LIMA N. C. **Avaliação do impacto da contaminação do solo de áreas agrícolas de Bom Repouso (MG) por meio de ensaios ecotoxicológicos**. 2010. 130 f. Dissertação (Mestrado em ciências da engenharia Ambiental)- Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo 2010.

LOURENÇO, Nelson Miguel Guerreiro. **Característica da minhoca epígea *Eisenia foetida* - benefícios, características e mais - valias ambientais decorrentes de sua utilização**. 2010. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/36200187/Caracteristicas-da-minhoca-Eisenia-foetida-Beneficios-e-mais-valias-ambientais>>. Acesso em: 06 maio 2014.

LUKKARI, Tuomas. **Earthworm Responses to Metal Contamination Tools for Soil Quality Assessment**. 2004. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Faculty Of Mathematics And Science, University Of Jyväskylä, Jyväskylä, 2004.

MATIAS, W. G. **Estude des mecanismes moleculaire d'action de l'acide okadaïque, une toxine marine diarrhéique, in vivo et in vitro**. 1996. 183 f. Tese (Doutorado em Toxicologia Ambiental). Université de Bordeaux, Bordeaux, França. 1996.

MATTIA, Denise Lidório. **Relatório ambiental de recuperação de áreas degradadas Estiva dos Pregos**. 2012. Disponível em:

<[https://www.jfsc.jus.br/acpdocarvao/2012/Metropolitana\\_2012/relatorios/Metropolitana-estiva\\_dos\\_pregos\\_recuperacao-ambiental-2012.htm](https://www.jfsc.jus.br/acpdocarvao/2012/Metropolitana_2012/relatorios/Metropolitana-estiva_dos_pregos_recuperacao-ambiental-2012.htm)>. Acesso em: 28 fev. 2014

Morgan, J. E., Norey, C. G., Morgan, A. J. & Kay, J. (1989). A comparison of the cadmium-binding proteins isolated from the posterior alimentary canal of the earthworm *Demodrilus rubidus* and *Lumbricus rubellus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 92, 15-21.

NAHMANI J.; HODSON M.E; BLACK S. Metals on life cycle parameters of the earthworm *Eisenia foetida* exposed to field-contaminated, metal-polluted soils. **Environmental Pollution**, United Kingdom, v. 149, p.44-58, dez. 2006.

ROCHA, Fábio Roberto Farias da et al. Influência da salinidade da água de rega na sobrevivência da minhoca. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 1, p.81-88, 2007.

Schaefer, M. 2003. Behavioural endpoints in earthworm ecotoxicology: Evaluation of different test systems in soil toxicity assessment. **J. Soils Sedim.** 2: 79-84.

SISINNO C. L. S, BULUS C. L. S, RIZZO & J. C. MOREIRA A. C. Ensaio de Comportamento com Minhocas (*Eisenia foetida*) para Avaliação de Áreas Contaminadas:

Resultados Preliminares para Contaminação por Hidrocarbonetos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p. 40-44, 2006.

SPURGEON D.J., HOPKIN S.P. & D. T. JONES D.T. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia fetida* (savigny): Assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution** 84 (1994) 123 130.

TERRA, N. R.; FEIDEN, I. R. Reproduction and survival of *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea: Cladocera) under different hardness conditions. **Acta Limnologica Brasiliis**, v.15, n.2, p. 51-55. 2003.

YASMIN, Shahla; SOUZA, Doris. **Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Earthworm: A Review. Hindawi Publishing Corporation Applied And Environmental Soil Science**, Bihar, v. 2010, n. 9, p.1-9, jan. 2010.

YEARDLEY, R. B., Jr., LAZORCHAK, J. M. & Gast, L. C. 1996. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. **Environ. Toxicol. Chem.** 15: 1532-1537.

ZANETTE, João Hector Lopes. **Projeto de Recuperação de Áreas Degradadas (PRAD)**. Capivari de Baixo. 2006. 71 p.

**ANEXO**

Tabela 1: Resultados obtidos por meios de ensaios de solubilização, das quatro regiões de estudo localizadas no banhado da Estiva dos Pregos

	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	
<b>Parâmetros</b>	<b>Resultados (mg/L)</b>	<b>Resultados (mg/L)</b>	<b>Resultados (mg/L)</b>	<b>Resultados (mg/L)</b>	<b>Limite máximo permitido no extrato (mg/L)</b>
Alumínio*	78,2	26,2	12	0,8	0,2
Arsênio*	0,029	0,003	< 0,001	< 0,001	0,01
Bário	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,7
Cádmio*	0,01	0,012	0,005	<0,0002	0,005
Chumbo*	0,019	0,007	0,005	0,002	0,01
Cloreto	13,1	15,7	10	29,9	250
Cobre	0,18	0,02	< 0,01	< 0,01	2
Cromo Total	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,05
Ferro*	34,74	0,92	1,03	0,77	0,3
Fluoreto	0,6	0,4	0,3	Interferente	1,5
Manganês*	0,43	0,56	0,37	0,16	0,1
Mercúrio	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,001
Nitrato (expresso em N)	< 0,1	0,2	< 0,1	10	10
Prata	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,05
Selênio	0,004	0,009	0,003	0,005	0,01
Sódio	8,52	15,29	13,04	12,24	200
Sulfato (expresso em SO <sup>4-</sup> )*	461	328	132	29	250
Surfactantes	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1	0,5
Zinco*	5,1	6,74	1,01	0,05	5
pH inicial	2,59	2,83	3,66	4,81	-
pH do extrato solubilizado (final)	2,58	2,84	3,38	5,09	-

\* valores acima dos limites máximos estabelecidos pela ABNT NBR 10006:2004. Fonte: IPAT/UNESC (2012 b, c, d, e).