

A ABSORÇÃO DE COBRE POR MINHOCAS DA ESPÉCIE *EISENIA ANDREI* EM SOLOS E HÚMUS CONTAMINADOS

Rosecler Ribeiro¹, Lucélia Hoehne², Wagner Manica Carlesso³, Eduardo Miranda Ethur⁴,
Simone Stülp⁵

Resumo: O cobre é um elemento essencial à vida, mas em quantidades elevadas é tóxico. Existem trabalhos evidenciando que após vermicompostagem, o cobre pode ser absorvido pelas minhocas. Além disso, estas podem servir como bioindicadores ambientais. Este trabalho teve por objetivo avaliar a absorção do cobre pelas minhocas da espécie *Eisenia andrei* em minhocários verticais e horizontais. As concentrações de cobre estudadas foram: 500 e 1000 mg/kg de substratos em solo com esterco e húmus com esterco. Foram avaliados parâmetros como peso das minhocas e concentração de cobre no solo. Na concentração de 1000 mg/kg, em ambos os substratos, constatou-se 90% de letalidade. Já na concentração de 500mg/kg as minhocas sobreviveram, porém o aumento de sua biomassa foi menor que as do grupo controle.

Palavras-chave: Minhocas. Húmus. Cobre. Solo.

1 INTRODUÇÃO

O presente artigo foi elaborado a partir de trabalho de pesquisa sobre o processo de absorção do cobre por minhocas. A redução da presença desse metal no solo contribui para a melhoria do ambiente. O estudo analisa justamente a possibilidade de se reduzir a concentração de cobre por meio de vermicompostagem, que é a degradação da matéria orgânica pelas minhocas.

Destaca-se, neste contexto, que as minhocas têm a capacidade de transformar a matéria orgânica em um produto ecológico e rico em nutrientes para as plantas. Na vermicompostagem, a matéria orgânica passa pelo tubo digestivo das minhocas e, após a ocorrência das reações metabólicas, é eliminada na forma de húmus (KIEHL, 2002).

A espécie mais recomendada para reciclagem dos resíduos orgânicos domiciliares é a *Eisenia andrei*, devido ao seu maior ganho da biomassa e maior reaproveitamento de resíduo. Por essa razão, optou-se pela utilização dessa espécie de minhoca neste trabalho de pesquisa.

Na literatura podem ser encontrados trabalhos que evidenciam a possibilidade de as minhocas contribuírem para a redução da concentração de metais pesados no solo. Além disso, estudos sugerem que o húmus pode complexar íons metálicos.

1 Graduanda do curso de Química Industrial – Univates.

2 Graduação em Química Industrial, mestre e doutora em Química – Univates. luceliah@univates.br

3 Graduando do curso de Engenharia Ambiental – Univates.

4 Graduação em Química Industrial, mestre e doutor em Química – Univates.

5 Graduação em Química Industrial, mestre e doutora em Engenharia de Materiais – Univates.

A presente pesquisa foi elaborada a partir de minhocários verticais e horizontais. Nessa direção, é possível fazer minhocários verticais, pois ocupam pouco espaço (CARLESSO *et al.*, 2011). A vermicompostagem, que serviu de base para este trabalho, foi desenvolvida em minhocários construídos em laboratório do Centro Universitário UNIVATES, em Lajeado-RS.

Assim, o presente trabalho buscou responder a seguinte questão de pesquisa:

A vermicompostagem pode reduzir a concentração de cobre no solo?

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A fundamentação teórica do presente artigo aborda aspectos referentes ao processo de absorção do metal cobre pelas minhocas. Nesse sentido, são apresentadas teorias referentes ao processo de vermicompostagem, ao uso das minhocas como bioindicadoras ambientais, a toxicidade do cobre, as espécies de minhocas usadas na minhocultura, dentre outros aspectos.

Destaca-se, nesse contexto, que as minhocas têm a capacidade de transformar a matéria chama-se vermicompostagem, no qual a matéria orgânica passa pelo tubo digestivo das minhocas e, após a ocorrência das reações metabólicas, a matéria orgânica é eliminada na forma de húmus (KIEHL, 2002).

Nessa direção, a vermicompostagem de resíduos orgânicos pode beneficiar tanto o meio urbano quanto o rural, por meio do reaproveitamento dos resíduos domiciliares. A vermicompostagem acelera o processo de degradação da matéria orgânica e gera produtos como chorume, húmus e farinha de minhoca (CARLESSO *et al.*, 2011).

Ainda, segundo os autores, é possível fazer minhocários verticais, pois ocupam pouco espaço. O húmus e o chorume obtidos pela vermicompostagem podem ser usados como fertilizantes para vitalizar solos. Já as minhocas podem servir de suplemento alimentar para aves, peixes, rãs e outros animais.

Existem entre 240 e 260 espécies de minhocas no Brasil, mas a mais utilizada pelos produtores de húmus é a *Eisenia fetida* devido à sua fácil adaptação (SCHIEDECK *et al.*, 2006).

Na minhocultura mundial predominam *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida*. Mas é comum essas espécies serem confundidas pela sua semelhança anatômica. Essas duas espécies de minhocas são escolhidos devido à boa tolerância de variação de temperatura e por possuírem elevado índice de reprodução (SCHIEDECK, 2010).

A espécie mais recomendada para resíduos domiciliares é a *Eisenia andrei*, devido ao seu maior ganho da biomassa e maior reaproveitamento de resíduo (NADOLNY, 2009; SCHIEDECK, 2010).

As fontes de poluentes são variadas, desde lodos domiciliares e industriais, bem como na utilização de agrotóxicos em lavouras. Tais fontes podem acarretar uma concentração de metal pesado, que pode intervir no desenvolvimento da microbiota terrestre. Nesse sentido, como as minhocas representam os micro-organismos terrestres, elas podem ser utilizadas como bioindicadoras ambientais (ANDRÉA, 2010).

Embora o agente causador do estresse não resulte em mortalidade das minhocas, ele pode provocar reações metabólicas e físicas no seu organismo. Por isso, o bioindicador é utilizado para avaliar a saúde de um sistema e conseqüentemente a qualidade do ambiente (ANDRÉA, 2008). Outro aspecto a ser considerado é o excesso de cobre nos solos.

2.1 Cobre nos solos

O cobre é um elemento essencial e está amplamente distribuído na natureza. Além disso, foi um metal importantíssimo no desenvolvimento da civilização. Muitas tecnologias hoje existentes foram desenvolvidas a partir desse nobre metal. Porém, a exposição prolongada a altas concentrações de cobre é nociva para a saúde humana, podendo causar doença no fígado (LEE, 1999).

Alguns compostos de cobre como sulfato de cobre penta-hidratado são usados na agricultura no tratamento da água para controle de algas e também no tratamento de fungos em videiras (MELO *et al.*, 2008).

As principais fontes poluidoras antropogênicas são por meio da mineração, fundição, queima de carvão como fonte de energia e incineração de resíduos municipais. O uso de agrotóxico na agricultura não é tão relevante, porém, as aplicações frequentes de fungicidas vão acumulando esse metal no solo e com o decorrer do tempo de exposição pode causar efeito acumulativo e interferir no desenvolvimento dos seres vivos (FICHA..., 2012).

A letalidade das minhocas da espécie *Tuberculata* foi maior no solo do campo em relação à do solo artificial em um trabalho. Com isso se faz necessário avaliar o solo a partir do campo, que é a realidade enfrentada pelos organismos terrestres. Outra importante observação é que as minhocas com história de pré-contaminação têm diferentes respostas na avaliação da sua biomassa (LUKARI *et al.*, 2005).

O trabalho teve como objetivo avaliar a absorção de cobre pelas minhocas e a possível redução do metal nas diferentes combinações de substratos (solo, esterco e húmus), bem como analisar a capacidade de tolerância das minhocas às diferentes concentrações de metal. Adiante, são apresentados os materiais e métodos utilizados neste trabalho de pesquisa.

3 METODOLOGIA

Para realização deste trabalho foram utilizados diferentes métodos e materiais, iniciando-se pela contaminação com cobre (Cu) 1000 mg/Kg de substrato.

3.1 Contaminação com Cu 1000mg/Kg de substrato

Foram construídos quatro minhocários horizontais, em recipientes plásticos em formato retangular com dimensões 23 cm x 15 cm x 5 cm, com tampa. Na proporção 1:1 (50% de cada componente) foram analisadas duas combinações: 01) substratos solo e esterco, e, 2) húmus e esterco.

Cada minhocário recebeu 1 Kg de substrato de solo e esterco já com o cobre adicionado. Foram inoculadas 10 minhocas *Eisenia andrei* com clitelos (parte reprodutiva) desenvolvidos. O mesmo procedimento foi utilizado para análise dos compostos húmus e esterco. Paralelamente foi feito um grupo controle, contendo a mesma composição, mas sem a adição de cobre.

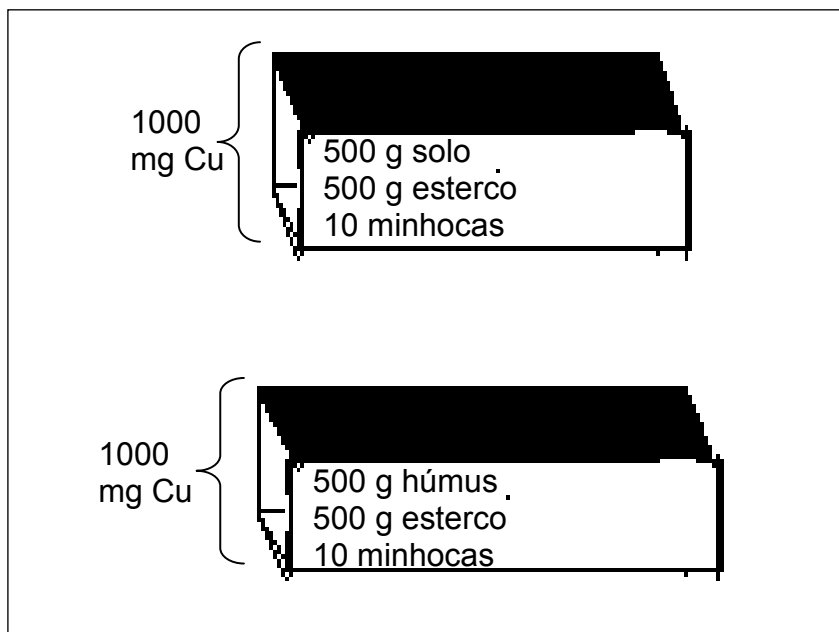
A mistura foi feita com 500 g de esterco bovino seco e 500 g de solo recolhidos em uma propriedade rural da região do Vale do Taquari. Todo o material foi pré-descontaminado com ácido nítrico a 10% por 24 horas e depois foi lavado com água deionizada. Acrescentou-se 1000 mg de cobre a partir do sulfato de cobre penta hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dissolvidos em 50 mL de água deionizada. Adicionou-se a mesma quantidade de água deionizada nos grupos de controles a fim de obter umidade parecida.

As minhocas adultas da espécie *Eisenia andrei* foram lavadas em água deionizada e o excesso de água foi retirado com papel absorvente. Depois, as minhocas foram pesadas em balanças analíticas, e todas possuíam massa superior a 300 mg. Na sequência, essas minhocas foram inoculadas nos substratos.

Os minhocários foram mantidos em local fechado, limpo, seco, sem luz direta e instaladas no Prédio 04 do Centro Universitário UNIVATES.

A Figura 1 ilustra o esquema dos minhocários horizontais com as combinações: substratos solo e esterco, e, húmus e esterco.

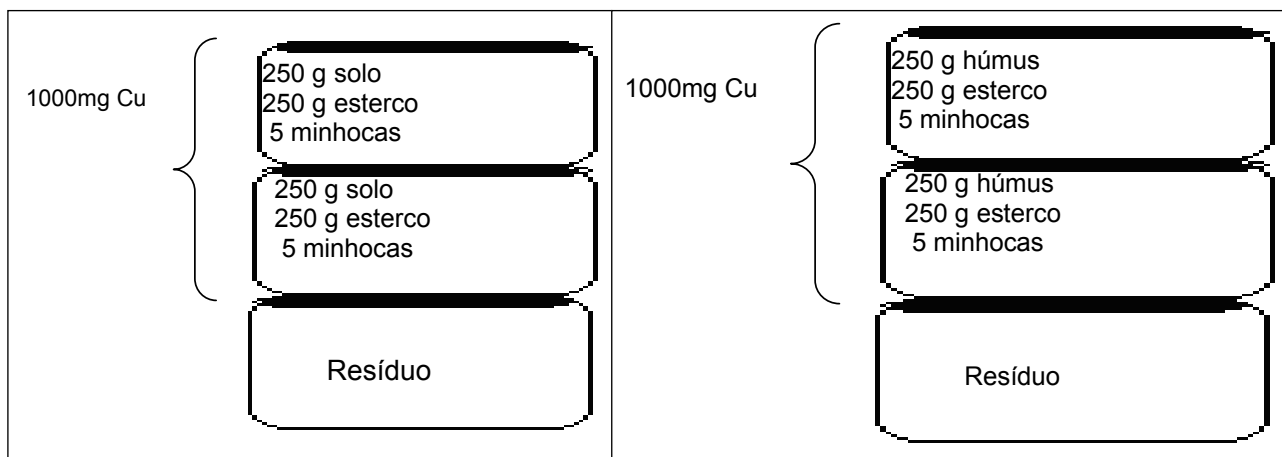
Figura 1: Sistema dos minhocários horizontais



Fonte: Elaborada pelos autores

O mesmo tratamento foi adotado para os minhocários verticais, que foram construídos em três recipientes plásticos com dimensões 10 cm x 10 cm x 17 cm, com tampa. As duas partes superiores do minhocário receberam cinco minhocas da espécie *Eisenia andrei* adultas em 500 mg de substrato como pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2: Sistemas dos minhocários verticais



Fonte: Elaborada pelos autores

Para a concentração de 500 mg/Kg, adotaram-se os mesmos modelos e procedimentos de análises.

3.2 Análises de cobre

As amostras dos substratos foram coletadas aleatoriamente em vários pontos do minhocário. Foram acondicionadas em um béquer, vedando-as com plástico filme e mantendo-as na geladeira até a realização dos testes.

As análises da concentração de cobre nos substratos foram realizadas quinzenalmente. Já nas minhocas, foram analisadas somente no 60º dia de sua introdução nos minhocários.

Para determinar cobre (Cu), precisou-se que preparar a amostra. Depois da calcinação, as cinzas foram diluídas em 20 mL de HCl 1:1 com 10 mL de água deionizada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

As concentrações de cobre foram analisadas no laboratório Unianálises por meio da espectrofotometria de absorção atômica com chama. Todas as amostras foram feitas em triplicatas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). Os dados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de confiança $p < 0,05$.

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

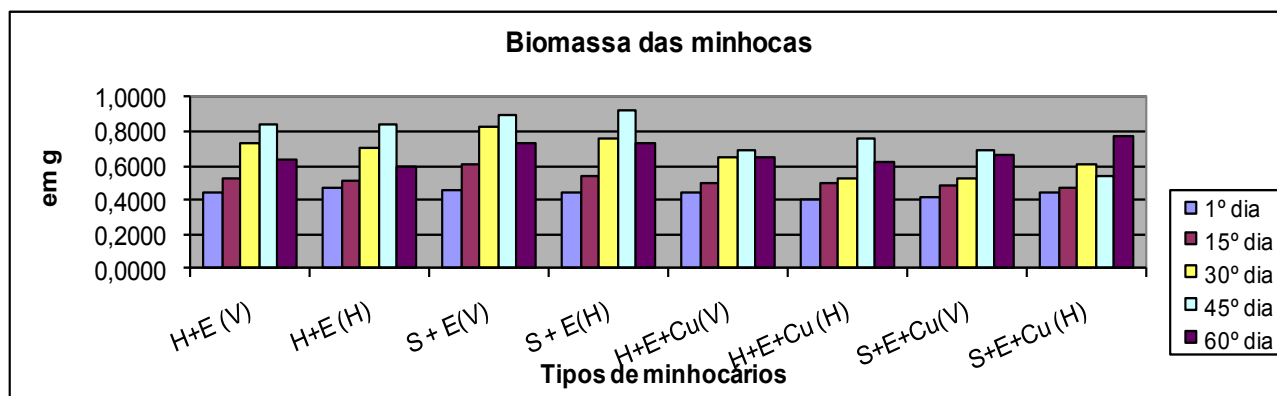
Nos testes preliminares, verificou-se que no minhocário contaminado com Cu 1000 mg/Kg, nos substratos solo e esterco tanto no horizontal quanto no vertical, após sete dias de experimento, houve mortalidade de 90% das minhocas. Já nos minhocários não contaminados (grupo controle) houve adaptação, inclusive reprodução, constatada pela presença de casulos.

Nos substratos contendo húmus e esterco, tanto no minhocário vertical quanto no horizontal, na concentração com Cu 1000mg/Kg o percentual de minhocas vivas foi de 60%. Mas, devido aos 90% de mortalidade nos substratos de solo e de esterco, conforme apresentado anteriormente, não houve condições de comparar. Por isso, foram interrompidas as análises físico-químicas.

A diferença do índice de mortalidade entre húmus e solo pode ser explicada pelas propriedades do húmus, que retêm os cátions metálicos. Após a complexação, o cobre fica na forma de sais (LAMIN, 1998). Mas o efeito acumulativo prejudica o desenvolvimento das minhocas, (ANDRÉA, 2008). Realizou-se, então, uma segunda contaminação com cobre, desta vez contendo 500 mg/Kg.

No Gráfico 1 pode-se perceber o desenvolvimento das minhocas em relação ao seu ganho de massa na concentração de Cu 500 mg/kg e os grupos controle, e em meio não contaminado o ganho de massa foi maior em relação ao que continha Cu. No 60º dia, as massas das minhocas começaram a diminuir em quase todos os minhocários. Isso pode ser explicado devido à falta de alimento, uma vez que não foi adicionada matéria orgânica até o final do experimento.

Gráfico 1: Avaliação quinzenal da biomassa das minhocas na concentração de Cu 500 mg/kg em relação aos grupos controle



Legenda:

- H +E (V): Húmus + esterco (minhocário vertical)
- H +E (H): Húmus + esterco (minhocário horizontal)
- S +E (V): Solo + esterco (minhocário vertical)
- S +E (H): Solo + esterco (minhocário horizontal)
- H+ E +Cu (V): Húmus + esterco + cobre (minhocário vertical)
- H+E +Cu (H): Húmus + esterco + cobre (minhocário horizontal)
- S +E +Cu (V): Solo + esterco + cobre (minhocário vertical)
- S +E +Cu (H): Solo + esterco + cobre (minhocário horizontal)

Fonte: Elaborado pelos autores

Obs.: A legenda do Gráfico 1 serve de orientação para todos os gráficos e tabelas elaboradas neste trabalho.

Apenas 10% das minhocas não superaram a concentração de 500 mg/Kg de cobre nos minhocários contendo solo e esterco, tanto na forma vertical quanto na horizontal. Nos demais minhocários, 100% das minhocas sobreviveram.

Esse resultado, embora o cobre tenha sido analisado separado, discorda dos autores que utilizaram uma concentração de 400/700 mg Cu/Zn e constataram 100% de mortalidade das minhocas da espécie *Eisenia fetida*. Cogita-se que esse fato possa ter ocorrido porque as minhocas estavam expostas a dois metais simultaneamente (LUKKARI *et al.*, 2005).

Os resultados da concentração de cobre nos minhocários verticais e horizontais, com substratos húmus e esterco e solo e esterco contaminados com 500mg/Kg podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1- Concentração de cobre em µg/g nos substratos

Minhocários	1º dia	15º dia	30º dia	45º dia	60º dia
	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP
H +E+Cu (V)	280 (±17)	304(±0,1)	260 (±15)	337 (48)	326 (±17)
H +E+Cu (H)	372 (±33)	311 (±32)	225 (±25)	327 (26)	366 (±5)
S +E+Cu (V)	316 (±31)	350 (±23)	238 (±18)	336 (20)	356 (±25)
S +E+Cu (H)	300 (±12)	375 (±9)	213 (±10)	346 (31)	315 (±18)

*DP = Desvio padrão

Fonte: Elaborada pelos autores

Conforme pode ser visualizado na Tabela 1, no final dos 60 dias após a inoculação das minhocas *Eisenia andrei*, as diferenças estatísticas não são significantes, considerando-se os desvios-padrão (DP) das médias. Não houve redução do cobre como era esperada. Houve uma diferença estatística entre as amostras dos húmus com esterco e cobre do minhocário vertical, coletadas no 1° e no 60° dias. Como as amostras foram coletadas logo nas primeiras horas da homogeneização, esse resultado concorda com os autores que afirmam que o tempo mínimo para a adsorção do cobre é de 16 horas (LAMIN, 1998).

Nas demais amostras, exceto no 30° dia, não foram verificadas diferenças significativas. As amostras coletadas no 30° dia não devem ser levadas em consideração, pois em todas as análises, os resultados foram inferiores aos demais dias. Nos minhocários vertical e horizontal contendo solo e esterco na proporção de 50% e Cu 500 mg/kg houve diferenças estatísticas não significantes na absorção do cobre. Os minhocários verticais e horizontais contendo húmus, esterco e cobre tiveram diferenças significativas apenas no primeiro dia. Nas demais amostras a diferença não foi significativa. Esse resultado distinto sugere que os substratos não estavam bem misturados com o sulfato de cobre ou, como já citado anteriormente, o cobre não estava totalmente adsorvido.

Na comparação entre os substratos solo e esterco em minhocário vertical, e, húmus e esterco no mesmo tipo de minhocário, também não houve diferenças significativas.

Ao comparar os substratos solo e esterco com húmus e esterco, ambos de minhocários horizontais, houve diferença significativa somente entre as amostras coletadas no 1° dia. Como o solo e o húmus estavam na forma sólida e as outras amostras foram coletadas logo que foram feitas as misturas, cogita-se que essas misturas talvez não estivessem homogêneas, ocasionando esse resultado. No final dos 60 dias, foram analisadas as concentrações de cobre nas minhocas inoculadas nos substratos solo e esterco, húmus e esterco, ambos minhocários verticais e horizontais contaminados com Cu 500 mg/kg e comparados com os grupos controle, conforme pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 02- Concentração de cobre nas minhocas em µg/g.

Concentração de Cu nas minhocas	Média (±DP)
H + E (V)	3,34 (±0,21)
H + E (H)	3,35 (±0,35)
S +E (V)	3,50 (±0,71)
S+E (H)	3,80 (±0,1)
H +E+Cu (V)	28,75(±2,62)
H +E+Cu (H)	30,90 (±0,71)
S +E+Cu (V)	40,70 (±1,27)
S +E+Cu (H)	25,30 (±0,10)

*DP = Desvio padrão

Conforme pode ser visualizado na Tabela 2, as minhocas que estavam em meio contaminado com cobre apresentaram as concentrações no mínimo seis vezes a mais do que as dos grupos controle.

Ao comparar as concentrações de cobre nas minhocas obtidas dos substratos húmus e esterco em Cu 500 mg/Kg dos minhocários vertical e horizontal, não se constatou diferenças significativas entre si.

Mas ao comparar o resultado da concentração de cobre nas minhocas obtidas dos substratos húmus e esterco em Cu 500 mg/Kg dos minhocários vertical e horizontal com o do substrato solo, esterco e Cu 500 mg/Kg no minhocário vertical, verificou-se diferença. As minhocas em solo do minhocário vertical absorveram 11,95 µg/g a mais que as dos substratos húmus e esterco com cobre do minhocário vertical e 9,8 µg/g que as do húmus, esterco e Cu no minhocário horizontal.

Verificou-se discordância estatística entre os resultados das concentrações de cobre nas minhocas obtidas dos minhocários vertical e horizontal dos substratos solo e esterco e Cu. As minhocas do minhocário horizontal absorveram 15,4 µg/g a menos que o minhocário vertical.

Os resultados das concentrações de cobre nas minhocas obtidas a partir do minhocário horizontal dos substratos solo e esterco sem cobre, embora inferior, foram próximos dos obtidos dos minhocários contendo húmus e esterco sem cobre tanto na forma vertical quanto na forma horizontal.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação à absorção de cobre pelas minhocas *Eisenia andrei*, foi comprovado que as minhocas acumulam o metal no organismo, porém não diminuem a concentração de metal nos substratos tanto no húmus quanto no solo. Além disso, essa espécie pode ser utilizada como bioindicadoras ambientais, pois, já que é uma espécie bastante usada pelos produtores e de fácil adaptação.

A concentração de cobre em 1000 mg/kg foi letal para as minhocas. Ao diminuir essa concentração para a metade, elas toleram bem o elemento químico, porém percebeu-se que em relação ao grupo controle, as minhocas tiveram um desenvolvimento menor, constatado pela avaliação da sua biomassa.

Constatou-se que o húmus tem a capacidade de amenizar os efeitos tóxicos do cobre para as minhocas, conforme dados observados nos testes de fuga e o número de minhocas sobreviventes em relação ao solo.

Embora as minhocas tolerem 500 mg/kg de Cu, sugere-se também, uma análise com contaminação simultânea com cobre e zinco, para verificar se ocorrerá o mesmo comportamento, já que existem literaturas que relatam que uma menor concentração causa letalidade. Sugere-se também que se use as minhocas nativas do Sul do Brasil, já que o Rio grande do Sul é um grande produtor de videiras, e em função do uso do sulfato de cobre ano após anos, deve-se averiguar se o cobre já está prejudicando os seres vivos desse ambiente.

REFERÊNCIAS

ANDRÉA, Mara M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoológica Mexicana** (ns.), Número Especial 2: p. 95-107. 2010.

ANDRÉA, M. M. de. **Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos**. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/Bioindicadores/index.htm>. Acesso em: 31 out. 2012

CARLESSO, W. M. RIBEIRO, R. HOHNE, L. Tratamento de resíduos a partir de compostagem e vermicompostagem. **Destaques Acadêmicos**, ano 3, n. 4, 2011.

FICHA DE INFORMAÇÃO TOXICOÓGICA. **Cobre**. Disponível em: <www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/cobre.pdf>. Acesso em: 25 out. 2012.

KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto**. 3. ed. Piracicaba, 2002.

LAMIN, S. S. M.; JORDÃO, C.P.; BRUNE, W.; PEREIRA, J. L.; BELLATO, C.R. Caracterização química e física de vermicomposto e avaliação de sua capacidade em adsorver cobre e zinco. **Quí.** n. 21, v. 3. 1998.

LEE, John D. **Química inorgânica**: não tão concisa. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.

LUKKARI, Tuomas; AATSINKI, Marjo; VÄISÄNEM, Ari, HAIMI, Jari. Toxicity of copper and zinc assessed with tree different earthworm tests. **Applied Soil Ecology**. v. 30, p.133-146, 2005.

MELO, George W. B.; CASALI, Carlos A.; BRUNETTO, Gustavo; RHEINHEIMER, Danilo S.; MORTELE, Diovane F.; KAMINSKI, João. **Cobre em solos cultivados com a videira na Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves, RS, 2008. (Comunicado técnico).

NADOLNY, H. S. **Reprodução e desenvolvimento das minhocas (*Eisenia andrei*) Bouché 1972 e *Eudrilus eugeniae* (Kinberg 1867) em resíduo orgânico doméstico**. Curitiba, PR. 2009.

SCHIEDECK, G.; GONÇALVES, M. M.; SCHWENGBER, J. E. **Minhocultura e produção de húmus para a agricultura familiar**. Embrapa/ Circular técnica 57. Pelotas, RS 2006.

SCHIEDECK, G. **Espécies de minhocas para minhocultura**. 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/minhocultura/index.htm>. Acesso em: 24 out. 2012.