

# GEOCHIMICA BRASILIENSIS

VOLUME XXIV

NÚMERO 1

2010

25



## Avaliação da ecotoxicidade de mercúrio em três tipos de solos utilizando ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas

Ricardo Cesar<sup>1,2\*</sup>  
Juan Colonese<sup>2</sup>  
Marianna Silva<sup>2</sup>  
Luiz Carlos Bertolino<sup>2</sup>  
Zuleica Castilhos<sup>2</sup>,  
Sílvia Egler<sup>2</sup>  
Helena Polivanov<sup>3</sup>  
Edison Bidone<sup>1</sup>  
Daniel Perez<sup>4</sup>

1 – Universidade Federal Fluminense, UFF, Instituto de Química, Departamento de Geoquímica Ambiental, Outeiro São João Baptista, s/n. Centro, Niterói – RJ.

2 – Centro de Tecnologia Mineral, CETEM/MCT, Serviço de Desenvolvimento Sustentável, Laboratório de Ecotoxicologia Aplicado à Indústria Mineral-Metalúrgica, Av. Pedro Calmon, 900, Cidade Universitária, Rio de Janeiro – RJ.

3 – Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, CCMN-Instituto de Geociências, Departamento de Geologia, Setor de Geologia de Engenharia e Ambiental, Av. Athos da Silveira Ramos, 274 – Cidade Universitária, Rio de Janeiro – RJ.

4 – Empresa Brasileira de Agropecuária, EMBRAPA, Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico, 1.024 - Jardim Botânico, Rio de Janeiro – RJ.

\*Autor-correspondente: geo\_ricardo\_cesar@yahoo.com.br - Fone: 55 21 38657269

### Resumo:

O mercúrio é um metal altamente tóxico, possui ação neurotóxica, caráter teratogênico e é amplamente conhecido pela capacidade de causar sérios danos à saúde humana e ambiental. O presente trabalho propõe a avaliação da ecotoxicidade de mercúrio em três tipos de solos, utilizando bioensaios com oligoquetas (*Eisenia andrei*). Para tanto, ensaios de toxicidade aguda, de comportamento e de bioacumulação foram realizados com Latossolos Vermelhos (horizonte A), Latossolos Amarelos (horizonte A) e Chernossolos (horizonte B), previamente contaminados com soluções de mercúrio divalente. Os resultados revelaram a redução dos níveis de toxicidade com o aumento da matéria orgânica, da fertilidade e/ou presença de argilominerais expansivos nos solos, sendo o maior potencial tóxico atribuído ao Latossolo Amarelo. Esses resultados deverão auxiliar o estabelecimento futuro de valores de referência tóxica capazes de refletir as principais ocorrências pedológicas brasileiras, subsidiando futuras avaliações de risco ecológico e a tomada de decisão em medidas de saúde ambiental e de controle da poluição.

**Palavras-chave:** Oligoquetas, bioensaios, mercúrio, solos.

### Abstract

Mercury is a highly toxic metal, neurotoxic, teratogenic and well-known by its capacity of causing serious damages on human health and biota. This work proposes the assessment of mercury toxicity levels in three Brazilian soil classes, using bioassays with earthworms (*Eisenia andrei*). Acute toxicity tests, behavior assays and bioaccumulation tests were performed with red ferralsols (A horizon), yellow ferralsols (A horizon) and chemosols (B horizon), previously contaminated with solutions of divalent mercury. Results revealed the reduction of toxicity levels associated with the increase of organic matter contents, fertility and/or the presence of expansive clay minerals, while the highest toxicity level was detected for the yellow ferralsol. Such results may support the future establishment of toxic reference values able to reflect the most important Brazilian pedological occurrences, subsidizing future ecological risk assessments and decision-making in actions of environmental health and pollution control.

**Key-words:** Earthworms, bioassays, mercury, soils.

## 1. Introdução

O mercúrio é um metal altamente tóxico e amplamente conhecido pela capacidade de causar sérios danos à saúde humana e ambiental. As fontes de contaminação antropogênica estão, usualmente, relacionadas ao seu emprego na mineração, indústrias soda-cloro, confecção de lâmpadas fluorescentes, produtos cosméticos, farmacêuticos, baterias, termômetros e baterias recarregáveis (WHO, 1990; Yallouz et al., 2008). Importantes fontes de origem litogeoquímica estão comumente associadas à presença de depósitos hidrotermais com a ocorrência de cinábrio (HgS), que, comumente, ocorre associado a outros sulfetos metálicos, tais como a galena, arsenopirita, esfarelita e calcopirita (Mitra, 1989 apud Rodrigues-Filho, 1995, Reimann & Garret, 2005). Outra fonte geogênica de considerável importância são as erupções vulcânicas, capazes de liberar altas quantidades do metal para a atmosfera.

A toxicidade do mercúrio depende de sua forma química no ambiente. As formas inorgânicas possuem importância secundária, quando comparadas à espécie química metilada (metilmercúrio - MeHg), uma vez que esta última provoca danos irreversíveis ao organismo, além de ser neurotóxica e teratogênica (WHO, 1990). O MeHg é capaz de biomagnificar na cadeia trófica aquática e sua acumulação pela ictiofauna tem estimulado a execução de diversos estudos de monitoramento ambiental e de geologia médica, sobretudo na região amazônica (Rodrigues-Filho 1995, Lacerda & Solomons, 1998, Castilhos et al., 1998, Castilhos et al. 2004, Yallouz et al., 2008).

A maior parte dos estudos geoambientais em solos está, tradicionalmente, baseada em análises químicas totais, extrações sequenciais, e/ou extrações seletivas de frações geoquímicas de elevado potencial de mobilidade e/ou biodisponibilidade. Embora importante, essas abordagens analíticas não levam em consideração o efeito sinérgico de contaminantes sobre os organismos, bem como seus efeitos

ecológicos sobre a pedosfera (Selivanovskaya & Latypova, 2003). Nesse sentido, a abordagem ecotoxicológica pode complementar os resultados da geoquímica analítica através do monitoramento de efeitos letais, subletais e estimativa das frações biodisponíveis através da determinação dos teores de contaminantes em tecidos de organismos expostos (Straalen et al., 2005).

No caso dos solos, os oligoquetas têm sido largamente utilizados como organismos-teste em ensaios ecotoxicológicos (Nahmani et al., 2007; Carbonell et al., 2009). Seu amplo emprego em bioensaios se justifica pelo cultivo simples em laboratório; por ingerirem grande quantidade de solo, por representarem mais de 90% da pedobiomassa (quando presentes); por servirem de alimento a diversas espécies de animais (sendo, portanto, elo importante da cadeia trófica terrestre); e por serem extremamente sensíveis à presença de agentes tóxicos (Liu et al., 2005, Nahmani et al., 2007, Hinton & Veiga, 2008).

O solo é um sistema aberto e desenvolvido sob a ação de diversos fatores, tais como o material parental, clima, organismos, tempo e geomorfologia. O comportamento pedogeoquímico do mercúrio depende das propriedades físicas, químicas e mineralógicas do solo, tais como textura, pH, salinidade, umidade, matéria orgânica, troca catiônica, mineralogia de argilas e oxi-hidróxidos de ferro e alumínio (Yin et al., 1996, Hylander et al., 2000, Wasserman et al., 2001, Wasserman et al. 2003). Essas propriedades são importantes na determinação dos níveis de mobilidade do mercúrio, bem como de sua biodisponibilidade e toxicidade ambiental, além da compreensão de metabolismos e forçantes biológicas associadas.

O presente trabalho trata do estudo da ecotoxicidade e da biodisponibilidade de mercúrio em três classes de solos tropicais artificialmente contaminadas, utilizando testes ecotoxicológicos com oligoquetas (*Eisenia andrei*).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Amostras

A fim de investigar a influência de solos com características diversas nos mecanismos de biodisponibilidade, foram estudados os Latossolos Amarelos (Horizonte A), Latossolos Vermelhos (Horizonte A) e os Chernossolos (Horizonte B). Os solos foram coletados com o auxílio de trado e armazenados em sacos plásticos até processamento. A amostragem dos Latossolos foi executada em parceria com a equipe da Embrapa-Solos (RJ), e a dos Chernossolos, em conjunto com o Departamento de Geologia da UFRJ.

Em laboratório, os solos foram secos à temperatura

ambiente e peneirados a 1,7 mm, para remoção de raízes e partículas maiores. Após essa etapa, efetuou-se com a contaminação dos solos, utilizando-se soluções de diferentes concentrações de mercúrio divalente ( $Hg^{2+}$ ). Optou-se por contaminar os solos com o  $Hg^{2+}$ , uma vez que essa forma química representa a fonte de metilação para os ecossistemas aquáticos. Após 24 horas de contaminação, os solos foram utilizados para os testes. É importante ressaltar que essa contaminação retrata uma situação hipotética de contaminação imediata/aguda do solo (24 horas) e, dessa forma, remete ao pior cenário de risco. Caso esses solos



fossem testados meses após a contaminação, os resultados poderiam apresentar algumas diferenças, sobretudo devido a fenômenos mais efetivos de complexação e/ou adsorção a suportes geoquímicos (i.e., argilominerais, matéria orgânica, oxi-hidróxidos de ferro e alumínio, entre outros).

A caracterização física, química e mineralógica dessas mesmas amostras de solo foi descrita por Kede (2006), Cesar et al. (2008) e Alamino (2010). A amostra de Latossolo

Vermelho conta com altos teores de matéria orgânica, ferro total, textura argilosa, abundância de oxi-hidróxidos de ferro e de caulinita. O Latossolo Amarelo é pobre em nutrientes, possui mineralogia essencialmente caulinitica (de baixa capacidade de adsorção e retenção de nutrientes) e conta com baixos teores de matéria orgânica. O Chernossolo possui elevada fertilidade e conta com a abundância de argilominerais expansivos (esmectita, ilita, interestificado ilita-esmectita e vermiculita).

## 2.2 Determinação do mercúrio total

A determinação quantitativa de mercúrio total (HgT) em amostras bióticas e abióticas foi realizada com o equipamento portátil LUMEX (RA 915+), um espectrofotômetro de absorção atômica baseado no diferencial Zeeman, e acoplado a uma câmara de pirólise. O princípio da determinação se baseia na destruição térmica da amostra seguida pela determinação da quantidade de vapor de Hg. A concentração do vapor do Hg é medida por uma célula analítica através da diferença de intensidade de radiação. Precisão e

acuracidade das análises foram acompanhadas através do uso de amostras certificadas (NIST 2709 San Joaquin Soil, e IAEA 407 "fish homogenate", para amostras abióticas e bióticas, respectivamente) e cálculo de erro absoluto, sendo aceitos erros máximos de 10%. O limite mínimo de detecção do método é de 0,005 mg/kg. Antes de serem submetidos a esses experimentos, os oligoquetas foram previamente congelados e liofilizados.

## 2.3 Cultivo dos organismos-teste (*Eisenia andrei*)

Os oligoquetas (*Eisenia andrei*) utilizados, para a realização dos testes ecotoxicológicos, foram cultivados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCT), cuja cultura já se encontra estabelecida há 4 anos. Desde a sua implantação, as condições de cultivo envolvem a separação dos organismos por idade (casulos, jovens e adultos), os quais são mantidos em caixas plásticas contendo esterco de boi fresco (obtido junto ao Departamento de Agrobiologia da EMBRAPA, RJ). Em laboratório, os organismos são mantidos à temperatura de

20°C ± 2, umidade em torno de 60 a 70 % e iluminação constante.

A troca do esterco é realizada periodicamente (intervalo de 15 dias), quando o húmus produzido é retirado e os organismos são distribuídos em diferentes caixas de acordo com a idade. A saúde dos animais e a qualidade da cultura são monitoradas periodicamente através da realização de testes agudos de sensibilidade, utilizando-se cloroacetamida e solos artificiais.

## 2.4 Testes de toxicidade aguda com *Eisenia andrei*

O ensaio de ecotoxicidade aguda foi realizado conforme os procedimentos propostos por ASTM (2004). Para tanto, o experimento foi executado com 200 gramas de solo e 10 organismos adultos de peso semelhante (para garantia de populações mais homogêneas) em cada réplica (três). Os recipientes-testes foram cobertos com plástico transparente, contendo pequenos orifícios, para evitar a fuga dos animais. Para o controle, além dos solos naturais não contaminados, foram preparados solos artificiais de acordo com as recomendações de Garcia (1994), que sugere as seguintes proporções: 70% de areia de quartzo, 20% de caulim e 10% de casca de coco. A umidade dos solos foi ajustada de acordo com a capacidade de campo. Antes de serem introduzidos nos solos, os animais foram deixados sobre papel de filtro umedecido com água destilada, por 24 horas, para o purgamento do conteúdo intestinal. Após 14 dias de exposição, o número de organismos sobreviventes em cada réplica foi verificado. A estimativa da concentração

de Hg no solo capaz de provocar a mortalidade de 50% dos organismos (CL50) foi estimada com o emprego do software *Trimmed Spearman Karben Method*.

A seleção das concentrações de mercúrio a serem testadas, com vistas à obtenção da CL50 em diferentes solos, foi baseada nos teores de intervenções agrícola (12 mg/kg), industrial (36 mg/kg) e residencial (72 mg/kg) estipulados pela Resolução Nº 420 do CONAMA (2009), que estabelece as diretrizes para qualidade de solos no Brasil. Dessa forma, os experimentos foram, inicialmente, executados com solos artificiais contaminados com as referidas concentrações, a fim de se evitar o desperdício de amostras de solos naturais e de se minimizar a geração de resíduos. Outras concentrações de Hg foram testadas em solos artificiais conforme os resultados obtidos nesses experimentos preliminares. De acordo com a CL50 obtida em solos artificiais, foram definidas as concentrações para contaminação dos solos naturais.

## 2.5 Testes de ecotoxicidade aguda com papel de contato com *Eisenia andrei*

Esses ensaios foram executados conforme os procedimentos propostos por OECD (1984). O teste consiste na exposição de oligoquetas adultos a papéis de filtro umedecidos com uma solução de mercúrio, a fim de se avaliar a biodisponibilidade potencial através de contato dérmico. O preparo das soluções-teste foi realizado por meio de diluição de padrão de 1000 mg/L de cloreto de mercúrio. As concentrações testadas (1, 5, 8 10 e 15 mg/L) foram definidas com base nos resultados obtidos em teste agudo utilizando solos reais (item 2.4). O pH dessas soluções estava na faixa de  $5,9 \pm 0,3$ .

O ensaio foi realizado com 10 réplicas. Cada réplica

contém um organismo. Antes de serem usados nos testes, os animais foram deixados sobre papel absorvente umedecido, por 2 horas, para o purgamento do conteúdo intestinal. O experimento foi realizado na ausência de luz e à temperatura de  $20 \pm 2$  °C. O papel de filtro ( $5 \times 10$  cm<sup>2</sup>) foi umedecido com 2mL de substância-teste, enquanto ao controle adicionou-se somente água destilada. Um pedaço desse papel foi acomodado às paredes de um béquer de 50mL e, em seguida, os organismos foram introduzidos. De modo a evitar o escapamento dos animais, os béqueres foram vedados com plástico fino contendo pequenos orifícios. Duas verificações de resultados foram efetuadas: após 48 horas de exposição e ao fim do ensaio (72 horas).

## 2.6 Testes de bioacumulação com *Eisenia andrei*

Esses experimentos foram realizados de acordo com ASTM (2004). O ensaio é composto por duas etapas: bioacumulação e depuração, ambos com 28 dias de duração. O teste foi realizado com 3600 gramas de solo e 90 organismos adultos de peso semelhante para cada réplica (3). O teor de umidade do solo foi ajustado de acordo com a capacidade de campo. Similar ao teste agudo, os recipientes-testes foram cobertos com plástico transparente, contendo pequenos orifícios, a fim de evitar o escapamento dos oligoquetas. Ao longo da etapa de bioacumulação, 30 organismos foram retirados, em dias previamente definidos (4<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup>, 14<sup>o</sup>, 21<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias de teste), e enviados para a determinação do Hg total (ver item 2.2), para avaliação da dinâmica da transposição mercurial durante os 28 dias de exposição. Os fatores de bioconcentração (FBC) foram calculados com base na razão entre o teor de Hg nos organismos e a concentração

no solo. De forma a garantir a qualidade dos resultados, a concentração de mercúrio total também foi quantificada no solo-teste.

Os organismos remanescentes da etapa de bioacumulação foram transferidos para um solo artificial não contaminado, para avaliação do potencial de eliminação (depuração) de Hg pelos animais. Dessa forma, 30 indivíduos foram novamente retirados ao longo do ensaio (7<sup>o</sup>, 14<sup>o</sup>, 21<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias de teste) e enviados para a determinação do Hg total.

Esse bioensaio foi somente realizado com o Latossolo Vermelho. A concentração de Hg utilizada, nesse ensaio, foi definida com base no CENO (concentração de efeito não observado) de letalidade previamente determinada em teste agudo com o Latossolo Vermelho.

## 2.7 Testes de comportamento com *Eisenia andrei*

O teste de comportamento ou fuga ("avoidance test") foi realizado conforme o procedimento proposto por ISO (2002). Para a execução do ensaio, foram utilizados 600g de solo-teste e de solo não contaminado como controle. Recipientes plásticos (20cm de comprimento, 12cm de altura e 5cm largura) foram divididos em duas seções de mesma área, com o auxílio de um cartão plástico. Uma das seções foi preenchida com solo-teste, e a outra com a mesma quantidade de solo-controle (solo natural não contaminado). Os experimentos foram conduzidos com três réplicas.

Após a remoção do cartão plástico, 10 indivíduos adultos de peso semelhante foram colocados sobre a linha

que divide os solos. Antes de serem introduzidos nos solos, os oligoquetas foram condicionados por 24 horas em solo artificial. Durante as 48 horas de teste, os oligoquetas foram mantidos 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. Quando menos de 20% dos organismos eram encontrados no solo-teste, considerava-se que o solo tinha "função de habitat limitada" (ISO, 2002). As concentrações de Hg a serem testadas, nesses ensaios, foram selecionadas de acordo com os resultados obtidos com os bioensaios agudos.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Testes de toxicidade aguda

Os resultados do estudo exploratório com solos artificiais estão demonstrados na Figura 1. É possível observar

uma relação positiva entre o aumento da concentração de Hg no solo e as taxas de mortalidade dos organismos expostos (p

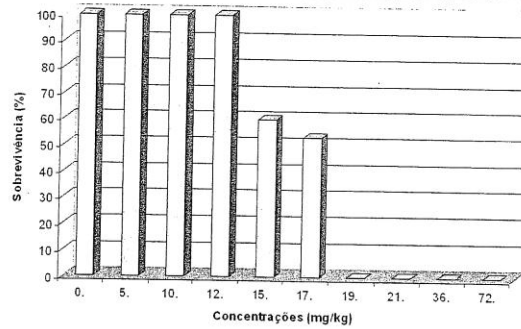


Figura 1. Níveis de sobrevivência de oligoquetas expostos em bioensaio agudo, utilizando-se solos artificiais contaminados com distintas concentrações de mercúrio divalente.

Tabela 1. Concentração letal a 50% dos organismos (CL50 - mg/kg de Hg) e intervalos de 95% de confiança obtidos para as classes de solos estudadas.

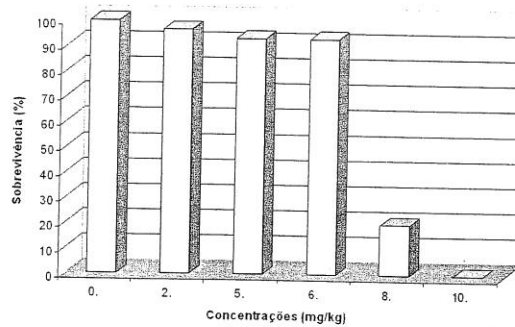
Solo	Limite Inferior	CL50	Limite Superior
Artificial	15,27	15,86	16,48
Latossolo Vermelho	18,63	19,51	20,44
Chernossolo	15,42	16,07	16,74
Latossolo Amarelo	6,5	7,03	7,59

< 0,05), com uma CL50 estimada em 15,86 mg/kg (Tabela 1). Outro aspecto interessante é que níveis significativos de mortalidade foram somente observados em concentrações acima do valor de intervenção agrícola (12 mg/kg) proposto por CONAMA (2009).

Com base nos resultados obtidos em solos artificiais, foram definidas as concentrações a serem testadas em solos naturais (Figuras 2, 3 e 4). Relações dose e resposta (mortalidade) foram detectadas para todos os solos estudados (Figuras 2, 3 e 4) ( $p < 0,05$ ). A estimativa da CL50 (Tabela 1) revelou níveis maiores de mortalidade de acordo com a

seguinte seqüência: Latossolo Amarelo > Chernossolo  $\geq$  Latossolo Vermelho. Neste sentido, é importante notar que as CL50s indicam que a toxicidade do Hg em Latossolo Amarelo foi de duas a três vezes maior do que nos demais solos estudados. Entre o Latossolo Vermelho e o Chernossolo, não é possível notar diferenças significativas, sendo a CL50 determinada para o Latossolo Vermelho ligeiramente maior. Essas constatações sugerem que as propriedades naturais dos solos, associadas a forças biológicas, desempenharam papel fundamental nos mecanismos de biodisponibilidade de Hg.

Figura 2. Níveis de sobrevivência de oligoquetas em bioensaio agudo utilizando Latossolo Amarelo contaminado com distintas concentrações de mercúrio divalente.



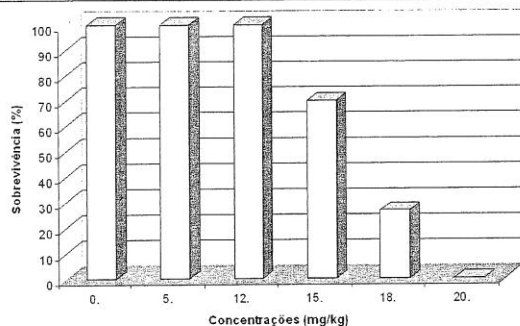
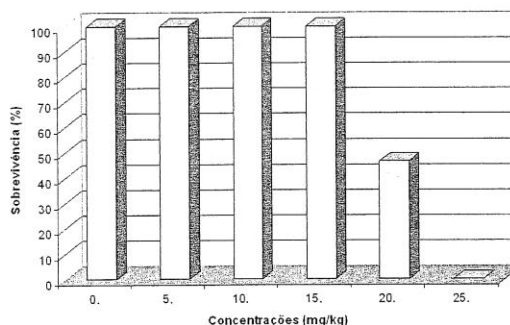


Figura 3. Níveis de sobrevivência de oligoquetas em bioensaio agudo utilizando Chernossolo contaminado com distintas concentrações de mercúrio divalente

Figura 4. Níveis de sobrevivência de oligoquetas em bioensaio agudo utilizando Latossolo Vermelho contaminado com distintas concentrações de mercúrio divalente.



No horizonte A do Latossolo Vermelho, altos teores de matéria orgânica e de oxi-hidróxidos de ferro (Kede, 2006) possivelmente funcionaram como importantes sítios de adsorção e/ou complexação do mercúrio, diminuindo sua biodisponibilidade para a solução do solo (fração geoquímica solúvel e/ou trocável). De fato, diversos autores reportam a existência de forte afinidade geoquímica entre a matéria orgânica/oxi-hidróxidos de ferro e metais tóxicos (incluindo o mercúrio) (Hylander et al., 2000; Wasserman et al., 2001), reduzindo os níveis de mobilidade e de biodisponibilidade. Além disso, altos estoques de matéria orgânica no solo representam uma maior disponibilidade de alimento para os oligoquetas e, dessa forma, animais mais saudáveis tenderiam a suportar níveis maiores de toxicidade no solo.

No Chernossolo, a presença de argilominerais expansivos possivelmente teve papel importante nos processos de biodisponibilidade, devido ao seu elevado potencial de adsorção de cátions, diminuindo a disponibilidade de mercúrio para a solução do solo. Neste sentido, Vijver et al. (2003) e Navelle (2002 apud Luz et al., 2004) reportam que a concentração de contaminantes na solução do solo desempenha papel crucial nos mecanismos de biodisponibilidade para os oligoquetas, sobretudo através do contato dérmico. Além

disso, os elevados níveis de fertilidade dessa classe de solo podem também ter contribuído para a sobrevivência dos animais (maior disponibilidade de alimento). De modo similar aos resultados obtidos nesse trabalho, Cesar et al. (2010a), ao testar a ecotoxicidade de diferentes doses de lodo-esgoto em Latossolos e Chernossolos, verificaram níveis menores de mortalidade de oligoquetas para estes últimos, onde a presença de argilominerais do tipo 2:1 aparentemente foi capaz de diminuir a biodisponibilidade dos agentes tóxicos. Matske et al. (2008), ao executar experimentos com solos acrescidos de distintos minerais de argila, também verificaram a redução dos níveis de fitotoxicidade de substâncias orgânicas associada à presença de argilominerais expansivos (esmeclitas).

Por outro lado, em contradição às demais classes de solos estudadas, o Latossolo Amarelo possui mineralogia essencialmente caulinitica e baixa CTC, além de baixos níveis de matéria orgânica e de fertilidade (Kede, 2006). Dessa forma, a ausência de sítios mais efetivos de adsorção e/ou complexação, associada à quase ausência de alimento (baixa fertilidade), pode ter estimulado a ocorrência de maiores níveis de mortalidade nesse solo, justificando a obtenção da menor CL50 entre as classes de solo investigadas (Tabela 1).

É importante destacar que os Latossolos Amarelos e Latossolos Vermelhos possuem ampla distribuição geográfica no Brasil, sobretudo na região amazônica, que conta com extensas áreas impactadas pela contaminação mercurial proveniente dos garimpos de ouro, além do Hg natural (talvez, nos últimos 10 anos, a contribuição mais importante é do Hg oriundo dos garimpos) (Bastos & Lacerda, 2004). Em termos de toxicologia e poluição de Hg, a

maior parte dos trabalhos executados na Amazônia privilegia a avaliação do risco ecológico associado à biota aquática (sobretudo a ictiofauna), em detrimento aos organismos de solo. Dessa forma, espera-se que, em um futuro próximo, os resultados obtidos, nesse trabalho, possam servir de base ao entendimento mais efetivo dos riscos associados à saúde da macrofauna dos Latossolos amazônicos, bem como de outras áreas afetadas pela contaminação mercurial.

### 3.2 Teste de toxicidade aguda com papel de contato

Os resultados desses ensaios revelaram níveis significativos de mortalidade (>20%) somente para as concentrações acima ou igual a 8 mg/L, bem como relação positiva entre o incremento de dose e resposta (mortalidade) significativa ( $p < 0,05$ ) (Figura 5). É importante destacar que esses ensaios foram realizados com uma solução de Hg divalente e, dessa forma, não leva em consideração a influência das propriedades dos solos sobre os mecanismos de biodisponibilidade. Por outro lado, esse teste simula a absorção via dermal do metal pelos oligoquetas e, dessa maneira, fornece uma estimativa da concentração de Hg iônico na solução do solo

capaz de provocar efeitos letais aos animais.

A CL50 obtida para esse ensaio, estimada em 8,71 mg/L (intervalo de 95% de confiança = 10,42 a 12,47 mg/L), é semelhante àquela encontrada para o Latossolo Amarelo. Essa observação sugere que, no caso do Latossolo Amarelo, a absorção dermal do Hg consiste na principal via de exposição ao metal, corroborando a possível existência de elevadas concentrações de Hg na solução do solo (fração geoquímica extremamente biodisponível para absorção através da epiderme).

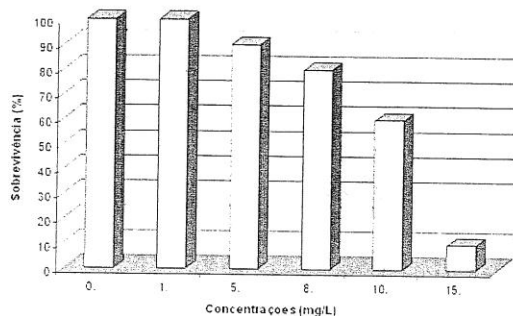


Figura 5. Níveis de sobrevivência de oligoquetas testados em ensaio toxicidade aguda, utilizando-se distintas concentrações de mercúrio divalente e papel de contato.

### 3.3 Testes de Bioacumulação

A dose de Hg utilizada, nesse ensaio, corresponde ao CENO (concentração de efeito não observado) de letalidade determinado nos ensaios agudos para todas as classes de solos estudadas (5mg/kg). Como o intuito era avaliar a acumulação e a eliminação de Hg pelos organismos, era prudente, portanto, definir uma concentração que não causasse elevada mortalidade (dose subletal).

Ao final da etapa de bioacumulação, não foi constatada mortalidade de organismos. Por outro lado, foi observada a ausência de casulos no solo-teste, sugerindo que a presença do Hg foi capaz de inibir a reprodução dos oligoquetas. De fato, Spurgeon et al. (1994 apud Luz et al., 2004) reportam que a produção de casulos pelos oligoquetas é extremamente sensível à exposição por metais pesados (incluindo Hg) e

que tal fenômeno poderia explicar a escassez ou ausência de minhocas em sítios contaminados por metais.

Os resultados referentes à determinação dos teores de Hg total (Figura 6), nos tecidos dos oligoquetas, indicaram fatores de bioconcentração, variando de, aproximadamente, 2 a 20 unidades, apontando que os animais bioacumularam o contaminante (Liu et al., 2005). Hinton e Veiga (2002) também reportaram valores de FBC, nessa faixa de variação, e sugeriram o emprego desses organismos como biondicadores de poluição mercurial em áreas de mineração artesanal de ouro.

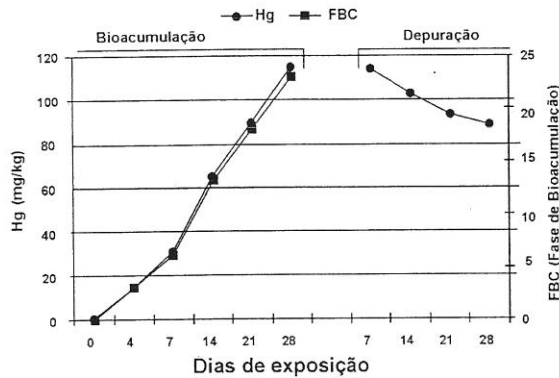
Outro aspecto importante dos nossos resultados diz respeito ao fato de que os organismos não foram capazes de depurar totalmente o estoque de Hg incorporado durante a



etapa de bioacumulação (Figura 6), indicando a ocorrência de mecanismos de fixação interna. De maneira semelhante, Burton et al. (2006), ao executarem experimentos de bioacumulação e depuração, também verificaram a ocorrência de um balanço de massa positivo de Hg total em tecidos de oligoquetas, mesmo em solos com teores de Hg total signi-

ficativamente diferentes. Neste trabalho, a concentração de Hg no tecido dos animais incrementou aproximadamente 120 vezes durante a fase de bioacumulação, enquanto a depuração observada foi de apenas 4 vezes da taxa bioacumulada.

Figura 6. Teores de mercúrio em tecidos de oligoquetas expostos a Latossolo Vermelho (fase de bioacumulação) e transferidas para solo artificial (fase de depuração).



### 3.4 Testes de comportamento

Os resultados referentes ao teste de fuga ou ensaio de comportamento estão demonstrados na Tabela 2. Os resultados sugerem a ocorrência de efeitos comportamentais mais efetivos (*avoidance responses*) de acordo com a seguinte ordem: Latossolo Amarelo > Chernossolo = Latossolo Vermelho. Embora a concentração de 5mg/kg não tenha causado qualquer efeito letal sob exposição aguda (CENO de letalidade - vide item 3.1), essa dose parece ser capaz de provocar efeitos comportamentais bastante significativos em todos os solos estudados.

Essas constatações concordam com aquelas obtidas com o bioensaio agudo, que indicam níveis maiores de biodisponibilidade para o Latossolo Amarelo. A única concentração evitada pelos oligoquetas no Latossolo Amarelo foi 0,5mg/kg (*“função de habitat limitada”*), que corresponde à concentração de prevenção proposta por CONAMA (2009), a qual foi idealizada com base em avaliação de risco

ecológico. Nas demais classes de solo, somente concentrações maiores ou iguais a 1mg/kg demonstraram *“função de habitat limitada”*.

O teste de comportamento demonstrou ser bastante sensível à presença de Hg nos solos estudados. Em um futuro próximo, esse tipo de ensaio poderá funcionar como um importante instrumento de *“screening”* da ecotoxicidade da contaminação mercurial em solos. De fato, Cesar et al. (2010b) e Luz et al. (2004) também demonstraram o elevado potencial de aplicação do teste de comportamento como ferramenta de *“screening”* da ecotoxicidade de solos acrescidos de lodo de esgoto, e degradados por atividades de mineração, respectivamente. Além de se tratar de um ensaio simples, outra vantagem do teste de comportamento é o seu curto período de duração e a possibilidade de ser realizado sem estrutura laboratorial muito complexa.

Dose (mg/kg)	Lat. Vermelho	Chernossolo	Lat. Amarelo
0,5	-	-	47%
1	43%	46%	0%
5	0%	0%	0%
10	0%	0%	0%

Tabela 2. Resultados do teste de fuga em função de distintas doses e em diferentes tipos de solo: percentual de organismos nos solos-teste após 48 horas de exposição.

#### 4. Conclusões

As propriedades dos solos estudados desempenham papel fundamental no potencial tóxico do Hg para os oligoquetas, com níveis maiores de toxicidade para o Latossolo Amarelo. A presença de matéria orgânica, oxi-hidróxidos de ferro, argilominerais expansivos, variações de CTC, e nos níveis de fertilidade, parece influenciar fortemente os mecanismos de biodisponibilidade de Hg para a fauna do solo.

Entre os bioensaios empregados, neste trabalho, o teste de fuga ou ensaio de comportamento foi o mais sensível à presença de Hg, podendo funcionar como uma ferramenta

importante no monitoramento preliminar da biodisponibilidade de Hg em solos. Esses resultados poderão subsidiar o estabelecimento de valores (doses) de referência tóxica capazes de refletir a realidade das principais ocorrências pedológicas brasileiras, fornecendo suporte fundamental ao estabelecimento de indicadores de sustentabilidade e a futuras avaliações do risco ecológico em regiões tropicais e equatoriais. Em trabalhos futuros, será monitorada a perda de biomassa em testes de bioacumulação com outros solos, para comparação com o Latossolo Vermelho.

#### 5. Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao Centro de Tecnologia Mineral (CETEM/MCT) por prover a infra-estrutura laboratorial necessária à execução desta pesquisa. O apoio financeiro do CNPq, através de concessão de bolsa a Ricardo Cesar (DTI e Doutorado), Juan Colonese (IC) e Marianna Silva (IC), foi igualmente de fundamental importância para a realização desse trabalho.

#### 6. Referências

- ALAMINO, R.C.J. 2010. A utilização de lodo de esgoto como alternativa sustentável na recuperação de solos degradados: viabilidade, avaliação e biodisponibilidade de metais. Tese de Doutorado (Geologia), Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, p.89.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2004. Standard Guide For Conducting Laboratory Soil Toxicity Or Bioaccumulation Tests With The Lumbricid Earthworm *Eisenia fetida* and the enchytraeid potworm *enchytraeus albidus*.
- BASTOS, W.R. & LACERDA, L.D. 2004 A contaminação por mercúrio na bacia do Rio Madeira: Uma breve revisão. *Geochimica Brasiliensis*, 18(2): 99-114.
- BURTON, D.T; TURLEY, S.D.; FISHER, D.J.U.; GREEN, D.J.; SHEDD, T.R. 2006. Bioaccumulation of total mercury and monomethylmercury in the earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of Water, Air and Soil Pollution*, 170: 37-54.
- CARBONELL, G., GÓMEZ, J.P.N., BABÍN, M.M., FERNÁNDEZ, C., ALONSO, E.; TARAZONA, J.V. 2009. Sewage sludge applied to agricultural soil: ecotoxicological effects on representative soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1309-1319.
- CASTILHOS, Z.C., BIDONE, E.D., LACERDA L.D. 1998. Increase of the background human exposure to mercury through fish consumption due to gold mining at the Tapajós River region, Pará State, Amazon. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61: 202-209
- CASTILHOS, Z.C., SOUTO, P.S., ALMOSNY, N., LINDE, A.R., SILVA, L.C.C.P., BIDONE, E. D. 2004. Bioassessment of ecological risk of Amazonian ichthyofauna to mercury. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72(4): 200-208
- CESAR, R.G., EGLER, S.G., ALAMINO, R.C.J., POLIVANOV, H., SILVA, R.C., CASTILHOS, Z.C., ARAÚJO, P. 2008. Avaliação do potencial tóxico de Latossolos e Chernossolos acrescidos de lodo de esgoto utilizando bioensaios com oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. *Anuário do Instituto de Geociências*, 31(2), 53-60.
- CESAR, R.G.; SILVA, M.B.; COLONESE, J.P.; EGLER, S.G.; BIDONE, E.D.; CASTILHOS, Z.C.; POLIVANOV, H. 2010a. Acute ecotoxicity and mercury bioavailability in sewage sludge amended-soils using bioassays with earthworms. In: 3rd International Eco-Health Conference, London (England), CD-Room.
- CESAR, R.G.; COLONESE, J.P.; SILVA, M.B.; EGLER, S.G.; BIDONE, E.D.; CASTILHOS, Z.C.; POLIVANOV, H. 2010b. Avoidance tests with earthworms for evaluating the ecotoxicity of sewage sludge amended-soils. In: 3rd International Eco-Health Conference, London (England), CD-Room.
- CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). 2009. Resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=506>>. Acessado em 19 abr 2010.
- GARCIA, M. 2004. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicology test methods for tropical regions. In: VLEK, P.L.G. et al. (Eds.). *Ecology and Development Series*, v. 19, Cuvillier Verlag Gottingen, 282 p.
- HINTON, J. & VEIGA, M. 2002. Earthworms as bioindicators of mercury pollution from mining and other industrial activities. *Geochemistry, Exploration, Environment, Analysis*, 2: 269-274
- HINTON J. & VEIGA, M. M (2008). The influence of organic acids on mercury bioavailability: insight from an earthworm assessment protocol. *Environmental Bioindicators*, 3: 47-67
- HYLANDER, L.D., MEILI, M.; OLIVEIRA, L., SILVA, E.C., GUIMARÃES, J., ARAÚJO, D.M., NEVES, R.P., STACHIW, R., BARROS, A.J.; SILVA, G.D. 2000. Relationship of mercury with aluminum, iron and manganese oxy-hydroxides in sediments from the Alto Pantanal, Brazil. *The Science of the Total Environment*, 260: 97-107
- 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
- KEDE, M.L.M. 2006. Comportamento do chumbo em Latossolos após aplicação de rocha fosfatada brasileira: subsídio para remediação ambiental de áreas contaminadas. *Dissertação de Mestrado (Saúde Pública)*, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), p.78.

- LACERDA, L.D. & SOLOMON, W. 1998. Mercury from gold and silver mining: a chemical time bomb? Springer Verlag, Berlin, 146 p.
- LIU, X., CHENGXIAO, H., ZHANG, S. 2005. Effects on earthworm activity on fertility and heavy metals bioavailability in sewage sludge. *Environment International*, 31: 874-879.
- LUZ, T.N., RIBEIRO, R., SOUSA, J.P. 2004. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tool for site-specific assessment of polluted soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(9): 2188-2193.
- NAHMANI, J., HODSON, M.E., BLACK, S. 2007. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution*, 145: 402-424
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). 1984. Earthworm, Acute Toxicity Tests. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 207, OECD, Paris.
- REIMANN, C. & GARRET, R. G. 2005. Geochemical background – concept and reality. *The Science of the Total Environment*, 350: 12-27
- Rodrigues-Filho, S. 1995. Metais pesados nas sub-bacias hidrográficas de Poconé e Alta Floresta. *Série Tecnologia Ambiental, Centro de Tecnologia Mineral, CETEM/MCT, Rio de Janeiro, RJ*, p. 78.
- Selivanovskaya, S.Y., Latypova V.Z. 2003. The use of bioassays for evaluating the toxicity of sewage sludge and sewage sludge-amended soil. *Journal of Soils & Sediments*, 3(2): 85-92.
- Straalen N.M., Donker M.H., Vijver M.G., Gestel C.A.M. 2005. Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. *Environmental Pollution*, 136: 409-417.
- Vijver, M.G., Vink, J.P.M., Miermans, C.J.H., Gestel, C.A.M. 2003. Oral sealing using glue: a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms. *Soil Biology & Biochemistry*, 35:125-132.
- Yallouz A.V., Cesar R.G., Egler S.G. 2008. Potential application of a semi-quantitative method for mercury determination in soils, sediments and gold mining residues. *Environmental Pollution*, 121: 429-433.
- Wasserman, J.C., Hacon, S.S., Wasserman, M.A., 2001. O ciclo do mercúrio no meio ambiente amazônico. *Mundo e Vida*, 2: 46-52
- Wasserman, J.C., Hacon S., Wasserman, M.A. 2003. Biogeochemistry of mercury in the Amazonian environment. *Ambio*, 32(5): 336-342
- WHO (World Health Organization). 1990. Environmental Health Criteria for Methylmercury. Geneva, p. 34.