

## RESÍDUOS DE ROCHAS ORNAMENTAIS E SUAS IMPLICAÇÕES MORFOLÓGICAS NO SISTEMA DIGESTÓRIO E NA OVIPOSIÇÃO DE MINHOCAS *Eisenia foetida*

**GUIZARDI, P. S.<sup>1</sup>; SILVA, D.<sup>1</sup>; NUNES, E. T.<sup>1</sup>; PRADO, A. C. A.<sup>2</sup>; FREITAS, E.<sup>3</sup>; NEVES, M.A.<sup>4</sup>; BRAGA, A. A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) / Centro de Ciências Agrárias (CCA) / Departamento de Medicina Veterinária, Alegre – ES, [polianasalve@gmail.com](mailto:polianasalve@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará (UFC) / Campus Cariri, Juazeiro do Norte – CE

<sup>3</sup> Professora da Escola Aristeu Aguiar, Alegre - ES

<sup>4</sup>Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) / Centro de Ciências Agrárias (CCA) / Departamento de Engenharia Rural, Alegre - ES

**Resumo-** O estado do Espírito Santo é considerado o maior beneficiador de rochas ornamentais do país, entretanto, os resíduos gerados durante o beneficiamento destas rochas são muitas vezes descartados de forma inadequada. O presente estudo visou analisar efeitos dos resíduos de rochas ornamentais na oviposição e no intestino de minhocas *Eisenia foetida*. Quarenta minhocas foram submetidas em misturas de solo enriquecido com resíduos provenientes das marmorarias do município de Cachoeiro de Itapemirim/ES nas proporções de 0%, 12.5%, 37.5% e 70%, correspondentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente, durante 96 dias. Após o experimento foram feitas contagens e pesagens de casulos, indivíduos jovens e adultos. Posteriormente, cinco minhocas de cada tratamento tiveram seus intestinos dissecados, fixados e processados de acordo com a rotina histológica para a análise microscópica. A partir da contagem foi verificada uma maior quantidade de casulos e indivíduos jovens nos tratamentos 1 a 3 em comparação ao tratamento T4 onde houve significativa diminuição, tanto no número quanto na massa das minhocas. Além disto, foram encontradas alterações na espessura da parede intestinal das minhocas do T4.

**Palavras-chave:** *Eisenia foetida*, resíduos ornamentais, impacto ambiental

**Área do Conhecimento:** Ecotoxicologia Terrestre

### Introdução

O Brasil se destaca mundialmente na produção de rochas ornamentais, sendo superado apenas pela Itália, China, Índia, Espanha e Portugal (ABIROCHAS, 2010). O estado do Espírito Santo é responsável pela produção de 60% dos granitos e 75% dos mármoreos brasileiros, colocando o setor como um pilar da economia capixaba e uma importante fonte de empregos (SINDIROCHAS, 2004 apud CALMON; SILVA, 2006). O setor é de extrema importância para a economia do país, porém evidencia dados alarmantes em relação à degradação ambiental devido à geração de grandes quantidades de resíduos.

A preocupação crescente com a preservação e conservação dos recursos naturais têm despertado o interesse para o enfoque ecológico, rentável e social, o qual se orienta para o uso sustentável da água, solo, fauna, flora, energia e minerais. De acordo com Power et al. (1998), um bom indicador de qualidade do solo compreende três categorias: (a) física – estrutura do solo, (b) nutricional – qualidade e quantidade de matéria orgânica e atividade microbiana, e (c) biológica –

integração da atividade dos organismos do solo e da composição química e física do solo.

Os oligoquetos são os principais representantes da macrofauna e são importantes no ciclo de nutrientes do solo, estando relacionados à decomposição do material vegetal e distribuição de nutrientes, disponibilizando-os para a absorção pelas plantas (BROWN et al. 1998). A densidade populacional e biomassa destes organismos influenciam no revolvimento do solo, mecanização, no uso de pesticidas e fertilizantes sintéticos, teor de matéria orgânica, além de características climáticas e características intrínsecas do solo, sendo assim considerados excelentes bioindicadores no uso da qualidade do solo (PAOLLETTI et al., 1998).

Ultimamente, *Eisenia foetida* vem sendo utilizada com sucesso na vermicompostagem de vários lodos oriundos da indústria e de esgotos domésticos (GHOSH, 2003; GARG et al., 2006; CLARKE et al., 2007; RAVINDRAN et al., 2008; KHWAIRAKPAM; BHARGAVA, 2009). Alguns autores verificaram os efeitos de resíduos de rochas na morfologia do clitelo e na reprodução destes organismos (SCHULDT, 2005;

KHWAIRAKPAM; BHARGAVA, 2009). Complementando os trabalhos anteriores, o objetivo do presente estudo foi analisar efeitos dos resíduos de rochas ornamentais na oviposição e no intestino de minhocas *E. foetida*.

## Metodologia

O cultivo de *E. foetida* foi realizado em substrato composto por uma mistura de cana-de-açúcar, capim-rei e esterco bovino, chamada compostagem, umedecido com água, mantido a uma temperatura entre 40°C e 60°C, com pH tendendo à basicidade e umidade entre 40% e 60%.

Para o bioensaio foram utilizadas bacias plásticas contendo misturas de compostagem e resíduo gerados durante o beneficiamento de rochas ornamentais, provenientes de serrarias localizadas na cidade de Cachoeiro de Itapemirim/ES. As proporções de resíduo utilizadas foram de 0%, 12,5%, 37,5% e 70%, correspondentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente. Foram compostas quatro réplicas para cada grupo.

Em cada bacia com um volume de 10mL, foram colocadas 40 minhocas, mantidas à temperatura de aproximadamente 24°C durante 96 dias. Decorrido este tempo, foram quantificados os casulos e de indivíduos jovens e de adultos. A biomassa de cada grupo também foi analisada.

Cinco indivíduos adultos de cada tratamento foram separados para a análise histológica e tiveram seu sistema digestivo retirado e fixado durante 24 horas em paraformoldeído a 4% e desidratados em concentrações crescentes (70, 80, 90, 95, e 100%) de álcool durante 30 minutos cada. Posteriormente, a diafanização foi realizada em dois banhos em xilol puro por 30 minutos seguidos de dois banhos em parafina estando em cassetes numa estufa a 58-60 °C. O material foi incluído em parafina de inclusão líquida, ficando em à temperatura ambiente durante dois dias para solidificar os blocos. Foram feitos cortes de 5µm em micrótomo rotativo Leica RM 2245.

Em seguida, os cortes foram colocados em lâminas de vidro e posteriormente postos em estufa para secagem. A desparafinização foi realizada com concentrações decrescentes de xilol e crescentes de álcool, até chegar ao tratamento com álcool absoluto e um banho em água destilada por 1 minuto, sendo corado pelo método Hematoxilina-Eosina para evidenciar as estruturas ácidas e básicas dos tecidos.

Após a coloração, as lâminas foram montadas seguidas das lamínulas, usando-se Bálsamo do Canadá. O material foi analisado e documentado.

## Resultados

As análises comparativas entre os quatro tratamentos em relação à quantificação e biomassa dos casulos, jovens e adultos estão demonstradas nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Pode-se verificar uma maior quantidade tanto no número quanto na biomassa de casulos e indivíduos jovens em T1, T2 e T3 e uma significativa diminuição no T4 (Figuras 1 e 2).

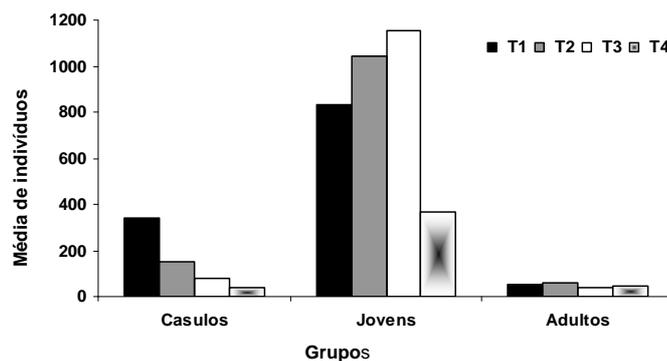


Figura 1- Média de indivíduos de cada grupo.

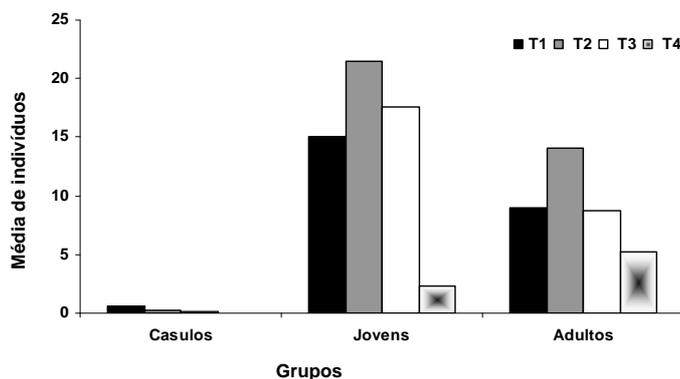
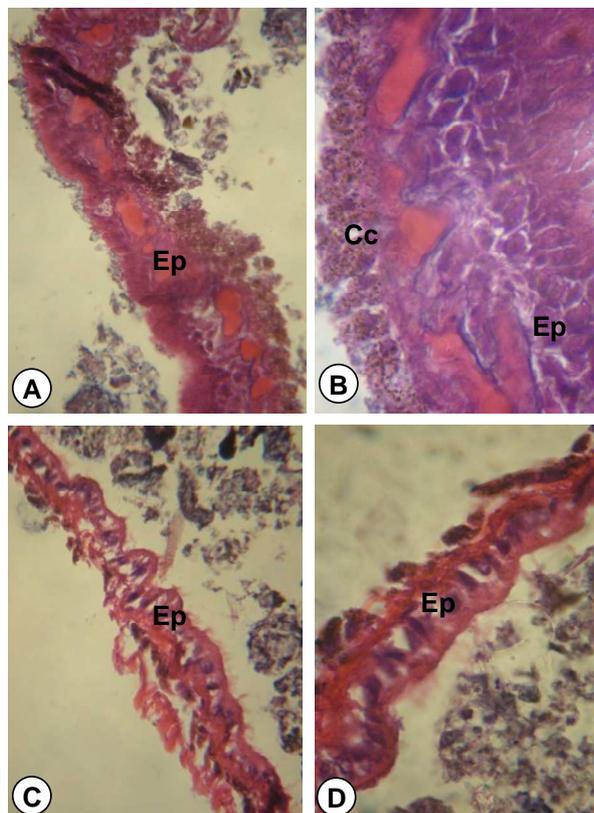


Figura 2- Média da biomassa de cada grupo.

Por meio da análise histológica, foi possível observar uma nítida diferença na coloração por Hematoxilina-Eosina dos intestinos comparando-se os T1 e T4 (Figura 3), onde de extremamente basófilo passou a apresentar intensa acidofilia. Além disto, foram encontradas alterações na espessura da parede intestinal. Intestinos daqueles animais sem contato com os resíduos (T1) apresentaram um epitélio pseudo-estratificado colunar ciliado uniforme, com algumas regiões mais baixas (Figura 3 A, 3B); já o epitélio intestinal de minhocas submetidas à mistura com 70% de resíduos apresentou-se irregular, pregueado, com células de diferentes alturas, conferindo um aspecto ondulado (Figura 3 C, 3D).

Foi possível observar que intestinos dos indivíduos do T1 (Figura 3 A) apresentam uma maior quantidade de células cloragógenas sendo liberadas a partir da superfície basal do epitélio. Os indivíduos submetidos aos tratamentos 3 e 4 tiveram pouca alteração na morfologia do seu intestino.



**Figura 3.** Análise histológica do intestino de *Eisenia Foetida* em cada tratamento analisado. **A:** Tratamento 1 (40x) **B:** Tratamento 1 (100x) **C:** Tratamento 4 (40x) **D:** Tratamento 4 (100x) (Ep= Epitélio; Cc= Células cloragógenas)

## Discussão

As minhocas são animais decompositores de matéria orgânica e estão em contato direto com o impacto negativo no solo resultante das atividades humanas e isto tem provocado alterações na dinâmica e estrutura das comunidades biológicas.

O resultado do presente estudo demonstrou efeito dos resíduos ornamentais na biologia da minhoca *E. foetida*. Não houve mortalidade durante o experimento, porém uma diminuição, no número e biomassa, daqueles submetidos à maior concentração de lama abrasiva, sugerindo que essa redução pode ser devida ao contato desses organismos com grande porcentagem de resíduos provenientes do beneficiamento de rochas ornamentais ou a redução externa de nutrientes.

Ramos et al. (2007), trabalhando com os efeitos letais dos solos em três áreas contaminadas, observaram que, apesar de não ter registrado morte das minhocas durante o experimento, houve mudança de coloração do corpo, o que indica um possível efeito sub-letal causado pela presença de mercúrio no solo. No presente estudo também foi verificado que as minhocas do tratamento 4 apresentaram, além de uma coloração mais clara, uma cutícula mais ressecada, evidenciando que o descarte dos resíduos de forma inadequada pode afetar negativamente os organismos presentes no solo. Quando a parede do corpo de um organismo em contato com substâncias tóxicas sofre alteração morfológica e anatômica, é possível considerá-los indicadores adequados para acompanhamento da poluição do solo (REDDY; RAO, 2008).

O grupo de minhocas *E. foetida* exposto às diferentes concentrações de resíduo apresentou efeito inibitório sobre a biomassa e a produção de casulos e desenvolvimento de jovens, refletindo na perda de peso e capacidade reprodutiva. Venter; Reinecke (1988) e Bustos; Goicochea (2002), também verificaram efeitos negativos na reprodução destas minhocas quando submetidas a concentrações variadas de herbicida.

Muthukaruppan et al. (2005) afirmaram que o herbicida butachlor apresentou efeito negativo sobre o crescimento do grupo de minhoca *Perionyx sansibaricus*, da mesma forma, a produção de casulo foi reduzida pelo aumento da concentração do herbicida, resultado da baixa ingestão de alimentos, decrescendo a atividade reprodutiva devido à perda de energia.

Por meio da análise histológica foi possível observar alterações na parede intestinal das minhocas submetidas à mistura com 70% de resíduo, advertindo que tais alterações morfológicas podem ser incluídas em um modelo para prever os riscos ambientais.

Estudos anteriores revelaram alterações morfológicas e histológicas quando as minhocas foram expostas a diferentes metais tóxicos e pesticidas (AMARAL et al., 2006; RAO et al., 2003). Reddy; Rao (2008) trabalhando com efeitos de herbicidas em *E. foetida* observaram que a membrana cuticular e camadas da ectoderme foram completamente desintegradas e que ocorreu profusão do epitélio glandular. Muthukaruppan et al. (2005), em investigações histológicas, revelam visíveis danos celulares epiteliais em resposta a substâncias químicas. Estes resultados lançam luz sobre o uso de minhocas como uma das importantes ferramentas biológicas em ecotoxicologia. Gao et al. (2007) afirmam que alterações patológicas no epitélio intestinal podem fornecer informações importantes

em termos de efeitos tóxicos da contaminação do solo.

Em relação aos tecidos cloragógenos, foi possível observar uma diminuição significativa de células cloragógenas na parede intestinal dos indivíduos submetidos a maior concentração de resíduos. Estes tecidos são reservas alimentares, podendo acumular grandes quantidades de Ca, P, S, Cl, Zn, Fe e K (PRENTO, 1979; FISCHER; TROMBITAS, 1980; MORGAN, 1981; MORGAN; WINTERS, 1982). Além disso, estes elementos são liberados em fluidos do corpo para aumentar a osmorregulação durante o estresse (FISCHER; MOLNAR, 1992) e com essa liberação contínua pode reduzir a biomassa desses organismos (MUTHUKARUPPAN et al., 2005).

De modo geral, *E. foetida* respondeu bem aos efeitos da toxicidade provocada pelos resíduos de beneficiamento de rochas ornamentais. A utilização de minhocas na avaliação do potencial tóxico de contaminantes em ecossistemas terrestres vem sendo usada por alguns autores (NEUHAUSER et al., 1985; LIU et al., 2005; BURTON et al., 2006).

De acordo com o que foi exposto, pode-se verificar que tais resíduos liberados diretamente no solo influenciam de forma negativa tanto na capacidade reprodutiva como na absorção de nutrientes de *E. foetida*, podendo esta ser utilizada como bioindicador de contaminação de ecossistemas terrestres por metais. Segundo Callisto e Gonçalves (2002), os bioindicadores se referem às espécies, grupos de espécies ou comunidades biológicas cuja presença, quantidade e distribuição indicam a magnitude de impactos ambientais em um ecossistema.

## Conclusão

De acordo com o que foi exposto, conclui-se que o lançamento dos resíduos de rochas ornamentais diretamente no solo influencia de forma negativa tanto na capacidade reprodutiva como na absorção de nutrientes dos organismos. A minhoca *E. foetida* prevê uma resposta sensível generalizada para poluentes, que podem integrar o efeito combinado de vários contaminantes presentes no solo.

Alterações patológicas no epitélio intestinal de *E. foetida* fornecem informações importantes sobre os efeitos tóxicos da contaminação do solo, podendo ser utilizada como sistema de alerta precoce.

## Referências

- ABIROCHAS - Associação Brasileira da Indústria de Rochas Ornamentais. Balanço das exportações e importações brasileiras de rochas ornamentais e de revestimento o período de janeiro a maio de 2010. São Paulo, ABIROCHAS. 2010.
- BROWN, G. G.; HENDRIX, P. F. E; BEARE, M. H. Earthworms (*Lumbricus Rubellus*) and the fate of 15N in surface-applied sorghum residues. **Soil Biol. Biochem.**, 30: 1701-1705, 1998.
- CALMON, J. L.; SILVA, S. A. C. Mármore e Granito no Espírito Santo: problemas ambientais e soluções. In: DOMINGUES, ANTÔNIO FÉLIX; BOSON, PATRÍCIA HELENA GAMBOGI; ALÍPAZ, SUZANA. A gestão de recursos hídricos e a mineração. Brasília: Agência Nacional de Águas – ANA, Instituto Brasileiro de Mineração - IBRAM, 2006. p. 199-231. Disponível em: <[http://www.ana.gov.br/Acoes/administrativas/CD OC/CatalogoPublicacoes\\_2006.asp](http://www.ana.gov.br/Acoes/administrativas/CD OC/CatalogoPublicacoes_2006.asp)>. Acesso em: 20 abr. 2007.
- AMARAL, A.; SOTO, M.; CUNHA, R.; MARIGOMEZ, I.; RODRIGUES, A. Bioavailability and cellular effects of metals on *Lumbricus terrestris* inhabiting volcanic soils. **Environ. Pollut.** v. 142, p. 103–108. 2006.
- BURTON, D.T; TURLEY, S.D.; FISHER, D.J.U.; GREEN, D. J.; SHEDD, T. R. Bioaccumulation of total mercury and monomethylmercury in the earthworm *Eisenia fetida*. **Journal of Water, Air and Soil Pollution**, v. 170, p. 37-54. 2006.
- CALLISTO, M.; GONÇALVES, J.F.Jr. A vida nas águas das montanhas. **Ciência Hoje**, v. 31, n.182, p. 68-71, 2002.
- CLARKE, W. P.; TAYLOR, M.; COSSINS, R. Evaluation by respirometry of the loading capacity of a high rate vermicompost bed for treating sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 98. p. 2611-2618. 2007.
- FISCHER, E.; MOLNAR, L. Environmental aspects of the chloragogenous tissue of earthworms. **Soil Biol Biochem.** v. 24, n. 12. p. 1723–1727. 1992.
- FISCHER, E.; TROMBITAS, K. X-ray microprobe analysis of chloragosomes of untreated and of EDTA treated *Lumbricus terrestris* by using air-dried smears. **Acta histochemica.** v. 66, p. 237–242. 1980.
- GAO, Y.; SUN, Z.; SUN, X.; SUN, Y.; SHI, W. Toxic effects of albendazole on adenosine triphosphatase activity and ultrastructure in *Eisenia fetida*. **Ecotoxicology and Environmental Safet.** v. 67, p. 378–384. 2007.

- GARG, P.; GUPTA, A.; SATYA, S. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. **Bioresource Technology**, v. 97. p. 391-395. 2006.
- GHOSH, C. Integrated vermi-pisciculture – an alternative option for recycling of solid municipal waste in rural Índia. **Bioresource Tecnology**, v. 93. p. 71-75. 2003.
- KHWAIRAKPAM, M.; BHARGAVA, R. Vermitechnology for sewage sludge recycling. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161. p. 948-954. 2009.
- LIU, X.; GHENHXIAO, H.; ZHANG, S. Effects on Earthworm Activity on Fertility on Heavy Metals Bioavailability in Sewage Sludge. **Environmental International Safety**, v. 57, p. 39-47. 2005.
- MORGAN, A. J. A morphological and electron microprobe study of the inorganic composition of the mineralized secretory product of the calciferous gland and chloragogenous tissue of the earthworm, *Lumbricus terrestris* L. **Cell and Tissue Research**. v. 220, p. 829–844. 1981.
- MORGAN, A. J.; WINTERS, C. The elemental composition of the chloragosomes of two earthworm species *Lumbricus terrestris* and *Allolobophora longa* determined by electron probe X-ray microanalysis of freeze-dried cryosection. **Histochemistry**, v. 73, p. 589–598. 1982.
- MUTHUKARUPPAN, G.; JANARDHANAN, S.; VIJAYALAKSHMI, G. S. Sublethal Toxicity of the Herbicide Butachlor on the Earthworm *Perionyx sansibaricus* and its Histological Changes. **JSS – J Soils & Sediments**. v. 2. p. 82-86. 2005.
- NEUHAUSER, E.F.; LOEHR, R.C.; MILLIGAN, D.L.; MALECKI, M.R. Toxicity of Metals to the Earthworms *Eisenia foetida*. **Biology and Fertility of Soils, Springer-Verlag 1**, p. 149-152. 1985.
- PAOLETTI, M. G.; BRESSAN, M. Soil invertebrates as bioindicators of human disturbance. **In Plant Sciences**. V. 15 (1): p. 21-62, 1996.
- POWER, R. F; TIARKS, A. E; BOYLE, J. R. Assesing soil quality: Practicable standard for sustainable forest productivity in United States. In: BIGHAM, J. M., KRAL, D. M; VINEY, M. K; ADAMS, M. B; RAMAKRISHNA, K; DAVIDSON, E. A. (Ed). The contribution of soil science to the development and implementation of criteria and indicators of sustainable forest management. Madison: **Soil Science Society of Americam**, 1998. p 53-80. (Special Publication 53)
- PRENTO, P. Metals and phosphate in the chloragosomes of *Lumbricus terrestris* and their possible physiological significance. **Cell and Tissue Research**. v. 196, p. 123–124. 1979.
- RAMOS, A.S.; EGLER, S.G.; CÉSAR, R.G.; RODRIGUES, A.C.; XAVIER, J.L.C.; CASTILHOS, Z.C. Testes de ecotoxicidade utilizando minhocas da espécie *Eisenia foetida* para avaliação da contaminação mercurial em solos. **XI Congresso Brasileiro de Geoquímica**. Centro de Tecnologia Mineral, Laboratório de Ecotoxicologia CETEM/MCT – Rio de Janeiro. 2007.
- RAO, J. V.; KAVITHA, P.; RAO, A. P. Comparative toxicity of tetra ethyl lead and lead oxide to earthworms (*Eisenia foetida* (Savigny)). **Environ. Res.** 92, p. 271–276. 2003.
- RAVINDRAN, B.; DINESH, S. L.; KENNEDY, L. J. e SEKARAN, G. Vermicomposting of solid waste generated from leather industries using epigeic earthworm *Eisenia foetida*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 151. p. 480-488. 2008.
- REDDY, N.C.; RAO, J. V. Biological response of earthworm, *Eisenia foetida* (Savigny) to anorganophosphorous pesticide, profenofos. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 71. p. 574–582. 2008.
- SCHULDIT, M. S.; RUMI, A. G.; GREGORIC, D. E. G. Determinación de “edades” (clases) en poblaciones de *Eisenia fetida* (Annelida: Lumbricidae) y sus implicancias reprobilógicas. **Revista del Museo de La Plata**, v.17, n 170. p. 1-10. 2005.
- VENTER, J.M.; REINECKE, A.J. The life-cycle of the compost worm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). v.23, n.3, p.161-165. **South African Journal of Zoology**. Africa do Sul. 1988.