



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOSISTEMAS AGRÍCOLAS E NATURAIS

Dara Crislaine Muniz Velho Pereira da Cruz

**Ecotoxicidade de cascalhos de perfuração de poços de petróleo: aspectos ecológicos para a
disposição em solo**

Curitibanos
2022

Dara Crislaine Muniz Velho Pereira da Cruz

Ecotoxicidade de cascalhos de perfuração de poços de petróleo: aspectos ecológicos para a disposição em solo

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Ciência.

Orientador: Prof.^a Dr. Júlia Carina Niemeyer

Curitibanos
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Cruz, Dara Crislaine Muniz Velho Pereira da
Ecotoxicidade de cascalhos de perfuração de poços de
petróleo: aspectos ecológicos para a disposição em solo /
Dara Crislaine Muniz Velho Pereira da Cruz ; orientador,
Júlia Carina Niemeyer, 2022.
87 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Campus Curitibanos, Programa de Pós-Graduação em
Ecossistemas Agrícolas e Naturais, Curitibanos, 2022.

Inclui referências.

1. Ecossistemas Agrícolas e Naturais. 2. Ecotoxicologia
terrestre. 3. Cascalho de perfuração de poços. 4. Resíduos.
5. Salinidade. I. Niemeyer, Júlia Carina . II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais. III. Título.

Dara Crislaine Muniz Velho Pereira da Cruz

Ecotoxicidade de cascalhos de perfuração de poços de petróleo: aspectos ecológicos para a disposição em solo

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Enrico Mendes Saggioro, Dr.
Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ/RJ)

Everaldo Zonta, Dr.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ/RJ)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em ciência.

Prof. Alexandre Siminski, Dr.
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profa. Júlia Carina Niemeyer, Dra.
Orientadora

Curitiba, 2022.

À minha querida mãe, Josélia, que tanto admiro, dedico o resultado do esforço e apoio ao longo de toda minha trajetória.

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento deste trabalho é fruto da colaboração, estímulo e suporte de diversas pessoas. Assim, gostaria de manifestar minha gratidão àqueles que contribuíram, em alguma etapa do meu desenvolvimento, para que o objetivo se tornasse uma realidade, através do mestrado.

À minha família, em especial a minha mãe Josélia, por seu apoio incondicional em todos os momentos, e seu esforço para me proporcionar educação e oportunidades para eu alcançasse meus objetivos. À Emanuele pela paciência, companheirismo e amor.

À Prof. Dra. Júlia C. Niemeyer, por toda a paciência e prontidão em todos os momentos. Obrigada por fazer esse sonho possível e repleto de aprendizados, agradeço por acreditar e propiciar todo o suporte necessário, sendo inspiração profissional e pessoal.

A todos os integrantes do grupo NECOTOX (Núcleo de Ecologia e Ecotoxicologia do Solo). Obrigada, em especial, à Cibele, Luan, Zaida, Fabrielle e Simone, por todo auxílio prestados nos ensaios e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Everaldo Zonta e Dr. Heraldo Namorato de Souza, por todo auxílio, sendo grandes parceiros no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas e aos professores do Programa de Pós-graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais por suas contribuições na minha formação e, em especial, ao Lucas e Saimom, agradeço por todo o suporte e apoio, e pelos bons momentos compartilhados mesmo que virtualmente.

À Petrobrás peça concessão da bolsa e financiamento, que possibilitou a execução deste trabalho de pesquisa científica.

RESUMO

A exploração de petróleo e gás tem grande importância econômica no Brasil, estando entre as principais fontes energéticas do país. A cadeia produtiva de exploração desses recursos é responsável pela geração de diversos resíduos, dentre os quais está o cascalho de perfuração de poços. Esse resíduo pode apresentar propriedades químicas de interesse aos setores agrícola não-alimentício, florestal e na recuperação de áreas degradadas, além do potencial uso na formulação de um adubo ou fertilizante organomineral. Entretanto, são necessárias evidências para encontrar proporções seguras para a sua aplicação em solo, devido a presença de possíveis contaminantes (p.ex., sais, metais e derivados do petróleo), especialmente devido às altas concentrações de sódio (Na), que podem ser prejudiciais ao ecossistema. Dessa forma, os objetivos da presente dissertação foram avaliar a ecotoxicidade de três cascalhos de perfuração: cascalho oriundo de poço *onshore* localizado em Sergipe/Brasil; e de poços *offshore*, pré-sal e pós-sal (profundidade de 4.450 a 4.520 m e 3.400 m, respectivamente) da costa brasileira, em diferentes proporções, para invertebrados do solo, e para plantas terrestres e aquáticas. Para tanto, foram testadas proporções entre 0,1 a 25%, em Solo Artificial Tropical (SAT), seguindo normas ABNT/ISO para os ensaios de: a) reprodução de colêmbolos (*Folsomia candida*, *Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta*) e enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*); b) fuga de colêmbolos e minhocas (*F. candida* e *Eisenia andrei*); c) germinação e crescimento de alface (*Lactuca sativa*) e de bracatinga (*Mimosa scabrella*), adaptado por Silva (2019), e de crescimento da macrófita aquática lemna (*Lemna minor*). Para a análise de dados empregou-se Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Dunnett ($p < 0,05$), ou por Kruskal-Wallis, quando os dados não seguiram as premissas de normalidade e homogeneidade, e para os resultados de fuga utilizou-se o teste exato de Fisher. Observou-se que os cascalhos apresentam: 1) diferença na sua toxicidade; 2) efeito negativo sobre a reprodução de colêmbolos *P. minuta* e *F. candida*, em diferentes proporções; 3) efeito negativo sobre a reprodução de enquitreídeos *E. crypticus*, nas maiores proporções; 4) efeito de fuga para colêmbolos *F. candida* e *E. andrei*; 5) menor efeito sobre o crescimento de plantas; 6) os invertebrados edáficos são mais sensíveis do que as plantas. A Concentração de Efeito para 50% (CE50) para *P. minuta*, *F. candida* e *E. crypticus* com cascalho *onshore* foi de 7,2%, 12,5% e 25,8%, para o cascalho pré-sal foi de 0,11%, 2,82% e 4,32%, e de cascalho pós-sal foi de 0,81%, 2,53% e 2,16%, respectivamente. Conclui-se que há potencial de uso dos cascalhos para a elaboração de um adubo organomineral, e que alternativas de tratamento que reduzam a concentração de Na, podem permitir o uso de proporções maiores, o que deverá ser avaliado com ensaios de ecotoxicidade. Portanto, para as próximas etapas, recomenda-se estudos com proporções de até 1% de cascalho, e deve-se considerar a concentração de Na de cada lote de cascalho.

PALAVRAS-CHAVE: Cascalho marítimo e terrestre. Ecotoxicologia terrestre. Resíduos. Salinidade.

ABSTRACT

The exploration of oil and gas has great economic importance in Brazil, being among the main energy sources in the country. The productive chain of exploration of these resources is responsible for the generation of diverse waste, among these is the drilling cuttings. This residue has chemical properties of interest to the non-food agricultural and forestry and in the recovery of degraded areas, presenting the potential use in the formulation of a fertilizer or organomineral fertilizer. However, evidence is necessary to find safe proportions for the application in soil, due to the presence of possible contaminants (e.g., salts, metals, and petroleum derivatives), especially due to the high concentrations of sodium (Na), which can be harmful to the soil ecosystem. Aims of this dissertation were to evaluate the ecotoxicity of three drilling cuttings: cuttings from an onshore well located in Sergipe/Brazil; and from offshore, pre-salt and post-salt (depth of 4,450 to 4,520 m and 3,400 m, respectively) off the Brazilian coast, in different proportion, for soil invertebrates, and terrestrial and aquatic plants. Proportions between 0.1 and 25% were tested in Tropical Artificial Soil (TAS), Following ABNT/ISO norms for the tests: a) reproduction of springtails (*Folsomia candida*, *Proisotoma minuta*, and *Sinella curviseta*) and enchytraeids (*Enchytraeus crypticus*); b) avoidance of springtails and earthworms (*F. candida* and *Eisenia andrei*); c) germination and growth of lettuce (*Lactuca sativa*) and tree species bracatinga (*Mimosa scabrella*), adapted by Silva (2019), and growth of duckweed (*Lemna minor*). For data analysis, was used Analysis of Variance (ANOVA), followed by Dunnett's test ($p < 0.05$), or by Kruskal-Wallis, when the data did not follow the assumptions of normality and homogeneity, and for the avoidance test by Fisher's exact test was used. Was it observed that the cuttings present: 1) difference in their toxicity; 2) negative effect on the reproduction of springtails *P. minuta* e *F. candida*, in different proportions; 3) negative effect on the reproduction of enchytraeids *E. crypticus*, in the highest proportions; 4) avoidance effect for springtails *F. candida* and *E. andrei*; 5) less effect on plant grow; 6) edaphic invertebrates are more sensitive than plants. The Effect Concentration for 50% (EC50) for *P. minuta*, *F. candida* and *E. crypticus* with onshore cutting was 7.2%, 12.5% and 25.8%, for pre-salt cutting it was 0.11%, 2.82% and 4.32%, and post-salt cutting was 0.81%, 2.53% and 2.16%, respectively. Was it concluded, that there is potential for the use of cuttings to the elaboration of the organomineral fertilizer, and treatment alternatives that reduce the Na concentration may allow higher proportions use, which should be measured with ecotoxicity tests. Therefore, for the next steps, it is recommended to use proportions until 1% and consider the Na concentration of each cuttings lot.

KEYWORDS: Marine and terrestrial cuttings. Salinity. Terrestrial ecotoxicology. Waste.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1: Cascalho de perfuração de poços *onshore*: efeitos para a fauna do solo e plantas

- Figura 1. Comportamento de fuga dos colêmbolos (*F. candida*), exposto ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções. Barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho *onshore*. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$). 26
- Figura 2. Número de juvenis de colêmbolos (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução, expostos a proporções de cascalho *onshore* em solo artificial tropical. (a) *F. candida* e (b) *P. minuta*. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$). 27
- Figura 3. Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução, expostos a proporções de cascalho *onshore* em solo artificial tropical. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$). 27
- Figura 4. Crescimento e biomassa (média \pm desvio padrão) de bracinga (*Mimosa scabrella*) exposta a diferentes proporções de cascalho *onshore* em solo artificial tropical. (a) altura da parte aérea, (b) comprimento da raiz, (c) massa seca da parte aérea, (d) massa seca da raiz. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$). 29
- Figura 5. Crescimento (média \pm desvio padrão) de macrófitas (*L. minor*) expostas a diferentes proporções de elutriado de cascalho *onshore* diluído em meio Steinberg. (a) número de frondes, (b) comprimento da raiz (cm), (c) biomassa (mg). Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$). 30

Capítulo 2: Cascalho de perfuração de poços *offshore* da camada de pré-sal e pós-sal: efeitos para solo da fauna e plantas

- Figura 1. Ensaio de fuga com colêmbolos (*F. candida*), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras claras representam o solo controle (SAT) e as barras escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo teste exato de Fisher ($p < 0,05$). 51
- Figura 2. Ensaio de fuga com colêmbolos (*F. candida*), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT), e as barras cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$). 51
- Figura 3. Ensaio de fuga com minhocas (*E. andrei*), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as barras escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$). 52
- Figura 4. Ensaio de fuga com minhocas (*E. andrei*), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as barras cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$). 52
- Figura 5. Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. (a) segundo tempo e (b) primeiro tempo. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$). 53
- Figura 6. Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$). 53

Figura 7. Número de juvenis de colêmbolos (<i>P. minuta</i>) (média ± desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. (a) segundo tempo e (b) primeiro tempo Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).	54
Figura 8. Número de juvenis de colêmbolos (<i>P. minuta</i>) (média ± desvio padrão) em ensaio de reprodução. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).	54
Figura 9. Número de juvenis de colêmbolos (<i>S. curviseta</i>) (média ± desvio padrão) em ensaio de reprodução com solo artificial tropical (SAT). A barra branca representa o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho do pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).	55
Figura 10. Número de juvenis de enquitreídeos (<i>E. crypticus</i>) (média ± desvio padrão) em ensaio de reprodução em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. (a) segundo tempo e (b) primeiro tempo. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).	56
Figura 11. Número de juvenis de enquitreídeos (<i>E. crypticus</i>) (média ± desvio padrão) em ensaio de reprodução com solo artificial tropical (SAT). A barra branca representa a reprodução em solo controle (SAT) e as cinzas, em solo com aplicação de cascalho do pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).	56
Figura 12. Crescimento e biomassa (média ± desvio padrão) de bracatinga (<i>M. scabrella</i>) em diferentes proporções de cascalho em solo artificial tropical (SAT): (a) altura da parte aérea (cm), (b) comprimento da raiz (cm), (c) massa seca da parte aérea e (d) massa seca da raiz. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo os testes de Dunnett (a; b) ou Dunn (c; d) ($p < 0,05$).	57
Figura 13. Crescimento e biomassa (média ± desvio padrão) de bracatinga (<i>M. scabrella</i>) em diferentes proporções de cascalho pós-sal em solo artificial tropical (SAT): (a) altura da parte aérea (cm), (b) comprimento da raiz (cm), (c) massa seca da parte aérea e (d) massa seca da raiz. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho	

pós-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo os testes de Dunnett (a; d) e Dunn (b; c) ($p < 0,05$).....	58
Figura 14. Comprimento da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (<i>L. sativa</i>), exposta a diferentes proporções de cascalho. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunn ($p < 0,05$).....	59
Figura 15. Comprimento da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (<i>L. sativa</i>), exposta a diferentes proporções de cascalho. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).....	59
Figura 16. Crescimento (média \pm desvio padrão) de macrófitas (<i>L. minor</i>) expostas a diferentes proporções de elutriato de cascalho pré-sal diluído em meio Steinberg (1:10): (a) número de frondes, (b) comprimento de raízes (cm), (c) biomassa (mg). As barras brancas representam os controles apenas com meio Steinberg (Cmeio) e realizado com SAT sem cascalho (C0), e as barras escuras os tratamentos com aplicação de cascalho. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).....	60

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1: Cascalho de perfuração de poços *onshore*: efeitos para a fauna do solo e plantas

Tabela 1. Caracterização química (teores pseudototais) de nutrientes e metais nos cascalhos <i>onshore</i> , de cascalho de perfuração do poço 7-SMC 50-D AL da UNSEAL da Petrobras.	21
Tabela 2. Concentrações de sódio mg kg ¹ (Na) respectivas as proporções dos cascalhos de perfuração, com granulometria de 1 mm (moído), <i>onshore</i> em Solo Artificial Tropical (SAT). .	28
Tabela 3. Valores da Concentração de Efeito (CE) das proporções as proporções (%) de cascalho <i>onshore</i> em Solo Artificial Tropical (SAT) para a reprodução de invertebrados de solo. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança.	28

Capítulo 2: Cascalho de perfuração de poços *offshore* da camada de pré-sal e pós-sal: efeitos para solo da fauna e plantas

Tabela 1. Caracterização química (teores pseudototais) de nutrientes e metais nos cascalhos dos poços de Pré-sal e Pós-sal.....	43
Tabela 2. Média dos valores de pH (n=6; KCL 1 mol) e condutividade elétrica inicial (água deionizada) e sódio mg kg ¹ (Na) respectivas as proporções dos cascalhos de perfuração, com granulometria de 1 mm (moído), da camada do Pré-sal e Pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT). *Unidade de medida da condutividade em microsiemens per centimeter (µS/cm) e de Na (mg kg ¹).	50
Tabela 3. Valores da Concentração de Efeito (CE) das proporções as proporções (%) de cascalho pré-sal e pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT) para a reprodução de invertebrados de solo. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANOVA Análise de Variância

CE Concentração de Efeito

CRA Capacidade de Retenção de Água

IBP Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás

ISO *International Organization for Standardization*

OECD *Organization for Economic Co-operation and Development*

SAT Solo Artificial Tropical

UFSC Universidade Federal de Santa Catarina

UFRRJ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

US-EPA United States Environmental Protection Agency

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
1 INTRODUÇÃO	19
2 MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1 Cascalho	21
2.2 Solo-teste	21
2.3 Organismos-testes	22
2.3.1 Ensaios de fuga.....	22
2.3.2 Ensaios de reprodução com colêmbolos.....	23
2.3.3 Ensaios de reprodução com enquitreídeos	23
2.3.4 Ensaio de crescimento com a espécie arbórea bracatinga	24
2.3.5 Ensaio de inibição de crescimento da macrófita aquática <i>Lemna minor</i> (Lentilha d'água). 24	
2.4 Análise de dados	25
3 RESULTADOS	26
3.1 Ensaio de fuga	26
3.2 Ensaios de reprodução de invertebrados	26
3.3 Ensaios de crescimento de plantas	28
4 DISCUSSÃO	31
4.1 Invertebrados de solo	31
4.2 Plantas	32
4 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35
1 INTRODUÇÃO	41
2 MATERIAL E MÉTODOS	43
2.1 Cascalhos	43
2.2 Solo-teste e tratamentos	43
2.3 Organismos-teste	44
2.3.1 Ensaios de fuga com colêmbolos	45
2.3.2 Ensaios de fuga com minhocas.....	45

2.3.3 Ensaio de reprodução com colêmbolos.....	46
2.3.4 Ensaio de reprodução com enquitreídeos	46
2.3.5 Ensaio de crescimento com a espécie arbórea bracatinga	47
2.3.6 Ensaio de inibição de crescimento da macrófita aquática <i>Lemna minor</i> (Lentilha d'água) .	48
2.3.7 Ensaio de germinação e crescimento de <i>Lactuca sativa</i> L. (Alface).....	48
2.4 Análise de dados	49
4 RESULTADOS	49
4.1 Condutividade e pH.....	49
4.2 Ensaio de fuga	50
4.3 Ensaio de reprodução de invertebrados.....	53
4.4 Ensaio de crescimento de plantas	56
5 DISCUSSÃO	62
5.1 Invertebrados de solo	62
5.2 Plantas	65
6 CONCLUSÃO.....	68
REFERÊNCIAS	69
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
REFERÊNCIAS	76
APÊNDICES.....	78

INTRODUÇÃO GERAL

A definição de estratégias de gestão de resíduos é uma tarefa complexa e desafiadora, que envolve diversas variáveis, e é influenciada por aspectos técnicos específicos, os quais devem ser ponderados para a escolha de meios alternativos de destinação (DE ALMEIDA; ARAÚJO; MEDEIROS, 2017; RIPA et al., 2017). A indústria petrolífera é responsável por gerar grandes volumes de resíduos líquidos e sólidos, com potencial de contaminação para o solo e a água, podendo afetar sua biota (KOEHLER, 2012). Entre os resíduos sólidos está o cascalho de perfuração de poços de petróleo, formado por fragmentos de rochas, e que pode conter fluido de perfuração, o qual pode conter elementos como a baritina ($BaSO_4$), sódio (Na), hidrocarbonetos e metais (FAM; DUSSEAULT; FOOKS, 2003; POZEBON et al., 2005; ABBE; GRIMES; FOWLER, 2011; FREITAS et al., 2015).

Em geral, as características físicas e químicas do cascalho dependem da geologia local, técnica empregada, e do tipo de fluido utilizado, assim como também dependerá do método usado para a recuperação do fluido (Al-ANSARY e Al-TABBA, 2007). Segundo a classificação de resíduos ABNT – 10004 (BRASIL, 2004), o resíduo gerado pela perfuração dos poços de petróleo, cascalhos contendo fluidos da perfuração, classificam-se como Classe II A – não perigosos e não inertes (BENAZZI, 2015).

A classificação das atividades de exploração e produção de petróleo e gás pode ser subdividida em *onshore* e *offshore*. Conforme o Decreto Federal nº 8.437 de 22/04/2015, é definido *onshore* como “ambiente terrestre ou área localizada em terra” e define *offshore* como “ambientes marinho e zona de transição terra-mar ou área localizada no mar”. De modo que a definição *onshore*, nos remete à perfuração e produção de petróleo em ambiente terrestre, e o *offshore* em marinho. Atualmente, destaca-se a relevância dos estudos com cascalho *offshore*, visto que a maior parte dos 2,9 milhões de barris/dia de petróleo produzidos no Brasil provém do petróleo do pré-sal, que alcançou a produção média de 2 milhões de barris/dia, e correspondendo a cerca de 69,4% (ANP, 2021). No Brasil, a destinação mais utilizada para o descarte do cascalho *offshore* é em mar (KOEHLER, 2012), e o cascalho *onshore* sendo em aterros industriais.

O desenvolvimento de tecnologias para o seu tratamento e gerenciamento é de interesse tanto dos órgãos ambientais quanto da indústria petrolífera. Assim, estudos têm buscado um melhor entendimento de possíveis formas de tratamento e de destinação, utilizando tecnologias disponíveis

e aplicáveis à realidade brasileira, além de uma melhor compreensão dos custos e benefícios ambientais, sociais e econômicos são desafios pela busca à melhor alternativa para a destinação final (IBP, 2021). Embora sejam materiais com constituições variáveis, apresentam componentes potencialmente reutilizáveis (ABBE; GRIMES; FOWLER, 2011) e de interesse econômico. Uma possível alternativa para destinação destes resíduos está na utilização como insumo para os setores agrícola não-alimentícios, florestais ou para recuperação de áreas degradadas. Estudos realizados por Magalhães (2016), Machado (2018) e Do Amaral Sobrinho (2018), demonstraram que, quando os resíduos são inadequadamente dispostos nos solos, podem elevar os valores de concentração de Ba e Na; entretanto, o Ba apresentava-se em baixa solubilidade, o que gera problemas somente em altas concentrações e condições extremas de redução. Os autores concluíram que o maior limitante encontrado é o Na, dentre os elementos presentes nos resíduos. Portanto, para o seu uso como insumo, é necessário indicar as proporções seguras do cascalho em solo, tanto para invertebrados como para as plantas.

Diante disso, a presente dissertação teve como objetivo avaliar a ecotoxicidade de cascalhos de perfuração com diferentes origens e profundidades, *onshore* e *offshore* (pré-sal e pós-sal), para o ecossistema solo, visando estabelecer proporções seguras para o seu uso na formulação de um adubo organomineral. De modo que, realizou-se ensaios laboratoriais de ecotoxicidade agudos e crônicos com invertebrados do solo, e ensaios de germinação e crescimento com plantas terrestres e aquáticas, por meio de elutriato na proporção 1:10, resíduo com solo:água destilada. Logo, esta dissertação foi dividida em dois capítulos:

Capítulo 1. Cascalho de perfuração de poços *onshore*: efeitos para a fauna do solo e plantas.

Capítulo 2. Cascalho de perfuração de poços *offshore* da camada de pré-sal e pós-sal: efeitos para solo da fauna e plantas.

Esta dissertação está vinculada ao Programa de Pós-graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais (PPGEAN) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus de Curitibanos, que engloba entre seus objetivos a proposição de alternativas para a sustentabilidade dos sistemas de produção.

Capítulo 1

Cascalho de perfuração de poços *onshore*: efeitos na fauna do solo e plantas

RESUMO

O cascalho de perfuração é um dentre diversos resíduos gerados na cadeia produtiva da extração do petróleo, característico por apresentar fragmentos de rocha e pela presença de fluidos de perfuração. A sua destinação apresenta um desafio por apresentar elementos como hidrocarbonetos, sais e metais, sendo característico altas concentrações de sódio (Na) e bário (Ba) que podem ocasionar problemas ambientais a depender da sua concentração. Devido grande volume gerado, há a necessidade de tratamento e destinação adequados sob a perspectiva econômica e ambiental. A aplicação no solo apresenta-se como uma alternativa de destinação e uso, considerando suas características químicas e seu potencial para uso em áreas agrícolas, florestais e em recuperação de áreas degradadas. Diante das incertezas dos seus efeitos em solo, se faz necessário identificar a sua viabilidade da perspectiva ambiental. O presente estudo teve como objetivo analisar a ecotoxicidade do cascalho em solo sob diferentes proporções (até 25%; p/p), buscando doses seguras para as aplicações, de modo a assegurar a manutenção dos serviços ecossistêmicos relacionados à qualidade do solo. Foram realizados experimentos laboratoriais e em casa de vegetação, com aplicações em solo artificial tropical, seguindo normas ABNT ou ISO: ensaios de fuga com colêmbolos (*Folsomia candida*), de reprodução com colêmbolos (*F. candida* e *Proisotoma minuta*) e enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*), de crescimento da macrófita aquática (*Lemna minor*), e germinação e crescimento da espécie arbórea pioneira bracatinga (*Mimosa scabrella*). Os resultados indicaram que proporções acima de 5% causam efeitos, principalmente para o sistema radicular das plantas, enquanto que, dentre os invertebrados, a sensibilidade para reprodução foi maior na seguinte ordem: *P. minuta* > *F. candida* > *E. crypticus*, com Concentração de Efeito para 50% (CE50) de 7,2%, 12,5% e 25,8%, respectivamente. As avaliações indicaram que a aplicação do cascalho pode gerar impactos ao ecossistema solo, a depender da sua proporção. Recomendamos avaliações a campo com as doses abaixo de 5%, além do estudo dos efeitos em solo natural e sob variações abióticas.

Palavras-chave: Ecotoxicologia terrestre. Invertebrados do solo. Resíduo. Salinidade.

1 INTRODUÇÃO

A indústria petrolífera é geradora de grandes volumes de resíduos líquidos e sólidos, com potencial de contaminação para o solo e a água, podendo afetar sua biota (KOEHLER, 2012). Dentre os materiais gerados da demanda do petróleo e gás natural estão os sólidos, fragmentos e cascalhos com fluido de perfuração, e líquidos, os fluidos de perfuração, que formam volume significativo de resíduos (MAGALHÃES et al, 2016; SAEEDI et al., 2020).

O cascalho de perfuração é gerado em grande volume, suas características apresentam-se de formas heterogêneas, a depender do local de origem (Al-ANSARY e Al-TABBA, 2007). Os cascalhos podem conter fluido de perfuração, o qual pode conter elementos como a baritina ($BaSO_4$), sódio (NaCl), hidrocarbonetos e metais pesados (FAM; DUSSEAULT; FOOKS, 2003; POZEBON et al., 2005; FREITAS et al., 2015; DE ALMEIDA; ARAÚJO; DE MEDEIROS, 2017).

Quando as substâncias com potencial contaminante presentes nos resíduos são neutralizadas ou removidas, o seu uso em solo pode ser viável (BALL; STEWART; SCHLIEPHAKE, 2012) buscando melhorar a qualidade física, química e biológica do solo, como por exemplo, na recuperação de áreas degradadas. Porém, no caso do cascalho de perfuração, seu descarte ou aplicação no solo ainda é pouco reportado em estudos, avaliando as proporções seguras, tanto para invertebrados como para as plantas, e que não acarretem em contaminação do solo e da água (FREITAS et al., 2015; DO AMARAL SOBRINHO et al., 2018). De acordo com Benazzi (2015), o cascalho *onshore*, de origem terrestre, pode apresentar efeito positivo sobre o crescimento de plantas em baixas proporções, porém os resultados indicaram uma maior sensibilidade dos organismos edáficos, no qual mesmo em baixas proporções (0,25 e 0,5%; p/p) observou-se efeitos tóxicos para a meso e macrofauna tanto em ensaios agudos como crônicos.

Os ensaios ecotoxicológicos são importantes ferramentas para avaliar o potencial de toxicidade que um resíduo, como a presença de contaminantes que não são incluídos nas análises químicas, bem como na identificação de doses potencialmente tóxica para a biota do solo (CESAR et al., 2015), de modo à auxiliar na determinação de proporções seguras e que não causem riscos para os ecossistemas. Segundo a norma ABNT NBR/ISO 15799 (ABNT, 2011a), em se tratando de áreas contaminadas ou aplicação de resíduos, tanto a função de habitat quanto a função de retenção do solo devem ser avaliadas. A primeira refere-se à manutenção das populações de

organismos terrestres, enquanto a última refere-se à capacidade do solo em reter os contaminantes, evitando a contaminação dos ecossistemas aquáticos adjacentes.

Considerando que a deposição do cascalho em solo pode influenciar o ecossistema devido a contaminantes presentes, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação do cascalho *onshore* sobre o solo para representantes da fauna edáfica, buscando determinar doses seguras para a formulação de um adubo organomineral. Foram realizados ensaios de ecotoxicidade de acordo com os protocolos ABNT/ISO para avaliar a fuga e a reprodução de colêmbolos comuns em áreas agrícolas e florestais, a reprodução de enquitreídeos, o crescimento de uma espécie arbórea pioneira e efeitos sobre o crescimento de macrófita aquática.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cascalho

O cascalho de perfuração usado nesse estudo é de origem de poços *onshore* localizado em Alagoas, Brasil, oriundos da atividade de produção da Petróleo Brasileiro S.A. (PETROBRAS) especificamente da perfuração do poço 7-SMC 50-D AL da UNSEAL pela sonda SC-82, em São Miguel dos Campos-AL. A caracterização da amostra composta por uma mistura de material coletado a cada 8 metros de profundidade de cascalho é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização química (teores pseudototais) de nutrientes e metais nos cascalhos *onshore*, de cascalho de perfuração do poço 7-SMC 50-D AL da UNSEAL da Petrobras.

Determinações	Cascalho <i>onshore</i>
----- mg kg ⁻¹ -----	-----
P	6.245,60
K	1.153,90
Ca	40.473,20
Mg	13.947,30
Fe	16.235,40
Cu	24,03
Mn	272,89
Zn	61,57
Na	5.868,34
Al	2.498,91
Pb	12,60
Cd	0,26
Ni	8,16
Cr	18,04

2.2 Solo-teste

O solo utilizado nos ensaios laboratoriais foi o solo artificial tropical (SAT) (Apêndice A), seguindo os critérios estabelecidos pela OECD 226 (OECD, 2016), composto por 75% areia fina, 20% de caulim e 5% de pó de fibra de casca de coco (p/p). O pH foi ajustado para $6,0 \pm 0,5$ com a adição de CaCO₃. Ao início de cada ensaio, todos os tratamentos tiveram sua umidade ajustada para 50% da capacidade de retenção de água.

2.3 Organismos-testes

Os ensaios de ecotoxicidade foram conduzidos utilizando as espécies *Enchytraeus crypticus* (Annelida: Enchytraeidae), *Folsomia candida* e *Proisotoma minuta* (Colembola: Isotomidae), a espécie arbórea *Mimosa scabrella* Benth. (Fabaceae) e a macrófita aquática *Lemna minor* L. (Lemnaceae).

Os invertebrados terrestres foram cultivados em ambiente controlado, com temperatura de 20 ± 2 °C, fotoperíodo de 12:12 h (claro:escuro). Os enquitreídeos (Apêndice B) foram cultivados em recipientes plásticos com tampas perfuradas contendo uma camada de SAT umedecido, seguindo as recomendações da norma ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012). Os organismos foram alimentados com farinha de aveia três vezes por semana. Os enquitreídeos usados nos ensaios de reprodução apresentavam clitelo desenvolvido.

Os colêmbolos (Apêndice C) foram cultivados em recipientes plásticos com tampas perfuradas, contendo o meio de cultivo de gesso de Paris e carvão ativado (10:1), umedecido com água destilada, alimentados com fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) três vezes por semana, seguindo as recomendações da norma ABNT NBR/ISO 11267 (ABNT, 2011). Nos ensaios, foram usados colêmbolos juvenis com 10 e 12 dias de idade, oriundos de cultivos sincronizados.

As macrófitas aquáticas (Apêndice D) foram cultivadas em recipientes plásticos com meio Steinberg, com pH ajustado para 5,5 com adição de HCl, em temperatura de 24 ± 2 °C, fotoperíodo de 16h:8h (claro:escuro), luz com de intensidade de 6.100 lux, e seguindo as recomendações da norma ISO 20079 (2005).

As sementes de bracinga (Apêndice E) foram coletadas na comunidade Dez de Novembro, no município de Fraiburgo, Santa Catarina, Brasil.

2.3.1 Ensaios de fuga

Os ensaios de fuga com colêmbolos da espécie *F. candida* seguiram a norma ISO 17512-2 (ISO, 2011). Foram avaliadas as proporções de 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1% e 10% de cascalho em SAT. Os recipientes foram divididos com um separador em duas seções, uma contendo 30 g de solo controle, e a outra contendo 30 g do solo com a aplicação de cascalho (Apêndice F). Na linha central, foram adicionados 20 organismos adultos em cada réplica. O ensaio foi realizado com

cinco réplicas para cada tratamento, sendo incubado por 48 h, sob temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12:12 h (claro:escuro). Após este período, foi reinsertada a divisória, separado o solo controle do solo contaminado, e adicionada água destilada e gotas de tinta de carimbo, possibilitando a contagem do número organismos em cada lado da caixa. Como referência, foi realizado o *dual-test*, onde ambas as seções receberam solo controle, onde é esperado se observar uma distribuição aleatória dos organismos entre os dois lados da caixa. Os ensaios de fuga com colêmbolos foram considerados válidos quando obtida a distribuição aleatória no *dual-test* e com o percentual de letalidade inferior a 20% dos organismos adultos.

2.3.2 Ensaio de reprodução com colêmbolos

Os ensaios de reprodução com colêmbolos das espécies *F. candida* e *P. minuta* (Apêndice G), seguiram as recomendações da norma ABNT NBR/ISO 11267 (ABNT, 2011). Os ensaios foram realizados em recipientes com capacidade para 125 mL, com 30 g de solo controle ou solo teste, com cinco réplicas para cada tratamento mais uma réplica adicional para determinação de pH e umidade ao final do ensaio. Dez organismos com idade entre 10 e 12 dias foram adicionados em cada réplica. Os ensaios foram incubados a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 12:12 h (claro:escuro), com adição de alimento no 1º e no 14º dia, com aproximadamente 2 mg de fermento biológico (*S. cerevisiae*). As réplicas foram abertas duas vezes na semana para permitir as trocas gasosas. A reposição da umidade perdida foi realizada semanalmente pela adição de água destilada. Os ensaios foram finalizados ao 28º dia com a adição de água e tinta de carimbo, permitindo o registro fotográfico e posterior contagem do número de juvenis com o software ImageJ (SCHNEIDER; RASBAND; ELICEIRI, 2012).

Os ensaios de reprodução com colêmbolos foram considerados válidos quando obtido no controle (SAT) no mínimo de 100 juvenis por réplica, sem exceder o coeficiente de variação de 30% e com o percentual de letalidade inferior a 20% dos organismos adultos, exceto para as espécies alternativas.

2.3.3 Ensaio de reprodução com enquitreídeos

Os ensaios de reprodução com enquitreídeos seguiram a norma ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012). Os ensaios foram realizados em recipientes com capacidade para 125 mL, com 30

g de solo controle ou solo teste, com cinco réplicas para cada tratamento mais uma réplica adicional para registro final de pH e umidade. Dez organismos clitelados foram adicionados em cada réplica. Os ensaios foram incubados a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12:12 h (claro:escuro), com adição de alimento (aprox. 25 mg de aveia em flocos finos), abertura para aeração e reposição da umidade realizados semanalmente. Os ensaios foram finalizados ao 28º dia com a adição de álcool 70% e algumas gotas de Rosa de Bengala para a fixação e coloração dos organismos (Apêndice H). A contagem foi realizada após 48 h, com o auxílio de lupa (40x).

Os ensaios de reprodução de enquitreídeos foram considerados válidos quando alcançado nos controles (SAT) no mínimo 25 juvenis por réplica, não excedendo 50% no coeficiente de variação e mortalidade dos organismos adultos inferior a 20%.

2.3.4 Ensaio de crescimento com a espécie arbórea bracatinga

Os ensaios foram realizados segundo o protocolo adaptado por Silva (2019), a partir da norma ABNT NBR/ISO 11269-2 (ABNT, 2014) para plantas agrícolas. Nesta adaptação, é proposto o uso da espécie arbórea bracatinga (*M. scabrella*), a qual é uma espécie pioneira de importância ecológica por suas interações bióticas (com bactérias fixadoras de N, polinizadores, etc.). Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, na Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos, Santa Carina. Foram avaliadas as proporções de 5; 10; 15 e 25% de cascalho adicionado ao solo artificial. Cada tratamento foi composto de cinco réplicas com aproximadamente 130 g de solo, umedecido até 50% da sua capacidade de retenção de água (CRA), onde foram adicionadas três sementes. Após o décimo dia, foi realizado o raleio, permanecendo uma plântula por réplica.

Ao final de 35 dias, foi realizada a coleta das plantas remanescentes para as análises de comprimento da raiz e parte aérea (cm), medida com o auxílio de uma régua (Apêndice I), e determinação da massa seca da raiz e parte aérea, após secagem em estufa de circulação forçada a 60°C até peso constante.

2.3.5 Ensaio de inibição de crescimento da macrófita aquática *Lemna minor* (Lentilha d'água)

Os ensaios com a macrófita aquática *L. minor* foram realizados utilizando proporções de elutriatos de cascalho *onshore*. O elutriato foi elaborado na proporção 1:10, resíduo:água destilada,

seguindo as recomendações da norma ABNT NBR 15469 (ABNT, 2015). A mistura foi agitada durante 24 horas e, após a decantação dos sólidos, foi retirado e centrifugado o sobrenadante por 30 minutos a uma velocidade de 3400 rpm. Foram avaliadas as proporções de 5, 10, 15, 20 e 25% do elutriato, diluído no meio Steinberg, o qual foi usado como controle e também para o cultivo das lemnas. Cada tratamento contou com cinco réplicas de 100 mL, em recipientes com diâmetro de 49 cm e altura de 5 cm. Em cada repetição, foram adicionadas 12 frondes de *L. minor*, sendo duas plantas com três frondes e outras três plantas com dois frondes.

O ensaio permaneceu em incubadora sob fotoperíodo de 16:8 h (claro:escuro) e temperatura 24 °C controlados durante sete dias (Apêndice J). Ao final do ensaio, foram avaliados os parâmetros: número de frondes, comprimento das raízes (cm) e biomassa (mg). Nos ensaios com as lemnas, também foram determinados os valores de pH e condutividade das diluições do elutriato. O ensaio foi considerado válido quando obtido no controle o aumento de sete vezes no número de frondes.

2.4 Análise de dados

Para a análise de dados, foi utilizado o programa estatístico R Core Team (2020), exceto para o ensaio de fuga, onde foi usado o teste exato de Fisher. Os resultados obtidos em solo teste foram comparados ao solo controle através da Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Dunnett ($p < 0,05$). A normalidade e homogeneidade das variâncias foram testadas pelo teste de Shapiro-Wilks e Bartlett, respectivamente. Os resultados dos ensaios de fuga foram analisados pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$), o qual assume o pressuposto que a hipótese nula apresenta 50% dos organismos-teste no solo com o cascalho, não havendo fuga (NATAL-DA-LUZ; RIBEIRO; SOUSA, 2004).

Para a determinação das concentrações efetivas de efeito para 20% e 50% da população, (CE20 e CE50, respectivamente), foi usada regressão não linear, com o software estatístico Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004). No qual, os modelos Exponencial Linear, Logístico e Hormesis.

3 RESULTADOS

3.1 Ensaio de fuga

Os resultados da fuga de *F. candida* demonstraram que somente a maior proporção testada apresentou efeito de fuga quando comparado ao controle ($p < 0,05$). Portanto, quando expostos ao resíduo na proporção de 10%, correspondendo a concentração de 586,83 mg kg⁻¹ de sódio (Tabela 2), os organismos apresentaram comportamento de fuga, no qual 93,2% dos colêmbolos foram encontrados no solo controle (Figura 1).

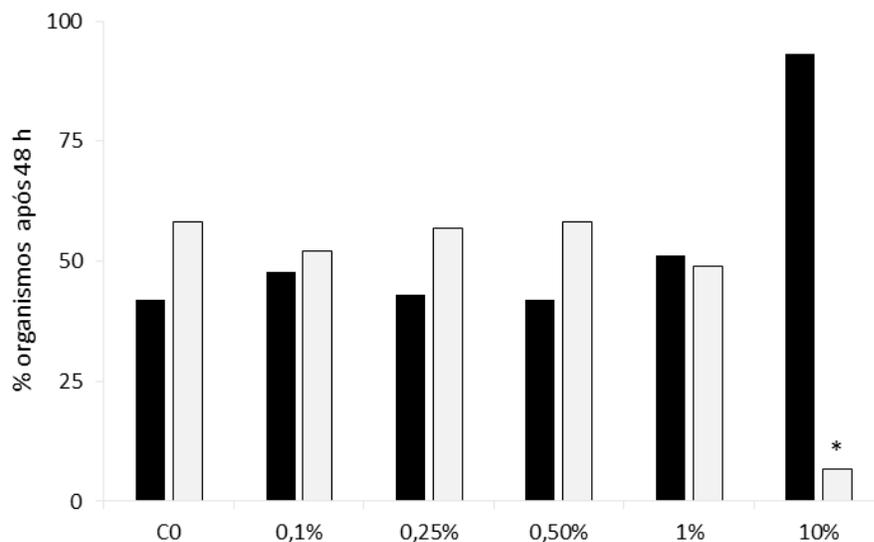


Figura 1. Comportamento de fuga dos colêmbolos (*F. candida*), exposto ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções. Barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho *onshore*. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

3.2 Ensaios de reprodução de invertebrados

Para a reprodução de colêmbolos *F. candida*, houve redução estatisticamente significativa de juvenis para na proporção de 15%, correspondendo a concentração de 880,25 mg kg⁻¹ de Na, com Concentração de Efeito CE20 5,00 (0,91-9,09) e CE50 12,51 (2,28-22,73) (Tabela 3). Para os colêmbolos *P. minuta* houve redução significativa nas proporções a partir de 5%, com 293,41 mg kg⁻¹ de Na, com CE20 2,60 (0,06-5,14) e CE50 7,24 (3,93-10,55) (Figura 2).

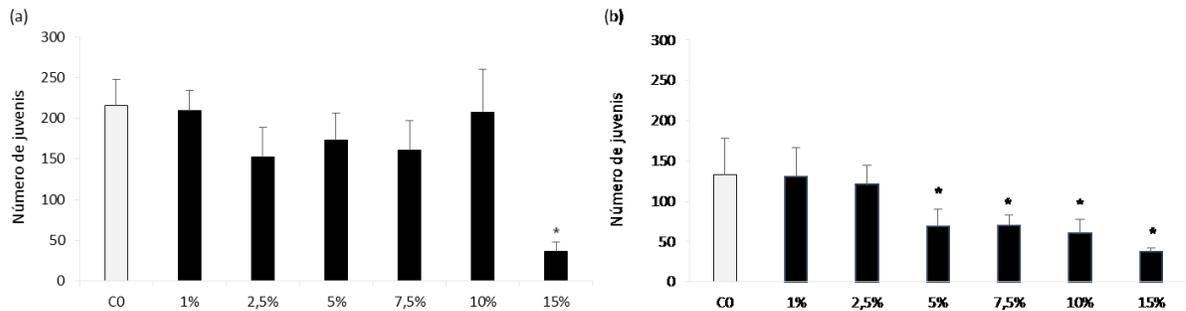


Figura 2. Número de juvenis de colêmbolos (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução, expostos a proporções de cascalho *onshore* em solo artificial tropical. (a) *F. candida* e (b) *P. minuta*. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Em relação aos enquitreídeos da espécie *E. crypticus*, representando os oligoquetas neste estudo, apresentou redução significativa de juvenis somente na proporção de 15% de cascalho, CE20 15,55 (0-37,56) e CE50 25,80 (0-76,16) (Figura 3).

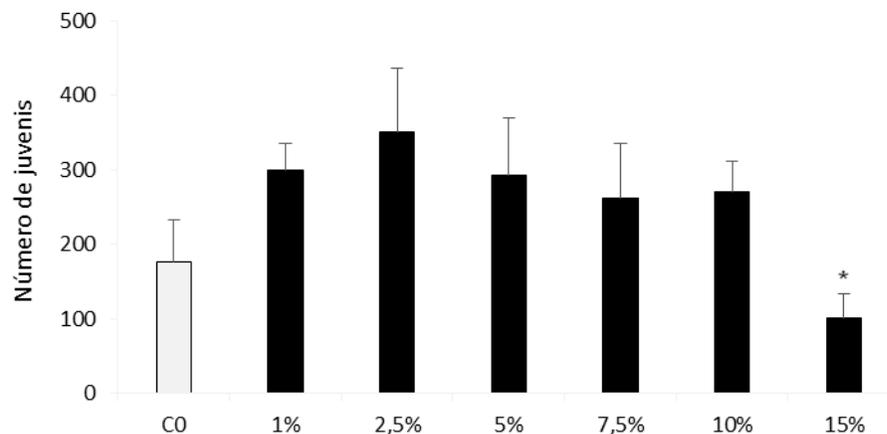


Figura 3. Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução, expostos a proporções de cascalho *onshore* em solo artificial tropical. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

A Tabela 2 apresenta os valores das proporções de cascalho e as concentrações de Na equivalentes, determinados ao início dos ensaios, com base na análise química das amostras originais de cascalho. Os valores de Na apresentaram aumento à medida que a proporção de cascalho aumentou.

Tabela 2. Concentrações de sódio mg kg⁻¹ (Na) respectivas as proporções dos cascalhos de perfuração, com granulometria de 1 mm (moído), *onshore* em Solo Artificial Tropical (SAT).

Tipo de Cascalho	Proporção de cascalho (%)	Na
<i>Onshore</i>	0,10	0,58
	0,25	14,67
	0,50	29,34
	1,00	58,68
	2,50	146,70
	5,00	293,41
	7,50	440,12
	10,00	586,83
	12,50	733,54
	15,00	880,25
	20,00	1.173,66
25,00	1.467,08	

Nos ensaios de reprodução o organismo mais sensível foi o *P. minuta*, seguido pelo *F. candida*, e o menos sensível o *E. crypticus*. Como pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Valores da Concentração de Efeito (CE) das proporções as proporções (%) de cascalho *onshore* em Solo Artificial Tropical (SAT) para a reprodução de invertebrados de solo. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança.

Cascalho	Espécie teste	Teste	Proporção	Modelo
	<i>F. candida</i>	EC20	5,00% (0,91-9,09)	Linear
		EC50	12,51% (2,28-22,73)	
<i>Onshore</i>	<i>P. minuta</i>	EC20	2,60% (0,06-5,14)	Logístico
		EC50	7,24% (3,93-10,55)	
	<i>E. crypticus</i>	EC20	15,55% (0-37,56)	Hormesis
		EC50	25,80% (0-76,16)	

3.3 Ensaios de crescimento de plantas

Os resultados dos ensaios com a bracatinga indicaram redução significativa ($p < 0,05$) para comprimento da parte aérea e raiz em (cm), e massa seca da raiz (mg), porém não foram observadas para massa seca da parte aérea (mg). Para altura da parte aérea e massa seca (mg) de raiz, as proporções de 15% e 20% apresentaram efeitos tóxicos, enquanto para o comprimento de raiz (cm), nas condições de estudo e quantificação, foi observada redução em todas as proporções (Figura 4).

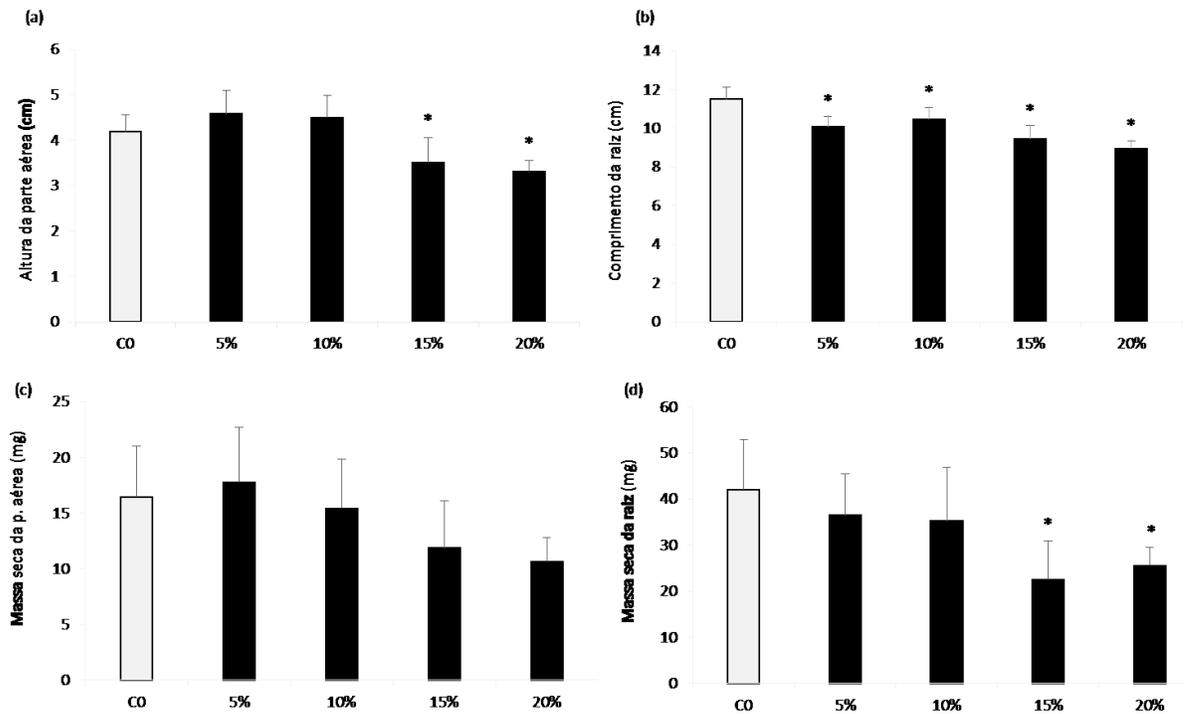


Figura 4. Crescimento e biomassa (média \pm desvio padrão) de bracinga (*Mimosa scabrella*) exposta a diferentes proporções de cascalho *onshore* em solo artificial tropical. (a) altura da parte aérea, (b) comprimento da raiz, (c) massa seca da parte aérea, (d) massa seca da raiz. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Os resultados dos ensaios realizados com a macrófita aquática lemna (*L. minor*), usando os elutriados, não foram observadas diferenças significativas para o biomassa. Entretanto, todas as proporções testadas causaram redução significativa ($p < 0,05$) tanto para o número de frondes, como para o comprimento de raízes, quando comparadas ao Controle (Figura 5).

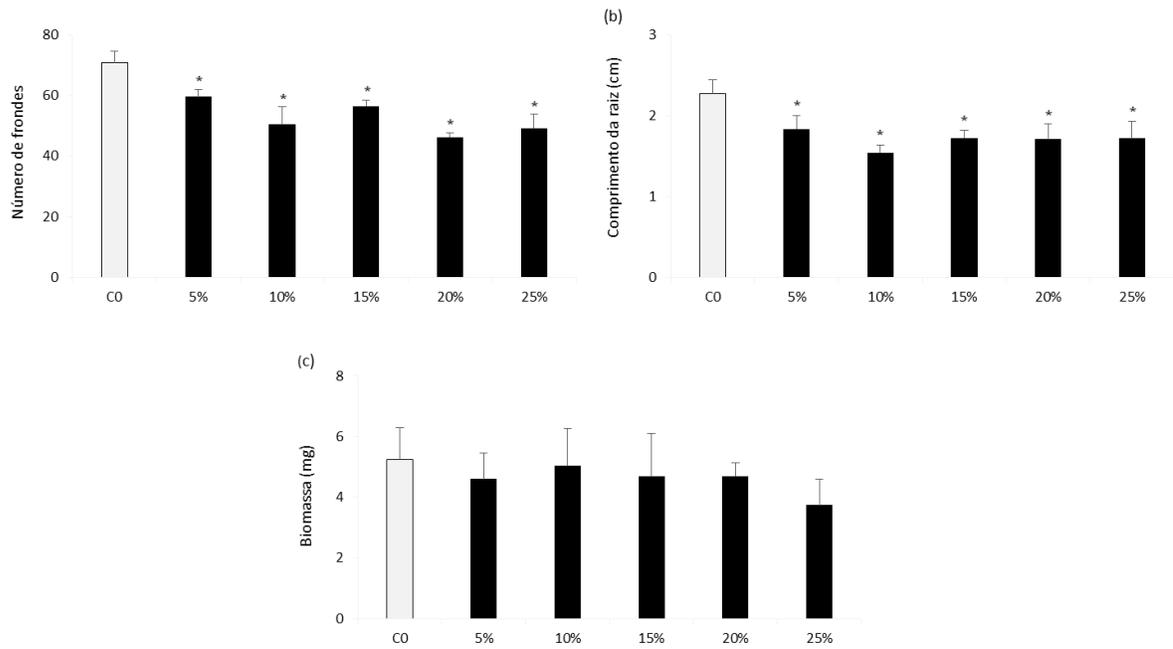


Figura 5. Crescimento (média \pm desvio padrão) de macrófitas (*L. minor*) expostas a diferentes proporções de elutriato de cascalho *onshore* diluído em meio Steinberg. (a) número de frondes, (b) comprimento da raiz (cm), (c) biomassa (mg). Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

4.1 Invertebrados de solo

No ensaio de fuga com *F. candida*, houve fuga na maior proporção (10%), onde 93,2% dos organismos foram encontrados no solo controle. Diante de mudanças na disponibilidade de íons ou água no ambiente os organismos podem ter opções no espaço, como a evasão: assim evitando o problema por migração ou simplesmente escondendo-se, ou no tempo, como a dormência ou ciclo reprodutivo que ovos resistentes permanecem no período mais difícil, sendo muito comuns entre os invertebrados (WILLMER, 2001). E o comportamento de fuga pode ser comparável à reprodução em relação à sensibilidade ao estresse salino (OWOJORI e REINECKE, 2009).

A reprodução os colêmbolos apresentaram maior sensibilidade, havendo diferença na sensibilidade entre as espécies de colêmbolos, onde *F. candida*, a espécie padrão recomendada pela Norma ISO/ABNT 11267, apresentou menor sensibilidade do que *P. minuta*, espécie comumente encontrada em áreas com plantios florestais. E dentre as três espécies de invertebrados testadas, os enquitreídeos *E. crypticus* apresentaram a menor sensibilidade.

Dentre os contaminantes encontrados no cascalho destacam-se as altas concentrações de Na e Ba, (Tabela 1). Entretanto, a alta concentração de Ba encontrada no cascalho, de acordo com Do Amaral Sobrinho et al., (2018), este elemento apresenta baixa mobilidade e biodisponibilidade nas amostras de cascalho. Em estudo com *Eisenia andrei* demonstrou-se o efeito de fuga na aplicação do resíduo de cascalho na dose de 234 Mg/ha⁻¹; no entanto, quando aplicado isolado, o BaSO₄ não apresentou efeitos, ao contrário do comportamento apresentado quando aplicado isoladamente NaCl, indicando que o elemento sódio provavelmente constitui-se no fator limitante para os organismos (MACHADO et al., 2018).

Os resultados encontrados com aplicação de irrigação com água produzida de poços de petróleo, nos tratamentos empregados, exceto osmose reversa, apresentaram altas concentrações de Na, ocasionando efeitos de fuga para minhocas da espécie *E. andrei*, e limitando a reprodução de *F. candida* e *E. crypticus* (NIEMEYER et al., 2020). Segundo Princz et al., (2012), os colêmbolos apresentaram CE₂₅ de 1300 S/cm. De modo, que as altas concentrações de Na indicam ser o principal agente tóxico para os organismos testados, não descarta-se o possível efeito conjunto de outros contaminantes.

Um estudo observou que valores acima de 1.03 dSm^{-1} ou $1030 \text{ }\mu\text{S/cm}$, podem gerar efeitos na reprodução dos organismos, como minhocas, colêmbolos e enquitreídeos (OWOJORI et al., 2009). Para minhocas da espécie *E. andrei*, a dose de cascalho de $23,4 \text{ Mg/ha}^{-1}$ correspondeu a uma redução na produção de juvenis de 83,75% no trabalho de Machado et al. (2018). Enquanto o estudo realizado com água do mar e NaCl, os enquitreídeos apresentaram sensibilidade ligeiramente maior à NaCl, a composição da água do mar podendo ser responsável para a diferença de sensibilidade (PEREIRA et al., 2015).

A sensibilidade semelhante entre enquitreídeos e colêmbolos não seria esperada, já que esses organismos apresentam vias de exposição distintas; o corpo mole dos enquitreídeos faz com que a absorção de água e oxigênio ocorra através da pele, enquanto os colêmbolos são constituídos por corpo duro e dependem de órgãos especializados para absorção de água e oxigênio (PEIJNENBURG et al., 2012). Assim, a influência causada pela salinidade no comportamento, taxa de alimentação e funções ecológicas não pode ser diretamente extrapolada para outras espécies com funções diferentes (OWOJORI et al., 2009), conforme temos observado nos ensaios laboratoriais. Portanto, a salinidade no solo, por meio da combinação de eventos primários e secundários, pode afetar negativamente os organismos edáficos (VENÂNCIO et al., 2017).

4.2 Plantas

Para a bracatinga, o cascalho gerou efeitos no crescimento nos parâmetros de biomassa, crescimento da raiz e altura da parte aérea. Como as plantas diferem no seu grau de tolerância à salinidade (MUNNS e TESTER, 2008), optamos por realizar o ensaio com a bracatinga *M. scabrella*, como representante espécies arbóreas para simular os efeitos esperados do cascalho em ambientes de recuperação ou florestais. Estudos realizados com espécies arbóreas boreais demonstraram que os solos impactados por salinidade afetaram o crescimento de todas as cinco espécies testadas, com tolerância variando de 1 a 11 dS/m, com exceção da *Solidago canadensis*, que apresentou tolerância mais alta de 15 a 31 dS/m (HOWAT, 2000).

Apesar de alguns estudos indicarem que concentrações tóxicas para invertebrados podem ser seguras para as plantas (OWOJORI e REINECKE, 2009), nos estudos com o cascalho foi possível observar que as plantas foram mais sensíveis do que algumas espécies de invertebrados às concentrações testadas. O crescimento da planta passa por duas fases de resposta à salinidade; a

primeira fase corresponde à fase osmótica rápida, inibindo o crescimento de folhas jovens, e a outra fase é iônica, mais lenta, e que acelera a senescência das folhas antigas (MUNNS e TESTER, 2008).

Os mesmos autores indicam que a salinidade do solo estressa as plantas de dois modos: 1) altas concentrações de sais tornam mais difícil a absorção de água pelas raízes, e 2) as altas concentrações de sais podem ser tóxicas quando acumulados na parte interna da planta (MUNNS e TESTER, 2008), podendo ocasionar efeitos como retardar ou impedir a germinação de sementes (VENÂNCIO; PEREIRA; LOPES, 2020). Esta fase é fundamental para a produção vegetal, podendo ser muito sensível ao estresse salino, a depender da tolerância de cada espécie de planta (HAJIHASHEMI et al., 2020).

O elutriato proveniente do cascalho apresentou efeito tóxico sobre as macrófitas (*L. minor*). A condutividade inicial apresentou valores crescentes com o aumento das proporções testadas, variando de 982 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no controle até 1518 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na maior proporção de cascalho. Outros estudos mostram a mesma tendência de redução no número de frondes com o aumento das concentrações de NaCl, (LIU; DAI; SUN, 2017), o que corrobora para o observado nesse estudo.

As macrófitas são consideradas um dos principais organismos autotróficos nos ecossistemas de pequenos lagos e rios (BOURIOUG et al., 2018), o que pode indicar efeitos deletérios para os ecossistemas aquáticos adjacentes, caso este resíduo seja disposto em altas concentrações no solo. Como a *L. minor* é sensível à salinização (LIU; DAI; SUN, 2017), os resultados encontrados podem estar relacionados à salinidade presente no resíduo. Devido ao estresse salino induzir danos oxidativos e inibição da fotossíntese nas lemnas (OUKARROUM et al., 2015).

Esses resultados sugerem que todas as concentrações testadas para plantas resultaram em diferença estatística, principalmente para o crescimento de raízes, que pode indicar impactos para os produtores primários quando o resíduo estiver em maiores proporções no solo. Porém, como as propriedades do solo influenciam a biodisponibilidade dos contaminantes, bem como sua persistência e movimento (PEIJNENBURG et al., 2012; NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017), assim estudos com solo natural são necessários.

4 CONCLUSÃO

A aplicação do cascalho de perfuração no solo pode resultar em impactos ao ecossistema solo e sua fauna, assim como, para as plantas. Esse estudo traz informações sobre as proporções que causaram efeitos para a biota exposta, sendo que acima de 5% apresentaram diferenças estatísticas para os *endpoints* testados.

Os efeitos tóxicos observados podem estar relacionados a alta concentração de sais, principalmente de Na. Recomenda-se estudos futuros com as proporções a serem usadas baseadas nas concentrações de Na do cascalho e em menores proporções de cascalho, considerando a variabilidade que pode ocorrer entre diferentes lotes.

Ressaltando a importância de avaliações ecotoxicológicas, mesmo para substâncias não incluídas na legislação. Ocorre necessidade de valores de referência para concentrações de sais em solo.

REFERÊNCIAS

- AL-ANSARY, M. S.; AL-TABBAA, A. Stabilisation/solidification of synthetic petroleum drill cuttings. **Journal of Hazardous Materials**, v. 141, n. 2, p.410-421, 2007.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 11267**: Qualidade do solo - Inibição da reprodução de *Collembola (Folsomia candida)* por poluentes do solo. Rio de Janeiro, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 11269- 2**: Qualidade do solo – Determinação dos efeitos de poluente na flora terrestre – Parte 2: Efeito de substâncias químicas na emergência e no crescimento de vegetais superiores. Rio de Janeiro, 2014.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15469**: Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras. Rio de Janeiro, 2015.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 15799**: Qualidade do solo: guia caracterização ecotoxicológica de solos e materiais de solo. Rio de Janeiro, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 16387**: Qualidade do solo — Efeitos de poluentes em Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.) - Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro, 2012.
- BALL, A. S.; STEWART, R. J.; SCHLIEPHAKE, K. A review of the current options for the treatment and safe disposal of drill cuttings. **Waste Management & Research**, 30(5), 457– 473, 2012.
- BENAZZI, E. S. **Avaliação ecotoxicológica de resíduos da perfuração petrolífera em terra**. 2015. 91 f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária) Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- BOURIOUG, M.; MAZZITELLI, J. Y.; MARTY, P.; BUDZINSKI, H.; ALEYA, L.; BONNAFÉ, E.; GERET, F. Assessment of *Lemna minor* (duckweed) and *Corbicula fluminea* (freshwater clam) as potential indicators of contaminated aquatic ecosystems: responses to presence of psychoactive drug mixtures. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p.11192-11204, 2018.
- CESAR, R.; NATAL-DA-LUZ, T.; BIDONE, E.; CASTILHOS, Z.; POLIVANOV, H.; SOUSA, J. P. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological evaluation based on bioassays with springtails and enchytraeids. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 4, p. 2916-2924, 2015.

- DE ALMEIDA, P. C.; ARAÚJO, O. Q. F.; DE MEDEIROS, J. L. Managing offshore drill cuttings waste for improved sustainability. **Journal of Cleaner Production**, v. 165, p. 143-156, 2017.
- DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; CEDDIA, M. B.; ZONTA, E.; MAGALHÃES, M. O. L.; DE FREITAS, F. C.; LIMA, E. S. A. Spatial variability and solubility of barium in a petroleum well-drilling waste disposal area. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 4, p. 1-11, 2018.
- FAM, M. A.; DUSSEAULT, M. B.; FOOKS, J. C. Drilling in mudrocks: rock behavior issues. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 38, n. 3-4, p.155-166, 2003.
- FREITAS, F. C. D.; PRESOTTO, R. A.; GENÚNCIO, G. D. C.; SOBRINHO, N. M. B. D. A.; ZONTA, E. pH, sódio, potássio, cálcio, magnésio e alumínio em solos contaminados com fluido de perfuração de poços de petróleo após ensaios de lixiviação. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1418-1423, 2015.
- HAIJHASHEMI, S.; SKALICKY, M.; BRESTIC, M.; PAVLA, V. Cross-talk between nitric oxide, hydrogen peroxide and calcium in salt-stressed *Chenopodium quinoa* Willd. At seed germination stage. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 154, p. 657-664, 2020.
- HOWAT, Darlene. **Acceptable salinity, sodicity and pH values for boreal forest reclamation**. Edmonton, AB: Environmental Sciences Division, 2000.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 17512-2**: Soil quality - Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior - Part 2: Test with collembolans (*Folsomia candida*). Geneva, 2011.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 20079**: Water quality — Determination of toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) — Duckweed growth inhibition test. Geneva, 2005.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE PETRÓLEO E GÁS. **Avaliação de opções para a destinação do cascalho gerado na perfuração de poços marítimos no Brasil**. Rio de Janeiro, 2021.
- KOEHLER, P. H. W. Diagnóstico da situação atual dos resíduos sólidos das atividades de exploração e produção de petróleo e gás natural nas bacias sedimentares marítimas do Brasil. **Brasília: IPEA**, p. 40, 2012.
- LIU, C.; DAI, Z.; SUN, H. Potential of duckweed (*Lemna minor*) for removal of nitrogen and phosphorus from water under salt stress. **Journal of Environmental Management**, v. 187, p.497-503, 2017.
- MACHADO, H. M.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. D.; CORREIA, M. E. F.; MAGALHÃES, M. O. L.; LIMA, E. S. A. Toxicity of Drilling Waste from Oil Wells on *Oligochaeta*. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 4, 2018.

- MAGALHÃES, M. O. L.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; LIMA, E. S. A.; ZONTA, E.; FREITAS, F. C. Efeito da aplicação e interação do cascalho de perfuração de poços de petróleo em solos intemperizados. **Impactos ambientais provenientes da produção agrícola: experiências argentinas e brasileiras**. São Paulo: Editora Livre Expressão, 2016.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.
- NATAL-DA-LUZ, T.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J. P. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tools for site specific assessment of polluted soils. **Environmental Toxicological Chemosphere**, 2004.
- NIEMEYER, J. C.; MEDICI, L. O.; CORREA, B.; GODOY, D.; RIBEIRO, G.; LIMA, S. D. O. F.; DE CARVALHO, D. F. Treated produced water in irrigation: Effects on soil fauna and aquatic organisms. **Chemosphere**, v. 240, p. 124791, 2020.
- NIEMEYER, J. C.; CHELINHO, S.; SOUSA, J. P. Soil ecotoxicology in Latin America: Current research and perspectives. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 7, p. 1795-1810, 2017.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Predatory mite (*Hypoaspis* (Geolaelaps) *aculeifer*) reproduction test in soil. **Guidelines for the testing of chemicals**, 1 ed. Paris, p. 26, 2016.
- OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J.; VOUA-OTOMO, P.; REINECKE, S. A. Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (*Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*). **Pedobiologia**, v. 52, n. 6, p. 351-360, 2009.
- OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J. Avoidance behaviour of two eco-physiologically different earthworms (*Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*) in natural and artificial saline soils. **Chemosphere**, v. 75, n. 3, p. 279-283, 2009.
- OUKARROUM, A.; BUSSOTTI, F.; GOLTSEV, V.; KALAJI, H. M. Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 80-88, 2015.
- PEIJNENBURG, W.; CAPRI, E.; KULA, C.; LIESS, M.; LUTTIK, R.; MONTFORTS, M.; JENSEN, J. Evaluation of exposure metrics for effect assessment of soil invertebrates. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 17, p. 1862-1893, 2012.
- PEREIRA, C. S.; LOPES, I.; SOUSA, J. P.; CHELINHO, S. Effects of NaCl and seawater induced salinity on survival and reproduction of three soil invertebrate species. **Chemosphere**, v. 135, p. 116-122, 2015.
- POZEBON, D.; LIMA, E. C.; MAIA, S. M.; FACHEL, J. M. Heavy metals contribution of non-aqueous fluids used in offshore oil drilling. **Fuel**, v. 84, n. 1, p. 53-61, 2005.

PRINCZ, J. I.; MOODY, M.; FRASER, C.; VAN DER VLIET, L.; LEMIEUX, H.; SCROGGINS, R.; SICILIANO, S. D. Evaluation of a new battery of toxicity tests for boreal forest soils: assessment of the impact of hydrocarbons and salts. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 766-777, 2012.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. **R. Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2020.

SAEEDI, M.; AMANIPOOR, H.; BATALEB-LOOIE, S.; MUMIPOUR, M. Landfill site selection for solid drilling wastes (case study: Marun oil field, southwest Iran). **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 1567-1590, 2020.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671-675, 2012.

SILVA, M. **Potencial de uso da espécie arbórea *Mimosa scabrella* Benth. em ensaios de ecotoxicidade**. 2018. 46 f. TCC - Curso de Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

STATSOFT INC. **Statistica 7** - Data analysis software system. Version 7. 2004

VENÂNCIO, C.; PEREIRA, R.; FREITAS, A. C.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DA COSTA, J. P.; DUARTE, A. C.; LOPES, I. Salinity induced effects on the growth rates and mycelia composition of basidiomycete and zygomycete fungi. **Environmental Pollution**, v. 231, p. 1633-1641, 2017.

VENÂNCIO, C., PEREIRA, R., LOPES, I. The influence of salinization on seed germination and plant growth under mono and polyculture. **Environmental Pollution**, v. 260, p. 113993, 2020.

WILLMER, P. Osmoregulation in invertebrates. **e LS**, 2001.

Capítulo 2

Cascalho de perfuração de poços *offshore* da camada de pré-sal e pós-sal: efeitos na fauna do solo e plantas

RESUMO

O cascalho de perfuração é um dentre diversos resíduos gerados na cadeia produtiva da exploração de petróleo e gás. A sua destinação permanece um desafio, visto que suas propriedades químicas podem variar, a depender de fatores como: localização, rocha e profundidade do poço. Porém, como apresenta características químicas de interesse aos setores agrícolas não alimentícios, florestais e na recuperação de áreas degradadas, apresenta-se como alternativa o seu emprego na composição de um adubo ou fertilizante organomineral. Entretanto, devido a apresentar possíveis contaminantes em sua composição, faz-se necessário avaliar os possíveis impactos de sua utilização no ecossistema terrestre. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo realizar a caracterização dos possíveis efeitos dos cascalhos de perfuração, no intuito de determinar proporções seguras para a fauna edáfica e para plantas, através do emprego de ensaios de ecotoxicidade. Para isso, foram avaliados os cascalhos oriundos de poços *offshore* da costa brasileira, camada pré-sal (4450 a 4520 m) e camada pós-sal (3.400 m). As proporções testadas variaram entre 0,25 a 15% em Solo Artificial Tropical (SAT), seguindo normas ABNT/ISO para os ensaios: reprodução com colêmbolos (*Folsomia candida*, *Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta*) e enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*), para fuga de (*F. candida* e *Eisenia andrei*), germinação e crescimento de alface (*Lactuca sativa*) e da bracatinga (*Mimosa scabrella*), adaptado por Silva (2019), e de crescimento da macrófita aquática lemna (*Lemna minor*). Para a análise de dados utilizou-se Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Dunnett ($p < 0,05$), ou por Kruskal-Wallis, quando os dados não seguiram as premissas de normalidade e homogeneidade, somente para os ensaios de fuga que se utilizou o teste exato de Fisher. Os resultados demonstraram há diferença na toxicidade entre os dois cascalhos, sendo o da camada pré-sal o mais tóxico. Para os ensaios de fuga, a sensibilidade foi maior na seguinte ordem: *F. candida* > *E. andrei*. Para os ensaios de reprodução, a sensibilidade foi maior na seguinte ordem: *P. minuta* > *F. candida* > *E. crypticus* > *S. curviseta*. A Concentração de Efeito (CE50) para *P. minuta*, *F. candida* e *E. crypticus* de cascalho pré-sal foi de 0,11%, 2,82% e 4,32%, e de cascalho pós-sal foi de 0,81%, 2,53% e 2,16%, respectivamente. O solo com cascalho não impediu a germinação, bem como não apresentou redução nos *endpoints* para alface e bracatinga, que compromettesse o desenvolvimento das plantas até o estágio avaliado, somente apresentou redução no número de frondes das lemnas. Porém, como os dados correspondem aos estágios iniciais de desenvolvimento da planta, não refletindo os possíveis efeitos a longo prazo e após sucessivas aplicações. Concluímos que a depender da origem do cascalho pode haver variação na proporção segura, e que proporções seguras para as plantas podem gerar efeitos negativos para os invertebrados edáficos, possivelmente devido as altas concentrações de sódio em sua composição. Ressalta-se que as amostras de cascalho avaliadas não passaram por nenhum tratamento, o que pode vir a ser uma alternativa para redução das concentrações de Na e consequentes efeitos.

PALAVRAS-CHAVE: Cascalho marítimo. Ecotoxicologia terrestre. Resíduos.

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2018, a produção de petróleo e gás natural correspondeu a 46,9% da energia ofertada no Brasil (EPE, 2019), evidenciando a importância desta matriz para o país. A exploração de poços de petróleo e gás *offshore*, marítimo, envolve alta complexidade e o emprego de tecnologia de última geração (IBP, 2021). Nessa etapa de perfuração de poços, um dos resíduos originados é o cascalho de perfuração, gerado em grande volume e potencialmente tóxico (BAUDER et al., 2005; SAEEDI et al., 2020), com composição heterogênea (AL-ANSARY e AL-TABBA, 2007). E a presença de fluido de perfuração é o principal agravante, dificultando a sua destinação final, o qual é constituído de elementos como baritina ($BaSO_4$), sal ($NaCl$), podendo conter hidrocarbonetos e metais que são potencialmente tóxicos (FAM; DUSSEAULT; FOOKS, 2003; POZEBON et al., 2005; DE ALMEIDA; ARAÚJO; MEDEIROS, 2017).

O potencial de ocasionar efeitos negativos depende do material, da sua concentração e também da comunidade biótica que estará exposta (EKPO e UZEGBU, 2004). Os primeiros estudos no Brasil sobre os efeitos da aplicação do cascalho de perfuração em solo (BENAZZI, 2015; DO AMARAL SOBRINHO et al., 2018; MACHADO et al., 2018) indicaram que o elemento Na é o principal limitante para sua destinação, podendo ocasionar a salinização do solo. Ainda de segundo Benazzi (2015), baixas proporções de cascalho *onshore* podem apresentar efeito positivo sobre o crescimento de plantas, porém os resultados indicaram mesmo em baixas proporções (0,25 e 0,5%) efeitos tóxicos para a fauna edáfica da meso e macrofauna tanto em ensaios agudos como crônicos.

Estudos com a água produzida em campos de petróleo também indicaram o Na como principal preocupação para sua destinação final (NIEMEYER et al., 2020; SCANLON et al., 2020). Alguns dos processos que ocasionam a salinização foram completamente compreendidos, mas outros não, sendo a magnitude de seus impactos ainda desconhecidos (FAO, 2021). Nestes casos, os solos costumam sofrer rápido declínio da sua qualidade, diminuindo a produção de biomassa, filtração natural, sequestro de carbono e outras funções fundamentais para os ecossistemas (FAO, 2021).

A implementação de política de descarte zero no mar indica que ocorrerá um aumento significativo do volume total de cascalho para tratamento e destinação final no continente, podendo gerar maior demanda para a logística de destinação desse resíduo, bem uma maior pressão aos

aspectos ambientais (IBP, 2021). Assim, a aplicação do cascalho em solo, ou seu uso em mistura para formulação de um adubo organomineral, são alternativas em estudo para substituir a sua destinação em aterros industriais (DE ALMEIDA; ARAÚJO; MEDEIROS, 2017). Para tal finalidade, faz-se necessário estabelecer proporções seguras para a biota edáfica e para as plantas. Neste sentido, estudos de ecotoxicidade intrínseca (DOMENE et al., 2011) do cascalho são fundamentais para indicar a toxicidade dos resíduos, indicando os principais limitantes de sua deposição em solo e quais as faixas aceitáveis, que não apresentem efeitos negativos para o ecossistema.

Considerando que a deposição do cascalho em solo ou a sua utilização na formulação de um adubo organomineral pode influenciar o ecossistema, este estudo tem como hipótese de que os elementos presentes nos resíduos podem, a depender da proporção e da sua origem, ocasionar efeitos negativos para a fauna edáfica e para as plantas, enquanto os ensaios de ecotoxicidade podem indicar faixas de proporções seguras. Neste capítulo, são apresentados os resultados de ensaios de ecotoxicidade com amostras de cascalho da camada de pré-sal (9-MLL-83-RJS), coletada em profundidade entre 4.450 a 4.520 m, e a amostra da camada pós-sal (7-MLL-82HA-RJS), coletada em profundidade de 3.400 m, em diversas proporções em solo artificial tropical (SAT), seguindo protocolos padronizados pela ABNT e ou ISO: fuga de colêmbolos e minhocas (*F. candida* e *E. andrei*), reprodução de colêmbolos (*F. candida*, *P. minuta* e *S. curviseta*) e de enquitreídeos (*E. crypticus*), e ensaios com plantas, ensaio de crescimento da espécie arbórea (*M. scabrella*) e de alface (*L. sativa*) e com a macrófita aquática (*L. minor*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cascalhos

As amostras dos cascalhos de perfuração foram de origem marítima, designadas como *offshore*, de profundidades e origens diferentes, apresentando características químicas distintas (Tabela 1). Ao longo deste capítulo, a amostra da camada de pré-sal (9-MLL-83-RJS), coletada em profundidade entre 4.450 a 4.520 m, e a amostra da camada pós-sal (7-MLL-82HA-RJS), coletada em profundidade de 3.400 m, serão designadas como Pré-sal e Pós-sal, respectivamente (Apêndice K).

Tabela 1. Caracterização química (teores pseudototais) de nutrientes e metais nos cascalhos dos poços de Pré-sal e Pós-sal.

Determinações	PRÉ-SAL	PÓS-SAL
	----- mg kg ⁻¹ -----	
P	5.521,50	4.126,53
K	219,68	9.303,51
Ca	49.0775,34	63.757,19
Mg	57.041,69	23.231,57
Fe	11.158,25	3.217,64
Cu	24,54	4.011,98
Mn	183,32	38,59
Zn	160,16	20,42
Na	21.559,59	19.668,52
Al	1.077,64	336,65
Pb	13,57	1,57
Cd	0,34	0,24
Ni	10,38	94,24
Cr	29,99	122,07

2.2 Solo-teste e tratamentos

Os ensaios laboratoriais foram conduzidos com solo artificial tropical (SAT), seguindo os critérios estabelecidos pela OECD 226 (OECD, 2016), composto por 75% areia fina, 20% de caulim e 5% de pó de casca de coco (p/p), com pH $6,0 \pm 0,5$, ajustado conforme a necessidade com a adição de CaCO₃. Ao início de cada ensaio, a umidade do solo foi ajustada para 50% da capacidade de retenção de água do SAT, determinada previamente de acordo com as recomendações da norma ABNT NBR ISO 11269-2 (ABNT, 2014).

As proporções de cascalho em SAT foram definidas com base em resultados de ensaios de ecotoxicidade anteriores, que analisaram o cascalho *onshore*, ou seja, de origem terrestre que foi citado no capítulo anterior. As proporções foram equivalentes aos percentuais de 0,25; 0,50; 1; 2,5; 4; 5; 7,5; 10; 12,5 e 15%. Por exemplo, a proporção de 0,25% correspondeu a 2,5 g de cascalho para 997,5 g de SAT. Como as primeiras avaliações foram conduzidas com o cascalho pré-sal, e os resultados preliminares já indicaram que as proporções acima de 10% não seriam interessantes para a continuação do estudo, optou-se por não as usar nos experimentos seguintes que incluíram o pós-sal. Como controle, foi usado SAT sem adição de cascalho.

2.3 Organismos-teste

Os ensaios de laboratório foram conduzidos utilizando organismos-teste cultivados em laboratório, na Universidade Federal de Santa Catarina – Campus de Curitiba. Os invertebrados foram cultivados em ambiente controlado, a 20 ± 2 °C, e fotoperíodo de 12:12 h de (claro:escuro), enquanto que a macrófita aquática foi cultivada em temperatura de 24 ± 2 °C, fotoperíodo de 16h:8h (claro:escuro), luz com de intensidade de 6.100 lux.

Os colêmbolos *F. candida*, *P. minuta* (Colembola:Isotomidae) e *S. curviseta* (Colembola:Entomobryidae), sendo os dois últimos espécies alternativas representantes de colêmbolos com reprodução sexuada (BUCH et al, 2016, ZHANG et al., 2019, E SILVA et al., 2021), todos foram cultivados em recipientes plásticos com perfurações nas tampas, de modo a permitir a troca gasosa, utilizando como meio de cultivo uma mistura de gesso de Paris e carvão ativado (10:1), umedecido com água destilada, e alimentados com fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) duas vezes por semana, seguindo as recomendações da norma ABNT NBR/ISO 11267 (ABNT, 2011).

Os enquitreídeos *E. crypticus* (Annelida:Enchytraeidae), foram cultivados em recipientes plásticos com perfurações nas tampas, de modo a permitir a troca gasosa, utilizando como meio de cultivo SAT, umedecido com água destilada, e sendo alimentados com farinha de aveia três vezes por semana, seguindo as recomendações da ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012).

As macrófitas aquáticas *L. minor* (lentilha d'água), foram cultivadas em recipientes plásticos com meio Steinberg, pH 5,5, sendo ajustado com adição de HCl, e seguindo as recomendações da norma ISO 20079 (2005).

As sementes da espécie arbórea bracatinga *M. scabrella*, foram coletadas de

aproximadamente 20 matrizes, no perímetro da UFSC – Campus de Curitibanos, município de Curitibanos, SC, do ciclo de 2020/2021, considerando o período de floração.

2.3.1 Ensaio de fuga com colêmbolos

Este é um ensaio de comportamento utilizado, principalmente, nas fases iniciais de triagem dos ensaios laboratoriais, e foi realizado justamente com intenção de obter uma faixa de proporções de cascalho a serem testadas. Para controle foram realizados testes *dual-control*, onde foi utilizado somente SAT em ambos os lados dos recipientes.

Os ensaios de fuga com colêmbolos da espécie *F. candida* seguiram a norma ISO 17512-2 (ISO, 2011). Foram avaliadas as proporções 0,25%, 0,50%, 1%, 2,5%, 4% e 5% de cascalho em SAT. Para cada tratamento, foram usadas cinco réplicas em recipientes de 125 ml, os quais foram divididos com um separador em duas seções, uma contendo 30 g de solo controle e a outra 30 g de solo/proporção de cascalho. Na linha central, foram adicionados 20 organismos adultos em cada réplica. Os ensaios foram mantidos em incubadora BOD a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12:12 h de (claro:escuro). Após o período de 48 h, a divisória foi reinserida em cada réplica, para separar o solo controle e o solo contaminado. Para a realização da leitura do ensaio, foram adicionadas água e tinta de carimbo, possibilitando a contagem de organismos em solo de referência e solo-teste. Os ensaios de fuga com colêmbolos foram considerados válidos quando obtida a distribuição aleatória no *dual-test* e com o percentual de letalidade inferior a 20% dos organismos adultos.

2.3.2 Ensaio de fuga com minhocas

Os ensaios de fuga com minhocas da espécie *E. andrei*, seguiram os critérios estabelecidos pela norma ABNT NBR/ISO 17512-1 (ABNT, 2011). Para cada tratamento, foram utilizadas cinco réplicas em caixas plásticas retangulares (20 x 12 x 6 cm), possuindo perfurações para haver troca gasosa com o meio externo. A cada seção das réplicas foi adicionado 350 g de solo, semelhante ao ensaio de fuga com *F. candida*, formando uma camada de aproximadamente 5 cm, na qual foram adicionados na interface entre os dois solos dez organismos adultos, com peso entre 300 e 600 mg (Apêndice L). Os ensaios foram mantidos em sala climatizada a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12:12 h de (claro:escuro). Após o período de 48 h, a divisória foi reinserida em cada réplica, e foi

registrado o número de organismos em cada seção dos recipientes. Os ensaios de fuga com minhocas foram considerados válidos quando obtida a distribuição aleatória no *dual-test* e com o percentual de organismos mortos ou perdidos forem menor que 10%.

2.3.3 Ensaios de reprodução com colêmbolos

Estes ensaios com colêmbolos das espécies *F. candida*, *P. minuta* e *S. curviseta* (Apêndice M) foram conduzidos seguindo a norma ABNT NBR ISO 11267 (ABNT, 2019). Para cada tratamento, foram utilizadas cinco réplicas com capacidade de 125 ml, no qual foram adicionados 30 g de solo e 10 organismos com idade sincronizada entre 10-12 dias, exceto para *S. curviseta* que foram adicionados 20 organismos com idade entre 20-22 dias (E SILVA et al., 2021). Todas as réplicas foram abertas duas vezes por semana para aeração, e uma vez na semana foi realizada a reposição de umidade, de acordo com o peso inicial. Os organismos foram alimentados no 1º e 14º dia, com 2 mg fermento seco granulado (*S. cerevisiae*). Os ensaios permaneceram em incubadora BOD a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 16:8 h de (claro:escuro), por 28 dias.

Para a leitura do ensaio, foram adicionadas água e tinta de carimbo em cada réplica que, em seguida foram agitadas, de modo a fazer os organismos emergirem, para realizar o registro fotográfico, e posteriormente, possibilitar a contagem dos juvenis através do programa ImageJ (SCHNEIDER; RASBAND; ELICEIRI, 2012). Os ensaios de reprodução com colêmbolos foram considerados válidos quando obtido no controle (SAT) no mínimo de 100 juvenis, sem exceder o coeficiente de variação de 30% e com o percentual de letalidade inferior a 20% dos organismos adultos, exceto para as espécies alternativas.

2.3.4 Ensaios de reprodução com enquitreídeos

Estes ensaios com enquitreídeos da espécie *E. crypticus* foram executados seguindo as recomendações da norma ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012). Para cada tratamento, foram utilizadas cinco réplicas de capacidade para 125 ml. Em cada réplica, foram adicionados 30 g de solo e 10 organismos adultos clitelados. Durante o período de duração do ensaio, as réplicas foram abertas duas vezes por semana, para permitir a aeração, e uma vez na semana foi realizada a reposição de umidade e a alimentação, aproximadamente 2 mg de aveia em flocos finos. Os ensaios permaneceram em incubadora BOD a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sob fotoperíodo de 16:8 h de (claro:escuro).

Na leitura do ensaio, após 28 dias, foi adicionado álcool 90% e 10 gotas de solução de Rosa de Bengala a 1% em etanol. Após o período mínimo de 24 h, realizou-se a contagem dos juvenis à lupa (40x). Os ensaios de reprodução de enquitreídeos foram considerados válidos quando alcançado nos controles (SAT) no mínimo 25 juvenis, não excedendo 50% no coeficiente de variação e mortalidade dos organismos adultos inferior a 20%.

2.3.5 Ensaio de crescimento com a espécie arbórea bracatinga

Estes ensaios foram executados conforme as recomendações contidas na norma ABNT NBR/ISO 11269-2 (ABNT, 2014) e as adaptações propostas por Silva (2019), para utilização da espécie arbórea bracatinga (*M. scabrella*) como organismo-teste. Para cada tratamento, contou com seis réplicas, em tubetes com 140 g de solo, e sendo adicionado três sementes de bracatinga em cada réplica. Para a superação da dormência das sementes foi realizado o método de imersão em água a 80°C, pelo período de 18 h, antes do início do ensaio, conforme o recomendado por Carvalho (2002). Todo o ensaio foi conduzido em casa de vegetação na UFSC – Campus de Curitibanos, sob temperatura de $20 \pm 2^\circ$.

Para a germinação foi estipulado o período máximo de 10 dias, decorrido esse período, foi realizado o raleio das mudas, de modo que permaneceu apenas uma plântula por réplica. Seguindo a recomendação da Regras para Análise de Sementes (RAS) Brasil (2009). Os ensaios foram conduzidos por mais 35 dias após a realização do raleio. Para a manutenção da umidade do solo foi inserido uma extremidade de um cordão em cada tubete, enquanto a outra extremidade do cordão estava submersa em um recipiente com água.

Ao final dos ensaios, as plantas foram retiradas dos tubetes para realizar a possibilitar o aferimento da altura da parte aérea e da raiz (cm), em seguida foram acondicionadas em sacos de papel, devidamente identificados. Para possibilitar a obtenção da massa aérea e da raiz as plantas, foram cortadas na região do hipocótilo, e pesadas antes e depois de secas, para a secagem foram acondicionadas em estufa com circulação de ar a 60°C, até atingirem peso constante. Os parâmetros considerados foram a porcentagem de germinação, o comprimento da raiz, altura da parte aérea (cm), e o peso úmido e seco (mg).

2.3.6 Ensaio de inibição de crescimento da macrófita aquática *Lemna minor* (Lentilha d'água)

Este ensaio foi realizado conforme as recomendações da norma ISO 20079 (ISO, 2005). Cada tratamento contou com cinco réplicas, em recipientes com capacidade para 125 ml. Para cada tratamento, foi preparado o elutriato seguindo as recomendações contidas na ABNT NBR/ISO 15469 (ABNT, 2016), na proporção 1:10 de solo: água destilada, agitados a 150 rpm por 24 h, posteriormente, permanecendo 48 h em geladeira para decantação, após esse período sendo filtrados.

Para cada réplica do ensaio foi adicionado 100 ml de elutriato, após foram adicionados 12 frondes de lemnas, sendo duas lemnas com três frondes e três lemnas com dois, de tamanhos semelhantes, e todas oriundas do mesmo lote de cultivo. O ensaio foi conduzido por sete dias, em incubadora BOD a $24 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 16:8 h de (claro:escuro), sob intensidade luminosa de aproximadamente 6.100 lux.

Ao final do ensaio, os parâmetros mensurados foram o número de frondes (n), comprimento de raiz (cm) e biomassa (mg). Para realizar a determinação de biomassa, as plantas foram armazenadas em sacos de papel identificados, e acondicionados em estufa de circulação forçada à 60°C , até atingirem peso constante. O ensaio foi considerado válido quando obtido no controle o aumento de sete vezes no número de frondes.

2.3.7 Ensaio de germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. (Alface)

Estes ensaios seguiram as recomendações da norma EPA 712-C-96-154 (US-EPA, 1995), e foi realizado com sementes de alface *L. sativa*. Para cada tratamento foi utilizado quatro réplicas, acondicionadas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro (Apêndice N). Em cada réplica foram adicionados papel para germinação de sementes (Qualy[®]), 5 ml de elutriato, preparado de acordo com a norma ABNT NBR/ISO 15469 (2015), e 10 sementes, sementes orgânicas da variedade Elisa. Os ensaios foram mantidos em incubadora BOD e temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. A primeira etapa dos ensaios foi conduzida por 48 h com ausência de claridade, no escuro, período necessário para germinação de, no mínimo, 65% das sementes no controle. Enquanto, durante a segunda com período de 7 dias foi acionado o fotoperíodo de 16:8 h de (claro:escuro), período necessário para as raízes atingissem tamanho maior do que 2 cm no controle. Ao final dos ensaios, foram contabilizadas as sementes germinadas de cada réplica, e determinado o comprimento de raiz. Os

ensaios foram considerados válidos quando a porcentagem de germinação no controle (SAT) atingiu 65%, e quando as raízes alcançaram 20 mm.

2.4 Análise de dados

Para os ensaios de comportamento de fuga de colêmbolos e minhocas foi aplicado o ensaio exato de Fisher ($p < 0,05$). Para confirmar a distribuição aleatória dos organismos no recipiente-teste, cinco réplicas de controle duplo (SAT em ambos os lados da caixa) foram realizadas em paralelo ao ensaio com solo contaminado.

Os dados dos ensaios de reprodução de invertebrados e crescimento de plantas foram verificados quanto aos pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias através dos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett ($p < 0,05$). Quando os dados cumpriram os pressupostos, foram avaliados usando análise de variância (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Dunnett ($p < 0,05$), comparando-se os resultados dos tratamentos com o solo controle (sem adição de cascalho). Os dados não paramétricos foram avaliados com o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn ($p < 0,05$). A partir das diferenças significativas, foram identificadas a maior concentração de efeito não observado (CENO) e a menor concentração de efeito observado (CEO). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2020).

Para a determinação dos valores de concentração efetiva para 20 e 50% da população (CE20 e CE50, respectivamente), foi usada regressão não linear com os modelos Exponencial Logístico e Gompertz, com auxílio do software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

4 RESULTADOS

4.1 Condutividade e pH

A Tabela 2 apresenta os valores médios de pH e condutividade das misturas, determinados ao início dos ensaios, bem como as proporções de cascalho e as concentrações de Na equivalentes, com base na análise química das amostras originais de cascalho. Os valores de pH apresentaram aumento à medida que a proporção de cascalho aumentou nas misturas, sendo os maiores valores

encontrados em misturas com o pré-sal. A mesma tendência foi observada para os valores de condutividade e Na, sendo mais altos em misturas com o pré-sal.

Tabela 2. Média dos valores de pH (n=6; KCL 1 mol) e condutividade elétrica inicial (água deionizada) e sódio mg kg⁻¹ (Na) respectivas as proporções dos cascalhos de perfuração, com granulometria de 1 mm (moído), da camada do Pré-sal e Pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT). *Unidade de medida da condutividade em microsiemens per centimeter ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e de Na (mg kg⁻¹).

Tipo de Cascalho	Proporção de cascalho (%)	pH	Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Na
Pré-sal	0	6,39	351,00	-
	0,25	7,65 \pm 0,30	319,50	53,89
	0,50	8,05 \pm 0,22	426,40	107,79
	1,00	8,34 \pm 0,56	533,50	215,60
	2,50	8,48 \pm 0,71	832,50	538,99
	4,00	8,61 \pm 0,76	1.221,00	862,38
	5,00	9,01 \pm 0,34	1.283,00	1.077,98
	7,50	9,12 \pm 0,35	1.787,00	1.616,97
	10,00	9,26 \pm 0,28	2.193,00	2.155,96
	12,50	9,40 \pm 0,30	2.720,00	2.694,95
Pós-sal	15,00	9,54 \pm 0,25	3.260,00	3.233,94
	0	6,29	266,00	-
	0,25	6,99 \pm 0,25	300,40	49,17
	0,50	7,16 \pm 0,32	399,80	98,34
	1,00	7,53 \pm 0,26	540,60	196,69
	2,50	8,07 \pm 0,28	783,40	491,71
	4,00	8,34 \pm 0,32	933,20	786,74
	5,00	8,34 \pm 0,27	1.171,00	983,43
	7,50	8,54 \pm 0,19	1.666,00	1.475,14
	10,00	8,58 \pm 0,24	2.190,00	1.966,85

4.2 Ensaios de fuga

Os resultados dos ensaios de fuga com colêmbolos da espécie *F. candida*, com o cascalho do pré-sal, apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nas proporções a partir de 0,50% de cascalho, quando comparadas ao controle (Figura 1). Os resultados com cascalho do pós-sal apresentaram fuga apenas nas proporções de 4% e 5%, enquanto que em 0,25% apresentou comportamento atípico (Figura 2).

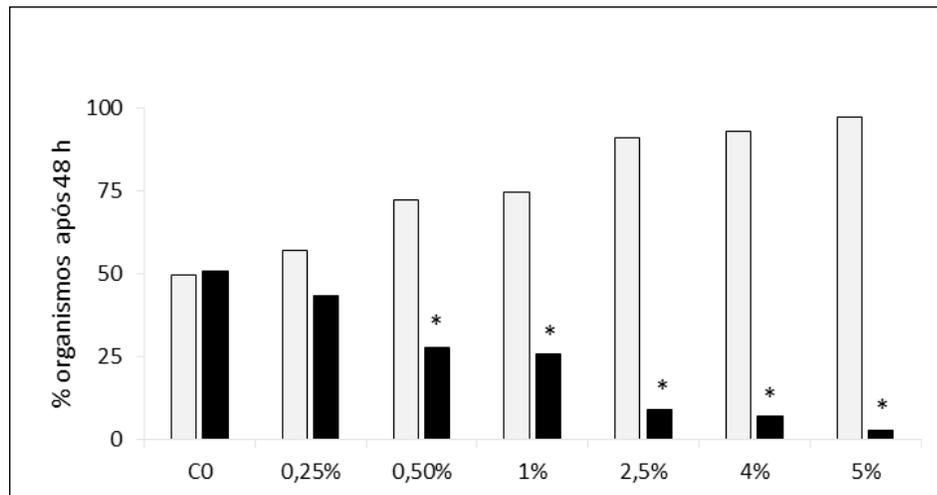


Figura 1. Ensaio de fuga com colêmbolos (*F. candida*), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras claras representam o solo controle (SAT) e as barras escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

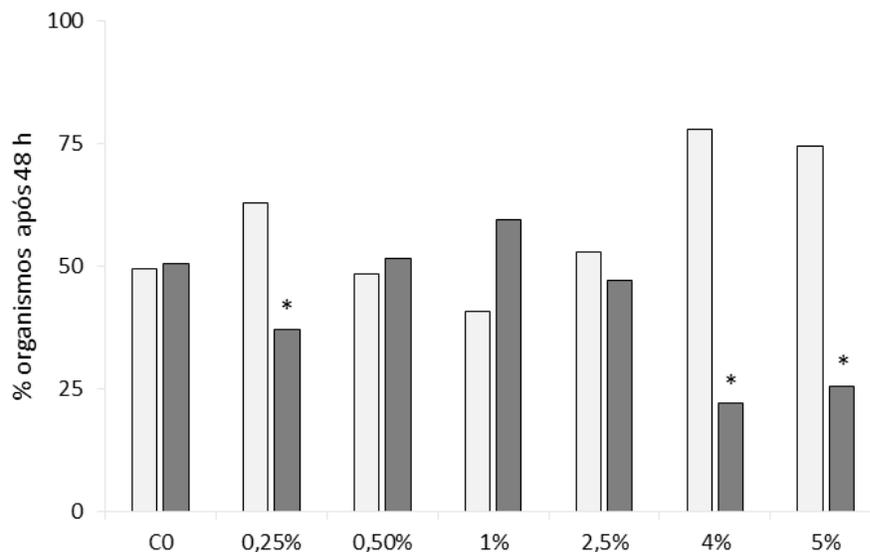


Figura 2. Ensaio de fuga com colêmbolos (*F. candida*), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT), e as barras cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

Os resultados dos ensaios de fuga com minhocas (*E. andrei*) com o cascalho do pré-sal apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nas proporções a partir de 2,5% de cascalho, quando comparado ao controle (Figura 3), enquanto que o ensaio com cascalho do pós-sal apresentou

resultado semelhante, entretanto nas menores proporções observou-se maior número de organismos-teste no lado com cascalho (Figura 4).

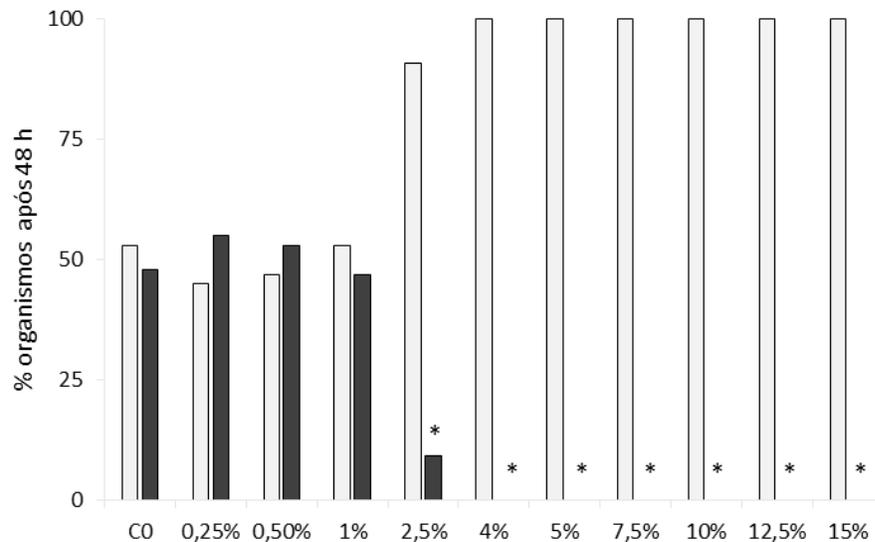


Figura 3. Ensaio de fuga com minhocas (*E. andrei*), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as barras escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

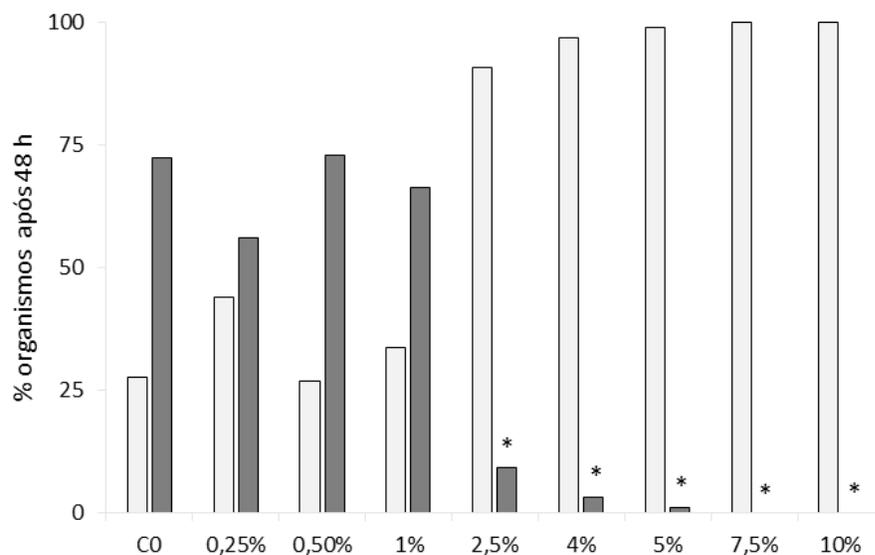


Figura 4. Ensaio de fuga com minhocas (*E. andrei*), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as barras cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

4.3 Ensaios de reprodução de invertebrados

Os resultados da reprodução de colêmbolos da espécie *F. candida* (Apêndice O) com o cascalho do pré-sal apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) em proporções a partir de 1% (Figura 5), com inibição total a partir de 7,5%, apresentado os valores de CE20 = 1,88% (1,18-2,58) e CE50 = 2,82% (2,25-3,39) (Tabela 3). Os resultados com o cascalho do pós-sal apresentaram redução somente em proporções a partir de 4% de cascalho (Figura 6), apresentado valor de CE20 = 1,98% (0,82-3,14) e CE50 = 2,53% (0,82-3,14) (Tabela 3).

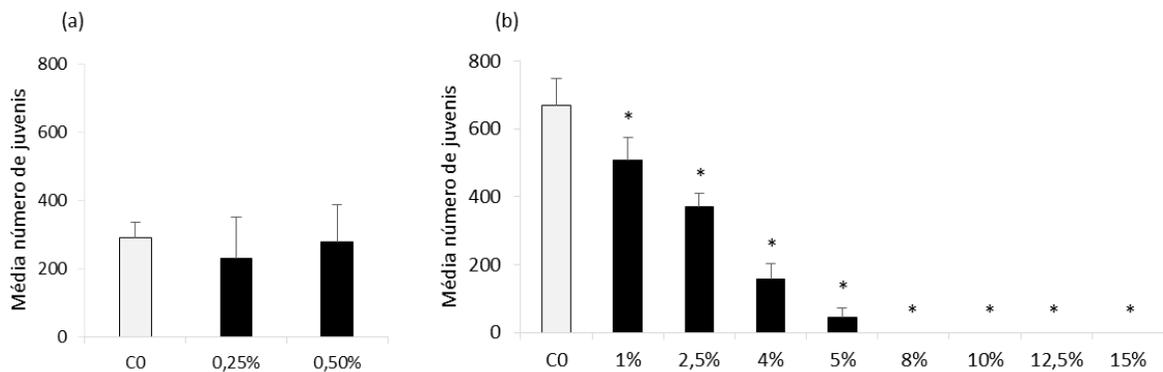


Figura 5. Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. (a) segundo tempo e (b) primeiro tempo. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

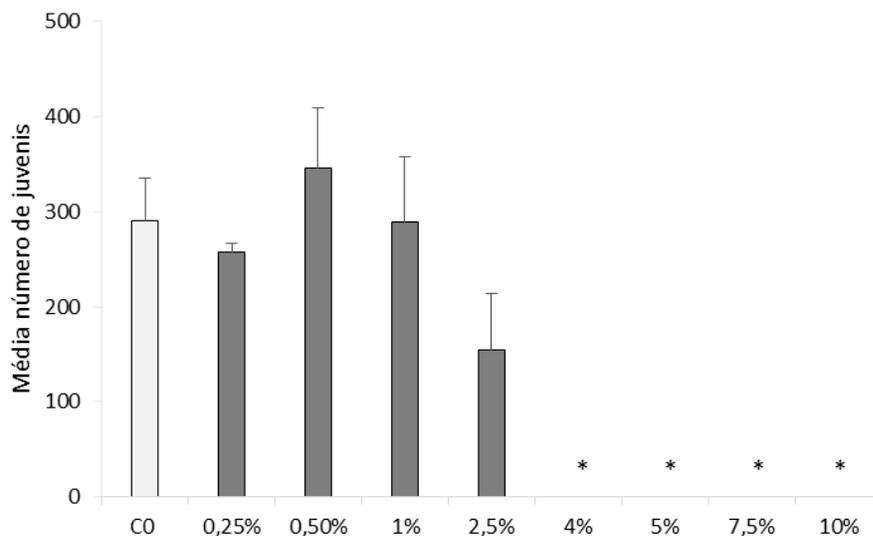


Figura 6. Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Os ensaios de reprodução com colêmbolos da espécie *P. minuta* (Apêndice P) com o cascalho do pré-sal apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) em todas as proporções testadas (Figura 7), e a partir da proporção de 7,5% de cascalho quase havendo inibição completa da reprodução. Com o cascalho do pós-sal, houve redução significativa da reprodução somente a partir de 1% de cascalho (Figura 8). Esta espécie apresentou valores mais baixos para os índices de ecotoxicidade, sendo para o pré-sal $CE_{20} = 0,06\%$ (0-0,24) e $CE_{50} = 0,11\%$ (0-0,44), e para o pós-sal $CE_{20} = 0,28\%$ (0,13-0,43) e $CE_{50} = 0,81\%$ (0,40-1,21) (Tabela 3).

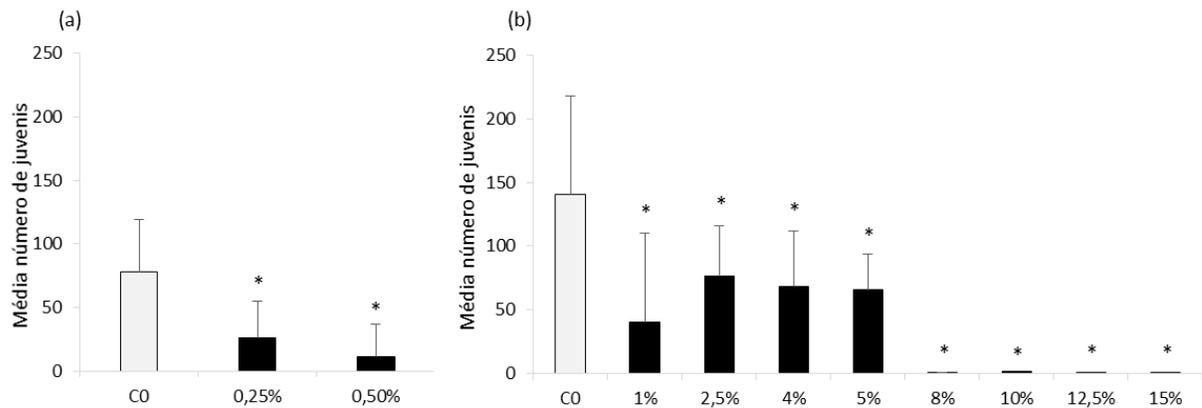


Figura 7. Número de juvenis de colêmbolos (*P. minuta*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. (a) segundo tempo e (b) primeiro tempo Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

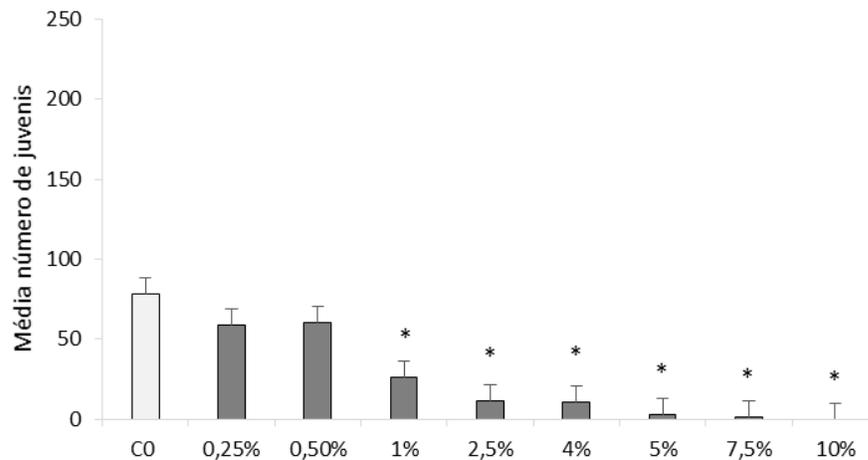


Figura 8. Número de juvenis de colêmbolos (*P. minuta*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Os resultados de reprodução com colêmbolos da espécie *S. curviseta* (Apêndice Q) com o cascalho do pré-sal não apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) em nenhuma das proporções avaliadas (Figura 9), indicando ser menos sensível do que as espécies *F. candida* e *P. minuta* neste tipo de resíduo.

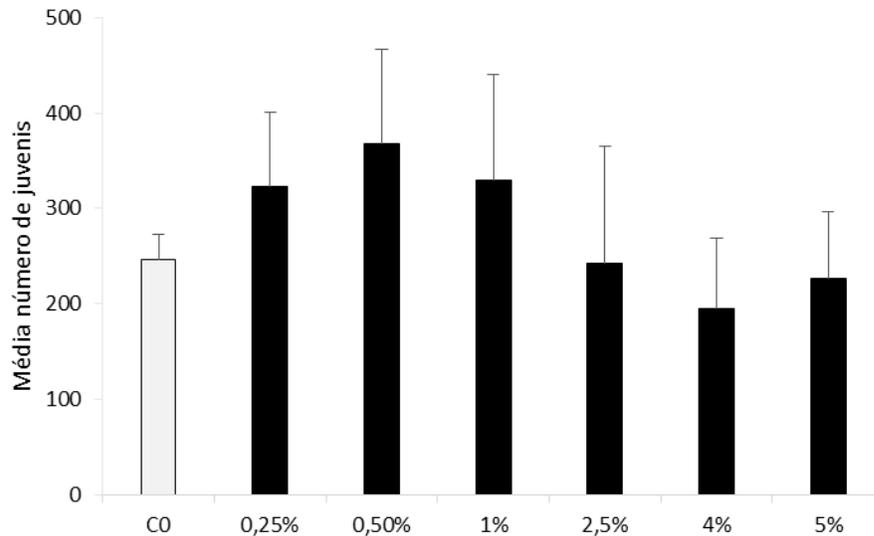


Figura 9. Número de juvenis de colêmbolos (*S. curviseta*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução com solo artificial tropical (SAT). A barra branca representa o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho do pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Em relação aos enquitreídeos (*E. crypticus*), representando os oligoquetas nos ensaios de reprodução, indicaram redução significativa ($p < 0,05$) no número de juvenis no cascalho pré-sal a partir da proporção de 4% (Figura 10), apresentando valores de CE20 = 3,79% (3,15-4,44) e CE50 = 4,32% (3,84-4,79). Para o cascalho do pós-sal, os efeitos foram mais pronunciados, apresentando redução na reprodução a partir de 2,5% (Figura 11), com valores de CE20 = 0,45% (0,14-0,76) e CE50 = 2,16% (1,65-2,67).

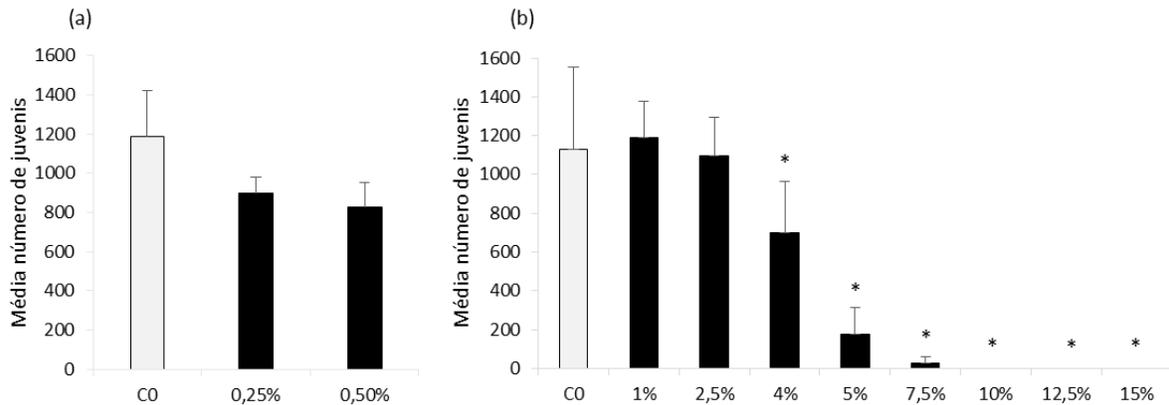


Figura 10. Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução em solo artificial tropical (SAT). As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. (a) segundo tempo e (b) primeiro tempo. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

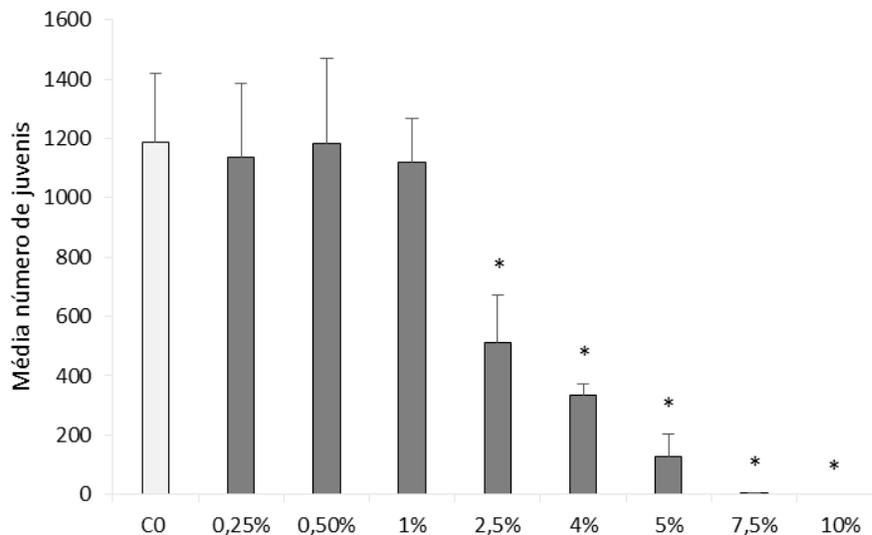


Figura 11. Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução com solo artificial tropical (SAT). A barra branca representa a reprodução em solo controle (SAT) e as cinzas, em solo com aplicação de cascalho do pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

4.4 Ensaios de crescimento de plantas

Os resultados dos ensaios com a arbórea bracinga (*M. scabrella*) com cascalho pré-sal, não apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$) nas proporções testadas para os *endpoints* altura da parte aérea, e massa seca da parte aérea e da raiz (mg), somente apresentando diferenças significativas no comprimento da raiz (cm) nos tratamentos de 1 e 4%, entretanto de modo atípico

(Figura 12). Os resultados com cascalho pós-sal não apresentaram diferença significativa para nenhum dos *endpoints*, assim como foi observado no cascalho pré-sal, somente apresentando redução significativa atípica no tratamento 2,5% (Figura 13).

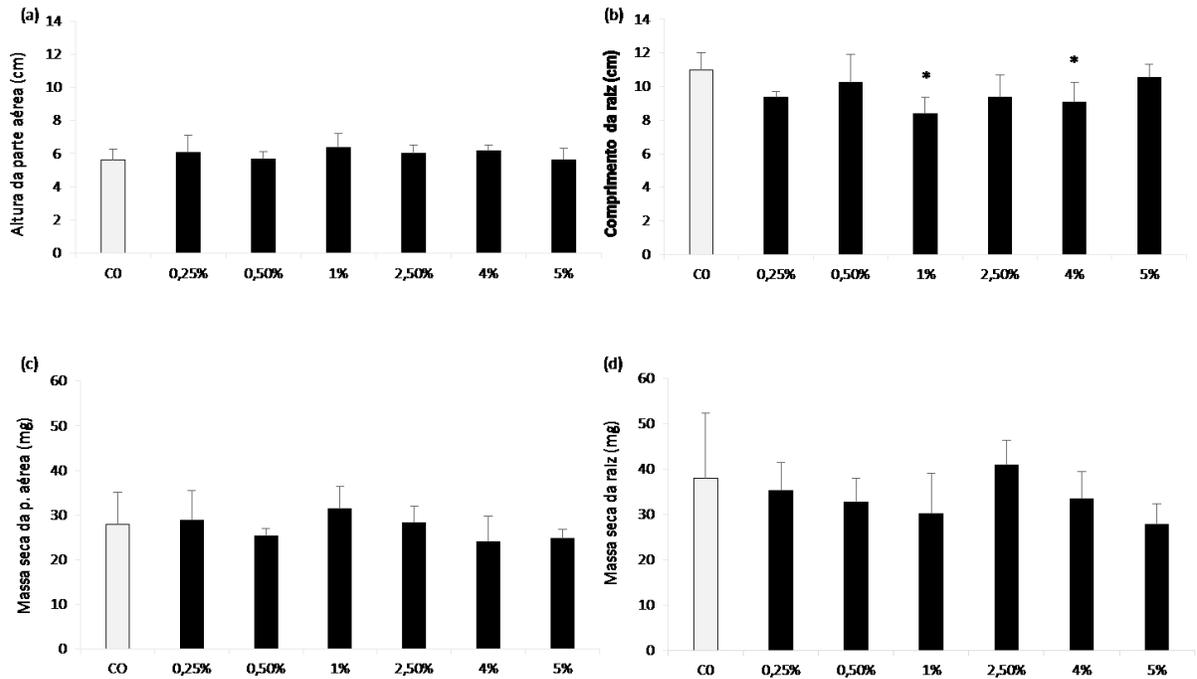


Figura 12. Crescimento e biomassa (média \pm desvio padrão) de bracinga (*M. scabrella*) em diferentes proporções de cascalho em solo artificial tropical (SAT): (a) altura da parte aérea (cm), (b) comprimento da raiz (cm), (c) massa seca da parte aérea e (d) massa seca da raiz. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo os testes de Dunnett (a; b) ou Dunn (c; d) ($p < 0,05$).

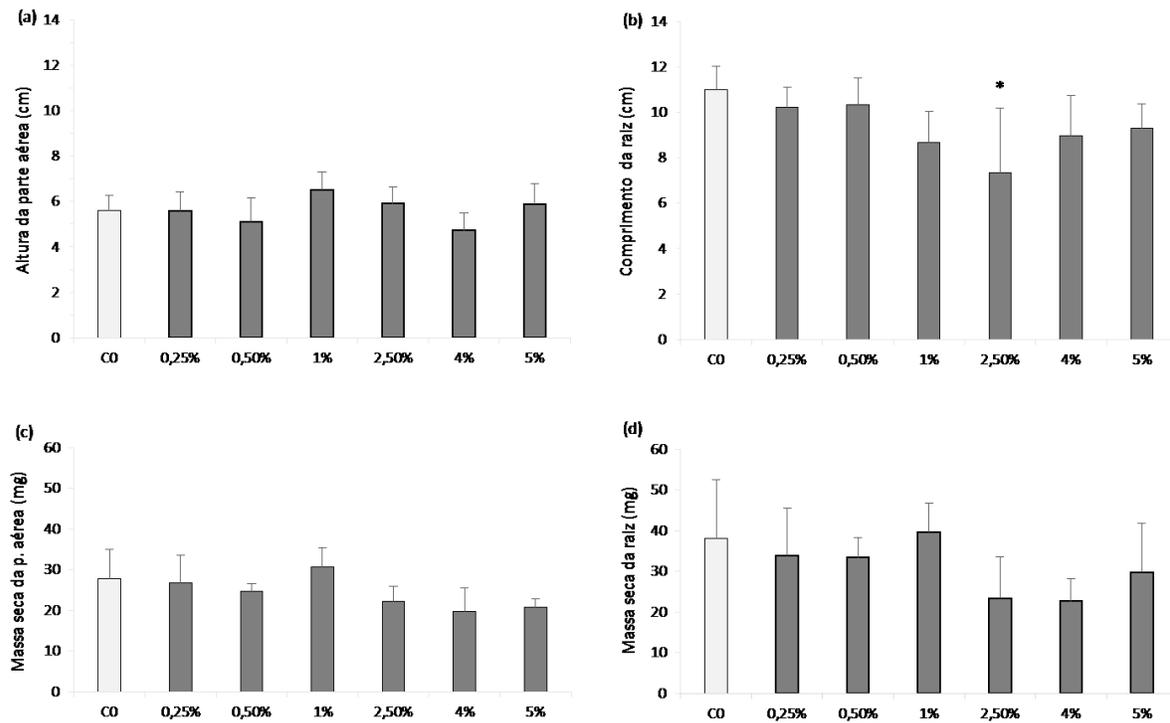


Figura 13. Crescimento e biomassa (média \pm desvio padrão) de bracinga (*M. scabrella*) em diferentes proporções de cascalho pós-sal em solo artificial tropical (SAT): (a) altura da parte aérea (cm), (b) comprimento da raiz (cm), (c) massa seca da parte aérea e (d) massa seca da raiz. As barras brancas representam o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo os testes de Dunnett (a; d) e Dunn (b; c) ($p < 0,05$).

Os resultados dos ensaios de germinação e crescimento com alface (*L. sativa*), avaliados por meio de elutriatos com cascalhos do pré-sal e pós-sal, indicaram a germinação em todos os tratamentos, sem redução significativa ($p < 0,05$) para o crescimento da raiz (cm), quando comparadas ao controle. (Figuras 14 e 15).

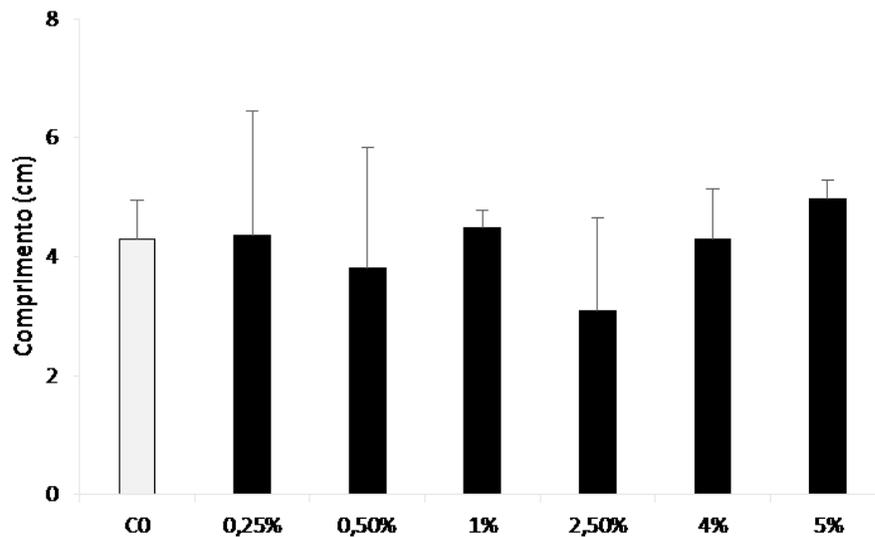


Figura 14. Comprimento da raiz (média \pm desvio padrão) de alfaca (*L. sativa*), exposta a diferentes proporções de cascalho. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as escuras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunn ($p < 0,05$).

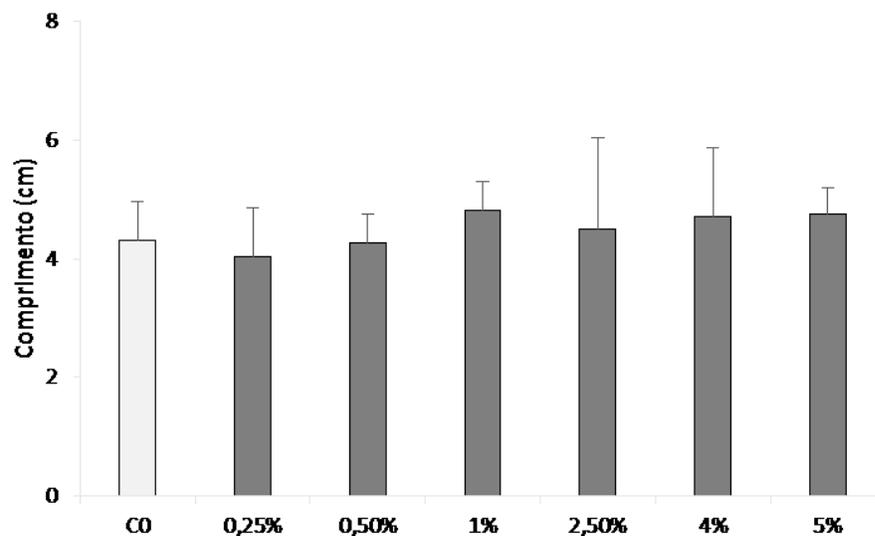


Figura 15. Comprimento da raiz (média \pm desvio padrão) de alfaca (*L. sativa*), exposta a diferentes proporções de cascalho. A barra branca representa o solo controle (SAT) e as cinzas, o solo com aplicação de cascalho pós-sal. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Os resultados dos ensaios com a macrófita aquática lemna (*L. minor*) com cascalho da camada do pré-sal, no qual foram testadas por meio de elutriato, indicaram redução significativa ($p < 0,05$) para o número de frondes, quando comparadas ao controle, porém não foram observadas reduções significativas para comprimento de raízes (cm), e biomassa (mg). Para o número de frondes, redução significativa foi observada a partir de 1% da proporção de cascalho, enquanto

os *endpoints* comprimento de raízes (cm) e biomassa (mg) não apresentaram redução significativa em nenhuma das proporções avaliadas (Figura 16).

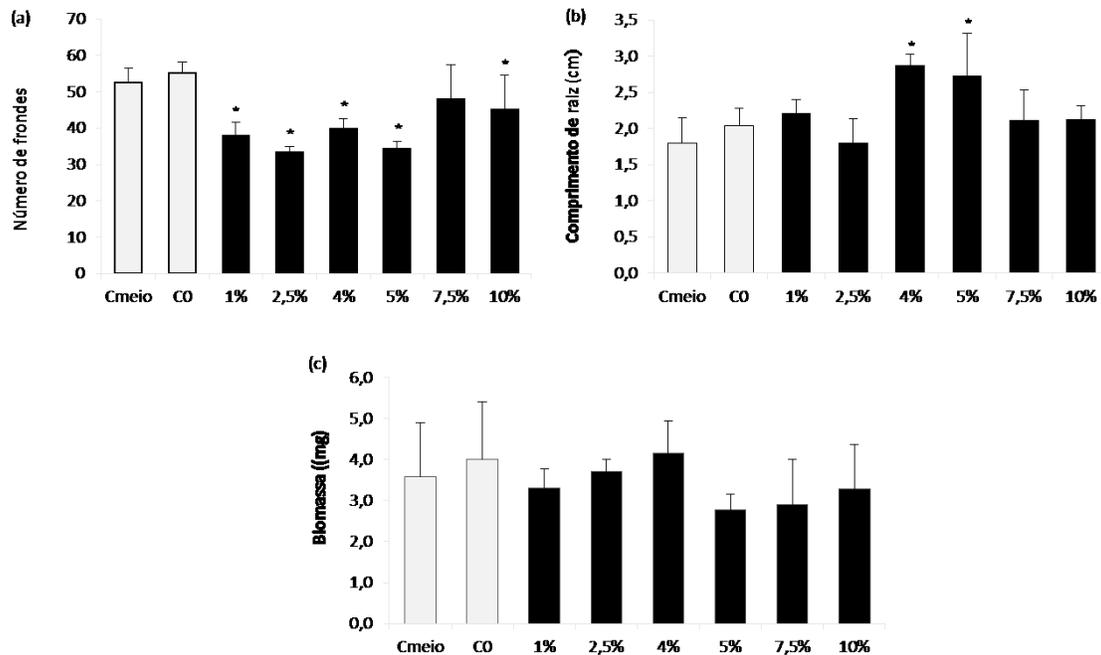


Figura 16. Crescimento (média \pm desvio padrão) de macrófitas (*L. minor*) expostas a diferentes proporções de elutriado de cascalho pré-sal diluído em meio Steinberg (1:10): (a) número de frondes, (b) comprimento de raízes (cm), (c) biomassa (mg). As barras brancas representam os controles apenas com meio Steinberg (Cmeio) e realizado com SAT sem cascalho (CO), e as barras escuras os tratamentos com aplicação de cascalho. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Tabela 3. Valores da Concentração de Efeito (CE) das proporções as proporções (%) de cascalho pré-sal e pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT) para a reprodução de invertebrados de solo. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança.

Tipo de cascalho	Espécie teste	Teste	Proporção (IC)	Modelo
Pré-sal	<i>F. candida</i>	CE20	1,88% (1,18-2,58)	Exponencial
		CE50	2,82% (2,25-3,39)	
	<i>P. minuta</i>	CE20	0,06% (0-0,24)	Exponencial
		CE50	0,11% (0-0,44)	
	<i>E. crypticus</i>	CE20	3,79% (3,15-4,44)	Logístico
		CE50	4,32% (3,84-4,79)	
Pós-sal	<i>F. candida</i>	CE20	1,98% (0,82-3,14)	Gompertz
		CE50	2,53% (2,30-2,76)	
	<i>P. minuta</i>	CE20	0,28 (0,13-0,43)	Exponencial
		CE50	0,81 (0,40-1,21)	
	<i>E. crypticus</i>	CE20	0,45% (0,14-0,76)	Exponencial
		CE50	2,16% (1,65-2,67)	

5 DISCUSSÃO

5.1 Invertebrados de solo

Por meio dos ensaios de fuga com colêmbolos da espécie *F. candida*, observou-se que os resultados variaram de acordo com a origem do cascalho. Os resultados com o cascalho pré-sal apresentaram efeitos significativos a partir da proporção de 0,5%, enquanto o cascalho pós-sal apresentou fuga a partir de 4%, de cascalho. Além disso, no cascalho pré-sal, mais de 70% dos colêmbolos foram encontrados no solo controle nas combinações com 2,5; 4 e 5%, o que indica perda da função de habitat de acordo com o critério proposto pela ISO 17512-2 (ISO, 2011). Tais diferenças podem ser explicadas pela composição dos cascalhos (Tabela 2), onde se pode observar concentrações mais altas de Na no cascalho pré-sal, o que se refletiu também nos valores de condutividade elétrica das misturas, determinada ao início e ao final dos ensaios.

Nos ensaios de fuga com minhocas, diferenças significativas foram detectadas a partir de 2,5% para ambos os cascalhos, apresentando função de habitat limitada (>80% das minhocas no solo controle) de acordo com o critério de Hund-Rinke e Wiechering (2000). Segundo Owojori e Reinecke (2009), para a fuga de *Eisenia fetida* o critério de efeito de 80% corresponde ao valor salino de 2000 mg kg⁻¹ em solo artificial. Nossos resultados mostraram que o cascalho pré-sal apresentou fuga com condutividade elétrica de 832,5 µS/cm e 538,99 mg kg⁻¹ de sódio, e no pós-sal, com condutividade elétrica de 783,4 µS/cm e 491,71 mg kg⁻¹ de Na. Além disso, estudos com resíduos da mesma natureza, resultaram em fuga de 84, 96 e 92%, para doses de 127, 1277 e 2554 mg kg⁻¹ de Na, respectivamente (MACHADO et al., 2018), outro estudo alcançou o critério de 80% com resíduo tratado com Secador e Centrífuga, em 1277 mg kg⁻¹ e 746,80 mg kg⁻¹ de NaCl, respectivamente (BENZAZZI, 2015).

Ensaio de fuga com minhocas das espécies *Aporrectodea caliginosa* e *Eisenia fetida* apresentaram efeitos significativos em solos naturais salinos, com valores de condutividade elétrica de 0,26 e 0,56 dSm⁻¹, que correspondem a 260 e 560 µS/cm, respectivamente (OWOJORI e REINECKE, 2009). Outros trabalhos têm apresentado resultados similares, nos quais as concentrações de Na indicam ser as responsáveis pelos efeitos de fuga (OWOJORI e REINECKE, 2009; DO AMARAL SOBRINHO et al, 2018; MACHADO et al., 2018; NIEMEYER et al., 2020).

Apesar da alta concentração de bário (Ba) (Tabela 1) encontrada nos cascalhos, de acordo com, este elemento apresenta baixa mobilidade e biodisponibilidade neste material (Do Amaral

Sobrinho et al., 2018). Esse resultado foi corroborado pelo estudo de MACHADO et al.(2018), no qual a dose de cascalho de 234 t/ha⁻¹ ocasionou fuga de minhocas *E. andrei*; porém, a concentração correspondente de BaSO₄ não ocasionou o mesmo efeito. Porém, na aplicação isolada de NaCl, houve o comportamento de fuga das minhocas, indicando que este elemento é o provável fator limitante na composição da amostra de cascalho.

Nos ensaios de reprodução com colêmbolos, observou-se diferenças na sensibilidade entre as espécies testadas, sendo o mais sensível o *P. minuta*, seguido por *F. candida* e *S. curviseta*, que não apresentou redução significativa no número de juvenis. Assim como no capítulo anterior com o cascalho *onshore*, o *F. candida*, espécie padrão recomendada pela Norma ABNT/ISO 11267, apresentou menor sensibilidade quando comparada ao *P. minuta*. Para a reprodução de *F. candida*, o cascalho pré-sal apresentou diferença significativa já na proporção de 1%, correspondendo ao valor de condutividade elétrica de 533,50 µS/cm e 215,60 mg kg⁻¹ de Na (Tabela 2), enquanto que no cascalho pós-sal apresentou redução significativa a partir de 4%, correspondendo à condutividade elétrica de 933,20 µS/cm e 786,74 mg kg⁻¹ de Na (Tabela 2).

Diversos autores sugerem espécies alternativas de colêmbolos para ensaios de reprodução, devido à espécie *F. candida* ter relevância ecológica limitada a alguns ambientes naturais ou agrícolas (KROGH, 2009), e considerando que diferentes espécies podem apresentar diferenças na sensibilidade aos contaminantes (BUCH et al., 2016). Assim, a espécie *P. minuta* apresenta importância por estar presente em áreas florestais em regiões tropicais no Brasil (BUCH et al., 2016) e sendo encontrada até no Canadá (PRINCZ et al., 2012), portanto, podendo indicar os possíveis efeitos do cascalho quando aplicado em áreas de reflorestamento e recuperação em uma ampla distribuição geográfica.

Os ensaios de reprodução com enquitreídeos também indicaram diferenças entre o cascalho pré-sal e pós-sal, porém aqui os efeitos do cascalho do pós-sal foram mais pronunciados. No cascalho pré-sal, redução significativa da reprodução foi observada a partir de 4% de cascalho, correspondendo ao valor de condutividade elétrica de 1.221 µS/cm e 862,38 mg kg⁻¹ de Na (Tabela 2), enquanto o cascalho pós-sal apresentou efeitos significativos a partir de 2,5%, correspondendo à condutividade elétrica de 783,4 µS/cm e 491,71 mg kg⁻¹ de Na (Tabela 2). Dentre as espécies usadas nos ensaios de reprodução, os enquitreídeos foram menos sensíveis do que os colêmbolos, o que também foi observado com o cascalho *onshore* (capítulo anterior).

A ecotoxicidade da água produzida utilizada na irrigação, outro resíduo da exploração de

petróleo e que também apresenta altas concentrações de Na, ocasionou efeitos significativos na reprodução de *E. crypticus*, assim como de *F. candida*, sendo a reprodução de ambos negativamente correlacionada com as concentrações de Na e com os valores de condutividade elétrica (NIEMEYER et al., 2020). Outro trabalho demonstrou sensibilidades semelhantes de colêmbolos e enquitreídeos quando expostos a NaCl (PEREIRA et al., 2015).

Como o cascalho de perfuração é uma matriz complexa e envolve vários outros possíveis contaminantes, como Ba do fluido de perfuração, metais e hidrocarbonetos, é possível que outros contaminantes também influenciem a resposta dos organismos. Ainda, como os enquitreídeos apresentam corpo mole fazendo com que a absorção de água e oxigênio ocorra por meio da pele, enquanto os colêmbolos apresentam corpo duro e dependem de órgãos especializados para realizar a absorção de água e oxigênio apresentando, portanto, vias de exposição distintas, pode haver diferenças de sensibilidade entre estes grupos a depender do tipo de contaminante (PEIJNENBURG et al., 2012).

Valores altos de condutividade elétrica (acima de 1.03 dSm^{-1} ou $1030 \text{ }\mu\text{S/cm}$), indicando presença de sais, são relacionados a efeitos na reprodução dos invertebrados de solo, como minhocas, colêmbolos e enquitreídeos (OWOJORI et al., 2009). Entretanto, nossos resultados indicam que valores menores já podem ocasionar efeitos significativos na reprodução de colêmbolos *P. minuta* e *F. candida*, e enquitreídeos *E. crypticus*, correspondendo a condutividade elétrica de 319,5, 533,5 e 783,4 $\mu\text{S/cm}$, respectivamente. Enquanto para minhocas (*E. andrei*) a quantidade de 23,4 Mg ha⁻¹ de cascalho (*onshore*) resultou na redução de 83,75% de juvenis (MACHADO et al., 2018). Nesse estudo as proporções de cascalho pré-sal com base em mg Na/kg de solo, foram de 0,25, 0,5, 1, 2,5, 4, 5, 7,5, 10 e 12,5, e corresponderam a 6,5, 13, 26, 65, 104, 130, 260, 325 e 390 Mg/ha. De modo, que a proporção de 1% que corresponde a 26 Mg/ha de cascalho, pode resultar na redução de >80% de juvenis para minhocas, de acordo com o autor supracitado.

Entretanto, não se pode extrapolar os diretamente os efeitos do cascalho sobre as espécies, devido a influência causada variar a depender da origem do cascalho, que resulta na variação do seu teor salino. Assim, como não se deve extrapolar os efeitos da salinidade no comportamento, taxa de alimentação e funções ecológicas para outras espécies com funções diferentes (OWOJORI et al., 2009), o mesmo foi observado para espécies de colêmbolos que diferiram quanto a sua sensibilidade.

As espécies de colêmbolos podem apresentar efeitos distintos de toxicidade aos contaminantes (BUCH et al., 2016). Podendo estar relacionada a sua forma de vida, e profundidade que habitam do solo, visto que diferem, sendo a espécie de *S. curviseta* caracterizada como edáfica (GIST et al., 1974), de *F. candida* como eudáfica (FOUNTAIN e HOPKIN, 2005), e de *P. minuta* como hemiedáfica (BAHRNDORFF et al., 2009). As três eco morfologias de Collembola: espécies da superfície do solo são edáficos com tamanho corporal relativamente grande; espécies que habitam o solo são eudáficas com tamanho corporal relativamente pequeno; e as que as espécies que apresentam características intermediárias entre as duas citadas anteriormente, são chamadas de hemiedáficas (YIN et al., 2019).

Um fator importante que pode levar a diferenças na toxicidade dos resíduos e na resposta dos organismos é o tipo de solo (NATAL-DA-LUZ et al., 2008; DOMENE et al., 2011). Para um solo artificial, como no caso do SAT (formulado em laboratório), sua principal vantagem para as etapas iniciais de uma pesquisa com resíduos é a ausência de possíveis contaminantes e sua funcionalidade como substrato inerte, permitindo a determinação da toxicidade intrínseca do cascalho e comparação com resultados de outros estudos da literatura científica. Uma vez determinadas as doses de interesse para sua aplicação em solo, recomenda-se que as próximas etapas sejam realizadas usando solo natural.

5.2 Plantas

O ensaio de crescimento com a arbórea bracatinga (*M. scabrella*) indicou que esta espécie não foi afetada pelas as proporções de cascalho testadas (até 5%), tanto do pré-sal como do pós-sal. A proporção de 5% de cascalho pré-sal correspondeu ao valor de condutividade elétrica de 1.283 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 1.077,98 mg kg^{-1} de Na (Tabela 2), enquanto que com cascalho pós-sal apresentou condutividade elétrica de 1.171 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 983,43 mg kg^{-1} de Na (Tabela 2). Segundo o sistema de classificação de solos da EMBRAPA (EMBRAPA, 2018), estes valores de condutividade correspondem à presença de sais solúveis em quantidade tóxica à maioria das culturas (condutividade elétrica $\geq 7 \text{ dS m}^{-1}$ ou $\geq 700 \mu\text{S}/\text{cm}$).

A bracatinga é uma espécie leguminosa arbórea nativa da Mata Atlântica, pioneira e empregada em programas de revegetação nas Áreas de Preservação Permanente (APP) em Santa Catarina e também na restauração de áreas impactadas pela mineração do carvão (ROCHA-

NICOLEITE et al., 2018; CITADINI-ZANETTE et al., 2017). Nossos resultados estão de acordo com Avrella et al. (2019), os quais apontam que esta espécie apresenta potencial para o cultivo em solo salino.

Os resultados demonstram que, em baixas proporções, os cascalhos não apresentam efeitos tóxicos para espécies arbóreas pioneiras, ressaltando a possibilidade do seu uso futuro em áreas florestais e degradadas. Entretanto, deve-se considerar o possível acúmulo de sais no solo mediante aplicações sucessivas, bem como avaliar a sensibilidade de outras espécies arbóreas, considerando que várias espécies podem apresentar sensibilidade à salinidade (PRINCZ et al., 2012; FAN et al., 2021). Estudos demonstram que em plantas sob estresse salino, ocorre a redução do crescimento associada à toxicidade iônica, desequilíbrio iônico, e propriedades da parede celular (MUNNS, 2005). Portanto, a alta concentração de sais pode ocasionar o acúmulo de íons potencialmente tóxicos (como Na^+ e Cl^-) nos tecidos fotossintetizantes, de modo a resultar em distúrbios nutricionais e danos ao metabolismo celular, acarretando no déficit hídrico, fitotoxicidade e distúrbios nutricionais, como a deficiência de potássio e cálcio (MUNNS, 2005; MUNNS; TESTER, 2008; ÁLVARES et al., 2018).

O sal pode inibir o crescimento das plantas de duas formas: 1) reduzindo a capacidade de absorção de água, levando a um crescimento mais lento, ocasionando o chamado efeito osmótico ou de déficit hídrico da salinidade; e 2) podendo eventualmente entrar na corrente de transpiração e causar danos às células nas folhas, e assim reduzindo o crescimento pelo efeito específico do sal ou do excesso de íons salinos (MUNNS, 2005; RASEL et al, 2021). Entretanto, as raízes das plantas podem ser tolerantes, excluindo quase todo o Na^+ e Cl^- no solo durante a absorção de água (MUNNS et al., 2019).

Na análise de crescimento da macrófita aquática *L. minor*, utilizando o elutriado do cascalho pré-sal, foi observada redução no número de frondes, a partir da proporção de 1%, correspondendo no elutriado à condutividade elétrica de 533,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 215,60 mg kg^{-1} de Na. Outro estudo observou em concentrações a partir de 50 mM de NaCl resultou na diminuição do número de frondes, independentemente do tempo (LIU; DAI; SUN, 2017), o que corrobora os resultados encontrados com o cascalho, e também com o cascalho *onshore* mencionado no capítulo anterior. Como a macrófita aquática (*L. minor*) é sensível à salinidade (LIU; DAI; SUN, 2017), que induz a danos oxidativos e à inibição da fotossíntese (OUKARROUM et al., 2015), os resultados podem indicar efeitos negativos para os ecossistemas aquáticos adjacentes, já que as macrófitas são um dos

principais organismos autotróficos nos ecossistemas de pequenos lagos e rios (BOURIOUG et al., 2018). Consequentemente, novos estudos usando o cascalho tratado e em diferentes solos naturais devem ser conduzidos para confirmar os possíveis efeitos para os ecossistemas aquáticos adjacentes.

Os resultados de germinação e crescimento com alface (*L. sativa*) também não apresentaram efeitos tóxicos nas concentrações avaliadas. O alface é uma espécie amplamente usada na avaliação de solos contaminados e resíduos, considerada sensível à salinidade, apresentando declínio no seu crescimento em solos com altas concentrações de Na^+ e Cl^- (FASCIGLIONE et al., 2015), como também demonstrado em estudo com água produzida (ROSSETO, 2021). Embora as análises não demonstraram efeitos significativos, é importante ressaltar que o ensaio só englobou a fase inicial de desenvolvimento da planta. Portanto, o ciclo completo da planta deverá ser analisado em etapas posteriores deste estudo, a ser realizado em casa de vegetação ou campo.

Em geral, os resultados com plantas não demonstraram efeitos significativos para as proporções e espécies avaliadas neste estudo, durante o período de duração dos ensaios. Entretanto, como o cascalho apresenta altas concentrações de Na, recomenda-se o tratamento do resíduo para a redução deste elemento, de modo a evitar o seu acúmulo após sucessivas aplicações e decorrentes impactos que possam ocorrer (HUSSAIN et al., 2017). Além disso, estudos a campo são necessários por abrangerem maior complexidade ecológica englobando outros grupos de fauna de solo (por exemplo, FERREIRA et al., 2015). Outra possibilidade de desenvolvimento de tecnologia é o estudo e promoção de bactérias benéficas para as plantas e/ou fungos micorrízicos arbusculares, que podem aumentar a resistência das plantas contra estresses ambientais, incluindo a salinidade (DIMKPA et al., 2009; FASCIGLIONE et al., 2015; Ma et al., 2017).

6 CONCLUSÃO

Os cascalhos de perfuração *offshore* apresentaram efeitos adversos em diferentes proporções para os invertebrados de solo, e as proporções que apresentaram efeitos também diferiram entre os resíduos, indicando que os resultados podem variar a depender da origem e composição química do cascalho. O presente estudo foi realizado usando-se solo artificial tropical, o qual apresenta uma textura arenosa e corresponderia ao pior cenário se comparado a solos argilosos ou com maior teor de matéria orgânica. Como as propriedades do solo influenciam os efeitos para a biota, recomenda-se estudos com solos naturais nas etapas posteriores. Ainda, as amostras de cascalho avaliadas não passaram por nenhum tratamento, o que pode vir a ser uma alternativa para redução das concentrações de Na e consequentes efeitos. Recomenda-se levar em conta a concentração de Na para a formulação das misturas.

Para os ensaios de reprodução, a sensibilidade foi maior na seguinte ordem: *P. minuta*>*F. candida*>*E. crypticus*>*S. curviseta*. A CE50 para *P. minuta*, *F. candida* e *E. crypticus* de cascalho pré-sal foi de 0,11%, 2,82% e 4,32%, e de cascalho pós-sal foi de 0,81%, 2,53% e 2,16%, respectivamente. Para os ensaios de fuga, a sensibilidade foi maior na seguinte ordem: *F. candida*>*E. andrei*. De toda forma, proporções como 0,25% (6,5 ton/ha) e 0,5% (13 ton/ha) são mais próximas do programado para uma aplicação real. Em geral, as plantas apresentaram menor sensibilidade em relação aos invertebrados, de modo que proporções seguras para as plantas podem apresentar efeitos adversos para a fauna. As próximas etapas incluirão avaliações do cascalho após tratamento, bem como em mistura com composições orgânicas que se pretende utilizar no desenvolvimento do adubo organomineral. Os resultados deste trabalho ressaltam a importância de avaliações ecotoxicológicas para resíduos, especialmente quando envolve substâncias sem valores de referência inclusos na legislação, como é o caso do Na.

REFERÊNCIAS

- AL-ANSARY, M. S.; AL-TABBAA, A. Stabilisation/solidification of synthetic petroleum drill cuttings. **Journal of Hazardous Materials**, v. 141, n. 2, p.410-421, 2007.
- ÁLVAREZ, S.; RODRÍGUEZ, P.; BROETTO, F.; SÁNCHEZ-BLANCO, M. J. Long term responses and adaptive strategies of *Pistacia lentiscus* under moderate and severe deficit irrigation and salinity: Osmotic and elastic adjustment, growth, ion uptake and photosynthetic activity. **Agricultural Water Management**, v.202, p.253-262, 2018.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 11269-2**: Qualidade do solo – Determinação dos efeitos de poluente na flora terrestre – Parte 2: Efeito de substâncias químicas na emergência e no crescimento de vegetais superiores. ABNT. ABNT: Rio de Janeiro, 2014.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 11267**: Qualidade do solo — Inibição da reprodução de Collembola (*Folsomia candida*) por poluentes do solo. Rio de Janeiro: ABNT, 2019.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15469**: Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras. Rio de Janeiro, 2016.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 16387**: Qualidade do solo — Efeitos de poluentes em Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) - Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro: ABNT, 2012.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 17512-1**: Qualidade do solo – Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro: ABNT, 2011.
- AVRELLA, E. D.; EMER, A. A.; PAIM, L. P.; FIOR, C. S.; SCHAFER, G. Efeito da salinidade no desenvolvimento inicial de mudas de *Mimosa scabrella* Benth. **Iheringia, Série Botânica**. v. 74, 2019.
- BAHRNDORFF, S.; LOESCHCKE, V.; PERTOLDI, C.; BEIER, C., HOLMSTRUP, M.T he rapid cold hardening response of Collembola is influenced by thermal variability of the habitat. **Functional Ecology**, v. 23, n. 2, p. 340-347, 2009.
- BAUDER, T. A.; BARBARICK, K. A.; IPPOLITO, J. A.; SHANAHAN, J. F.; AYERS, P. D. Soil properties affecting wheat yields following drilling-fluid application. **Journal of Environmental Quality**. p.1687-1696, 2005.
- BENAZZI, E. S. **Avaliação ecotoxicológica de resíduos da perfuração petrolífera em terra**. 2015. 91 f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária) Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BOURIOUG, M.; MAZZITELLI, J. Y.; MARTY, P.; BUDZINSKI, H.; ALEYA, L.; BONNAFÉ, E.; GERET, F. Assessment of *Lemna minor* (duckweed) and *Corbicula fluminea* (freshwater clam) as potential indicators of contaminated aquatic ecosystems: responses to presence of psychoactive drug mixtures. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p.11192-11204, 2018.

BUCH, A. C.; NIEMEYER, J. C.; CORREIA, M. E. F.; SILVA-FILHO, E. V. Ecotoxicity of mercury to *Folsomia candida* and *Proisotoma minuta* (Collembola: Isotomidae) in tropical soils: baseline for ecological risk assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 127, p. 22-29, 2016.

CARVALHO, P. E. R. **Bracatinga**. Colombo: Embrapa, 2002. 12 p.

CITADINI-ZANETTE V, NEGRELLE RRB, LEAL-FILHO LS, REMOR R, ELIAS GA, SANTOS R (2017) *Mimosa scabrella* Benth. (Fabaceae) enhances the restoration in coal mining areas in the Atlantic rainforest. **Cerne** 23:103–114

DE ALMEIDA, P. C.; ARAÚJO, O. D. Q. F.; DE MEDEIROS, J. L. Managing offshore drill cuttings waste for improved sustainability. **Journal of Cleaner Production**, v. 165, p. 143-156, 2017.

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell & Environment**, v. 32, n. 12, p. 1682-1694, 2009.

DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; CEDDIA, M. B.; ZONTA, E.; MAGALHÃES, M. O. L.; DE FREITAS, F. C.; LIMA, E. S. A. Spatial variability and solubility of barium in a petroleum well-drilling waste disposal area. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 4, p. 1-11, 2018.

DOMENE, X.; CHELINHO, S.; CAMPANA, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; ALCANIZ, J. M.; ANDRÉS, P.; RÖMBKE, J.; SOUSA, P. Influence of soil properties on the performance of *Folsomia candida*: implications for use in soil ecotoxicology testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 7, p. 1497–1505, 2011.

EPE – EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. Balanço Energético Nacional 2019: Ano base 2018. **Rio de Janeiro: Ministério de Minas e Energia**, 2019.

E SILVA, C. D. L.; VAN HAREN, C.; MAINARDI, G.; DE ROOIJ, W.; LIGTELIJN, M.; VAN STRAALLEN, N. M.; VAN GESTEL, C. A. Bringing ecology into toxicology: Life-cycle toxicity of two neonicotinoids to four different species of springtails in LUFA 2.2 natural soil. **Chemosphere**, v. 263, p. 128245, 2021.

EKPO, M. A.; UZEGBU, M. L. The effect of the petroleum drilling mud additive (chromelignosulphonate) on the microbiology and survival of periwinkle (*Pachymelania* spp. and *Tympanotonus* sp.). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 6, p. 559-562, 2004.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 356 p.

FAM, M. A.; DUSSEAULT, M. B.; FOOKS, J. C. Drilling in mudrocks: rock behavior issues. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 38, n. 3-4, p.155-166, 2003.

FAN, Y.; ZHANG, Y.; WAN, M.; HU, W.; CHEN, Z.; HUANG, B. Plastic shed production intensified secondary soil salinization in perennial fruit production systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 316, p. 107469, 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Salt-affected soils are a global issue. **FAO**, Rome, Italy, 2021.

FASCIGLIONE, G.; CASANOVAS, E. M.; QUILLEHAUQUY, V.; YOMMI, A. K.; GONI, M. G.; ROURA, S. I.; BARASSI, C. A. Azospirillum inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress. **Scientia Horticulturae**, v. 195, p. 154-162, 2015.

FERREIRA, R. N.; WEBER, O. B.; CORREIA, M. E.; BENAZZI-IKEDA, E. S.; SCORIZA, R. N.; MESQUITA, A. L. Effects of wastewater from oil exploration on soil mesofauna. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 95, n. 6, p. 777-783, 2015.

FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. *Folsomia candida* (Collembola): a “standard” soil arthropod. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 201-222, 2005.

GIST, C. S.; CROSSLEY JR, D. A.; MERCHANT, V. A. An analysis of life tables for *Sinella curviseta* (Collembola). **Environmental Entomology**, v. 3, n. 5, p. 840-844, 1974.

HUND-RINKE, K; WIECHERING, H. Earthworm avoidance test for soil assessments. **Journal of Soils and Sediments**, v. 1, n. 1, p. 15-20, 2000.

HUSSAIN, S.; ZHANG, J. H.; ZHONG, C.; ZHU, L. F.; CAO, X. C.; YU, S. M.; JIN, Q. Y. Effects of salt stress on rice growth, development characteristics, and the regulating ways: A review. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 11, p. 2357-2374, 2017.

INTERNATIONAL STANDARDIZATION ORGANIZATION. **ISO 20079**: Water quality — Determination of toxic effect of water constituents and wastewater to duckweed (*Lemna minor*) — Duckweed growth inhibition test. Geneva, Switzerland, 2005.

INTERNATIONAL STANDARDIZATION ORGANIZATION. **ISO 17512-2**: Soil quality — Avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behaviour – Part 2: Test with Collembolan (*Folsomia candida*). Geneva, Switzerland, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE PETRÓLEO E GÁS. **Avaliação de opções para a destinação do cascalho gerado na perfuração de poços marítimos no Brasil.** Rio de Janeiro, 2021.

KROGH, P. H. **Toxicity testing with the collembolans *Folsomia fimetaria* and *Folsomia candida* and the results of a ringtest.** Danish Environmental Protection Agency, 2009.

LIU, C.; DAI, Z.; SUN, H. Potential of duckweed (*Lemna minor*) for removal of nitrogen and phosphorus from water under salt stress. **Journal of Environmental Management**, v. 187, p.497-503, 2017.

MA, Y.; RAJKUMAR, M.; MORENO, A.; ZHANG, C.; FREITAS, H. Serpentine endophytic bacterium *Pseudomonas azotoformans* ASS1 accelerates phytoremediation of soil metals under drought stress. **Chemosphere**, v. 185, p. 75-85, 2017.

MACHADO, H. M.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. D.; CORREIA, M. E. F.; MAGALHÃES, M. O. L.; LIMA, E. S. A. Toxicity of Drilling Waste from Oil Wells on *Oligochaeta*. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 4, 2018.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New phytologist**, v. 167, n. 3, p. 645-663, 2005.

MUNNS, R.; PASSIOURA, J. B.; COLMER, T. D.; BYRT, C. S. Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. **New Phytologist**, v. 225, n. 3, p. 1091-1096, 2020.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p. 651-681, 2008.

NATAL-DA-LUZ, T.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J. Avoidance tests in site-specific risk assessment—influence of soil properties on the avoidance response of collembola and earthworms. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 27, n. 5, p. 1112-1117, 2008.

NIEMEYER, J. C.; MEDICI, L. O.; CORREA, B.; GODOY, D.; RIBEIRO, G.; LIMA, S. D. O. F.; DE CARVALHO, D. F. Treated produced water in irrigation: Effects on soil fauna and aquatic organisms. **Chemosphere**, v. 240, p. 124791, 2020.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Predatory mite (*Hypoaspis* (*Geolaelaps*) *aculeifer*) reproduction test in soil. **Guidelines for the testing of chemicals**, 1 ed. Paris, p. 26, 2016.

OUKARROUM, A.; BUSSOTTI, F.; GOLTSEV, V.; KALAJI, H. M. Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 80-88, 2015.

OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J. Avoidance behavior of two eco-physiologically different earthworms (*Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*) in natural and artificial saline soils. *Chemosphere*, v. 75, n. 3, p. 279-283, 2009.

OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J.; VOUA-OTOMO, P.; REINECKE, S. A. Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (*Folsomia candida*, *Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*). *Pedobiologia*, v. 52, n. 6, p. 351-360, 2009.

PEIJNENBURG, W.; CAPRI, E.; KULA, C.; LIESS, M.; LUTTIK, R.; MONTFORTS, M.; JENSEN, J. Evaluation of exposure metrics for effect assessment of soil invertebrates. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 17, p. 1862-1893, 2012.
PEREIRA, C. S.; LOPES, I.; SOUSA, J. P.; CHELINHO, S. Effects of NaCl and seawater induced salinity on survival and reproduction of three soil invertebrate species. *Chemosphere*, v. 135, p. 116-122, 2015.

POZEBON, D.; LIMA, E. C.; MAIA, S. M.; FACHEL, J. M. Heavy metals contribution of non-aqueous fluids used in offshore oil drilling. *Fuel*, v. 84, n. 1, p. 53-61, 2005.

PRINCZ, J. I.; MOODY, M.; FRASER, C.; VAN DER VLIET, L.; LEMIEUX, H.; SCROGGINS, R.; SICILIANO, S. D. Evaluation of a new battery of toxicity tests for boreal forest soils: assessment of the impact of hydrocarbons and salts. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 766-777, 2012.

RASEL, M.; TAHJIB-UL-ARIF, M.; HOSSAIN, M. A.; HASSAN, L.; FARZANA, S.; BRESTIC, M. Screening of salt-tolerant rice landraces by seedling stage phenotyping and dissecting biochemical determinants of tolerance mechanism. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 5, p. 1853-1868, 2021.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2020.

ROCHA-NICOLEITE, E.; CAMPOS, M. L.; COLOMBO, G. T.; G. E.; MUELLER, S. C. Forest restoration after severe degradation by coal mining: lessons from the first years of monitoring. **Brazilian Journal of Botany**, v. 41, n. 3, p. 653-664, 2018.

ROSSETTO, C. A. V.; MEDICI, L. O.; MORAIS, C. S. B. D.; MARTINS, R. D. C. F.; CARVALHO, D. F. D. Seed germination and performance of sunflower seedlings submitted to produced water. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 45, 2021.

SAEEDI, M.; AMANIPOOR, H.; BATALEB-LOOIE, S.; MUMIPOUR, M. Landfill site selection for solid drilling wastes (case study: Marun oil field, southwest Iran). **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 1567-1590, 2020.

SCANLON, B. R.; REEDY, R. C.; XU, P.; ENGLE, M.; NICOT, J. P.; YOXTHEIMER, D.; IKONNIKOVA, S. Can we beneficially reuse produced water from oil and gas extraction in the US?. **Science of The Total Environment**, v. 717, p. 137085, 2020.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671-675, 2012.

SILVA, M. **Potencial de uso da espécie arbórea *Mimosa scabrella* Benth. em ensaios de ecotoxicidade.** 2018. 46 f. TCC - Curso de Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

STATSOFT INC. **Statistica 7** - Data analysis software system. Version 7. 2004.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA 712-C-96-154:** Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.4200 Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test. United States: US-EPA, 1995.

YIN, R.; GRUSS, I.; EISENHAEUER, N.; KARDOL, P.; THAKUR, M. P.; SCHMIDT, A.; SCHÄDLER, M. Land use modulates the effects of climate change on density but not community composition of Collembola. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 138, p. 107598, 2019.

ZHANG, F.; DING, Y.; ZHOU, Q. S.; WU, J.; LUO, A.; ZHU, C. D. A high-quality draft genome assembly of *Sinella curviseta*: A soil model organism (Collembola). **Genome Biology and Evolution**, v. 11, n. 2, p. 521-530, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As avaliações ecotoxicológicas realizadas em laboratório indicam que há potencial de uso dos cascalhos para a elaboração de um adubo organomineral, e que as próximas etapas devem focar em proporções abaixo de 1%. A depender da proporção do cascalho em solo pode ocasionar efeitos tóxicos, em especial para a fauna edáfica, enquanto as plantas apresentaram baixa sensibilidade. A toxicidade variou em relação a características como: origem marítima ou terrestre, e a camada (profundidade) do cascalho, apresentando diferenças nos resultados expressos. O cascalho que apresentou maior toxicidade foi o da camada do pré-sal. Possivelmente os efeitos observados estão relacionados a concentração de Na, que variou entre os três resíduos estudados. Portanto, alternativas de tratamento que reduzam a concentração de Na podem permitir o uso de proporções maiores de cascalho, o que deverá ser avaliado com os ensaios de ecotoxicidade.

Nas próximas etapas se faz necessário definir proporções de cascalho em relação as concentrações de Na, assim como analisar a sua interação com a fonte de matéria orgânica que será escolhida para usar nas misturas. Portanto, é indicado que nas próximas fases do estudo sejam realizados novos ensaios de ecotoxicidade com a mistura de cascalho e matéria orgânica de interesse para a produção do adubo organomineral. As fases seguintes também deverão englobar ensaios de campo, antes do emprego do adubo para fins agrícolas não-alimentícios, florestais ou em recuperação de áreas degradadas.

REFERÊNCIAS

- ABBE, O. E.; GRIMES, S. M.; FOWLER, G. D. Decision support for the management of oil well drill cuttings. In: **Proceedings of the Institution of Civil Engineers-Waste and Resource Management**, ICE Publishing, p. 213-220, 2011.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**: 2021. Rio de Janeiro. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/arquivos-anuario-estatistico-2021/anuario-2021.pdf>. Acesso: 06 fev. 2022.
- AL-ANSARY, M. S.; AL-TABBAA, A. Stabilisation/solidification of synthetic petroleum drill cuttings. **Journal of Hazardous Materials**, v. 141, n. 2, p.410-421, 2007.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004:2004**. Resíduos Sólidos – Classificação. p. 71, 2004.
- BENAZZI, E. S. **Avaliação ecotoxicológica de resíduos da perfuração petrolífera em terra**. 2015. 91 f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária) Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- DE ALMEIDA, P. C.; ARAÚJO, O. D. Q. F.; DE MEDEIROS, J. L. Managing offshore drill cuttings waste for improved sustainability. **Journal of cleaner production**, v. 165, p. 143-156, 2017.
- DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; CEDDIA, M. B.; ZONTA, E.; MAGALHÃES, M. O. L.; DE FREITAS, F. C.; LIMA, E. S. A. Spatial variability and solubility of barium in a petroleum well-drilling waste disposal area. **Environmental monitoring and assessment**, v. 190, n. 4, p. 1-11, 2018.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE PETRÓLEO E GÁS. **Avaliação de opções para a destinação do cascalho gerado na perfuração de poços marítimos no Brasil**. Rio de Janeiro, 2021.
- PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA. **Decreto nº 8437, de 22 de abril de 2015**. Brasília, Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato20152018/2015/decreto/d8437.htm. Acesso: 06 fev. 2022.
- FAM, M. A.; DUSSEAULT, M. B.; FOOKS, J. C. Drilling in mudrocks: rock behavior issues. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 38, n. 3-4, p.155-166, 2003.
- FREITAS, F. C. D.; PRESOTTO, R. A.; GENÚNCIO, G. D. C.; SOBRINHO, N. M. B. D. A.; ZONTA, E. pH, sódio, potássio, cálcio, magnésio e alumínio em solos contaminados com fluido de perfuração de poços de petróleo após ensaios de lixiviação. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1418-1423, 2015.

MACHADO, H. M.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. D.; CORREIA, M. E. F.; MAGALHÃES, M. O. L.; LIMA, E. S. A. Toxicity of Drilling Waste from Oil Wells on Oligochaeta. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 4, 2018.

MAGALHÃES, M. O. L.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; LIMA, E. S. A.; ZONTA, E.; FREITAS, F. C. Efeito da aplicação e interação do cascalho de perfuração de poços de petróleo em solos intemperizados. **Impactos ambientais provenientes da produção agrícola: experiências argentinas e brasileiras**. São Paulo: Editora Livre Expressão, 2016.

RIPA, M.; FIORENTINO, G.; VACCA, V.; ULGIATI, S. The relevance of site-specific data in Life Cycle Assessment (LCA). The case of the municipal solid waste management in the metropolitan city of Naples (Italy). **Journal of Cleaner Production**, v. 142, p. 445-460, 2017.

POZEBON, D.; LIMA, E. C.; MAIA, S. M.; FACHEL, J. M. Heavy metals contribution of non-aqueous fluids used in offshore oil drilling. **Fuel**, v. 84, n. 1, p. 53-61, 2005.

KOEHLER, P. H. W. Diagnóstico da situação atual dos resíduos sólidos das atividades de exploração e produção de petróleo e gás natural nas bacias sedimentares marítimas do Brasil. **Brasília: IPEA**, p. 40, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Composição do Solo Artificial Tropical - SAT (com composição de 75% areia fina, 20% de caulim e 5% de pó de casca de coco, com pH de $6,0 \pm 0,5$).



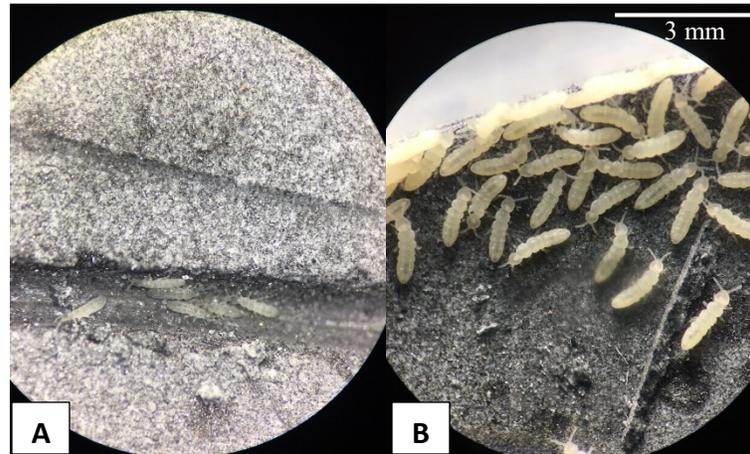
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE B – Cultivos de enquitreídeos da espécie *E. crypticus*, podemos observar na imagem organismos adultos e clitelados, em fase reprodutiva, utilizados em ensaios ecotoxicológicos.



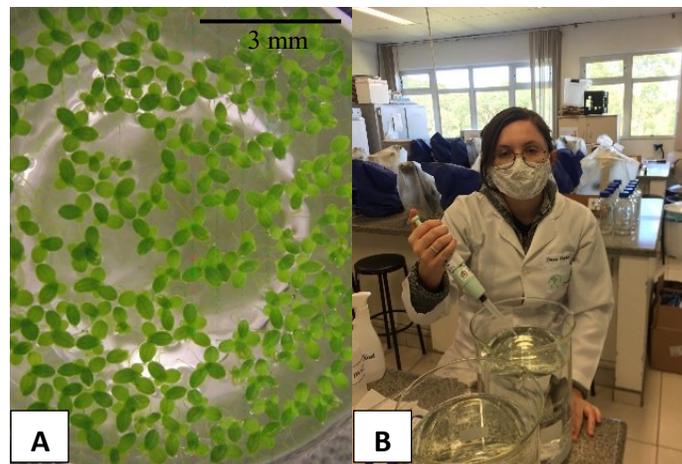
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE C – Cultivo de colêmbolos utilizados em ensaios ecotoxicológicos: (A) *P. minuta* (B) *F. candida*.



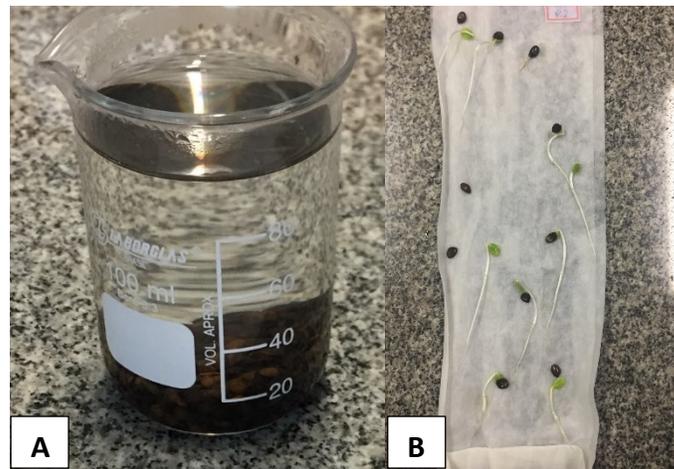
Fonte: Luan Cavalheiro (2021)

APÊNDICE D – Cultivos de *L. minor* utilizadas em ensaios ecotoxicológicos: (A) meio de cultivo e (B) preparação do meio Steinberg.



Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE E – Sementes de bracinga *M. scabrella*: (A) quebra de dormência e (B) teste de germinação.



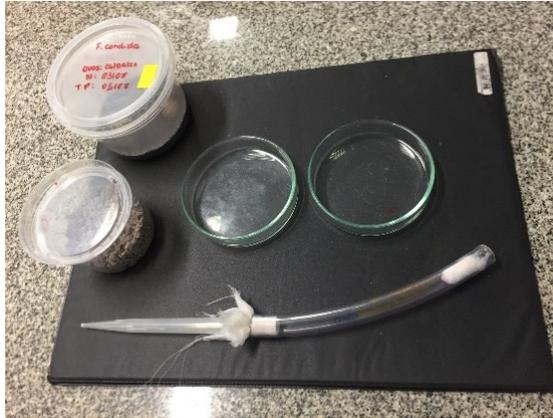
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE F – Ensaio de fuga com colêmbolos *F. candida*: (A) pesagem de solo no recipiente-teste (B) inserção de divisória para separar o solo controle e o solo com cascalho; (C) remoção da divisória previamente à adição dos organismos.



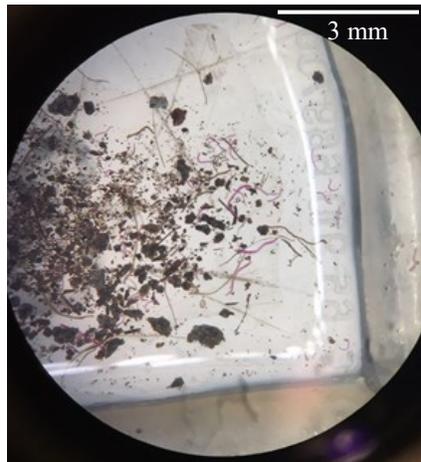
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE G – Materiais usados no ensaio de reprodução com colêmbolos para adição dos organismos, em idade sincronizada, nos recipientes.



Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE H – Final do ensaio de reprodução com enquitreídeos *E. crypticus*, coloração dos organismos com Rosa de Bengala, para contagem dos juvenis.



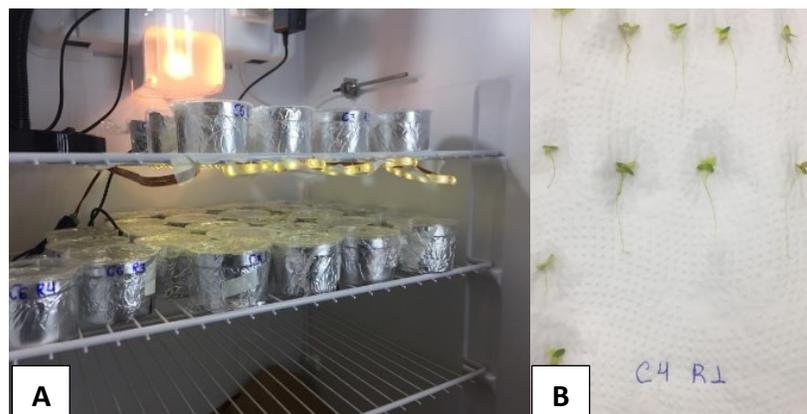
Fonte: Luan Cavalheiro (2021)

APÊNDICE I – Leitura do ensaio de germinação e crescimento com bracatinga *M. scabrella*: (A) tratamento CO (controle) e (B) tratamento C4 (5% de cascalho).



Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE J – Ensaio de crescimento com lemnas *L. minor*: (A) recipientes em BOD e (B) leitura do tratamento C4 (5% de cascalho).



Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE K – Aspecto das amostras de cascalhos de origem *offshore*, peneirados e brutos: (A) Poço 9 –MLL-83-RJS (pré-sal) e (B) Poço 7-MLL-82HA-RJS (pós-sal).



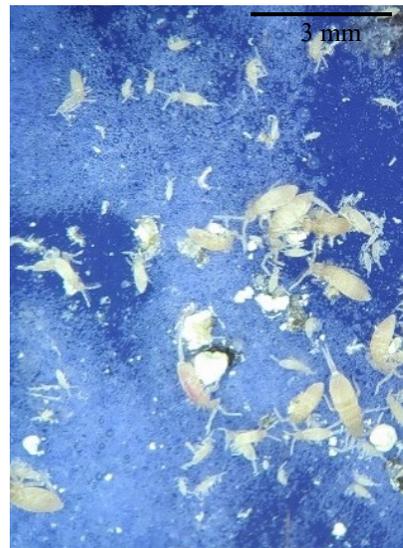
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE L– Ensaio de fuga com minhocas *E. andrei*: (A) pesagem de solo no recipiente-teste; (B) inserção dos organismos-teste na linha entre o solo controle e o solo com cascalho; (C) recipientes teste em sala climatizada.



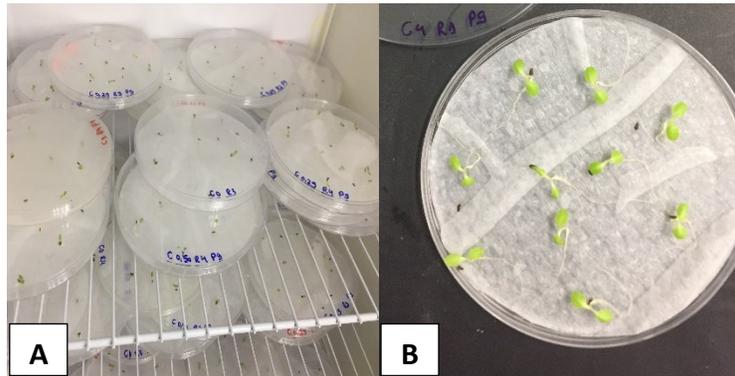
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE M – Final do ensaio de reprodução com colêmbolos *S. curviseta* visto em lupa (40x).



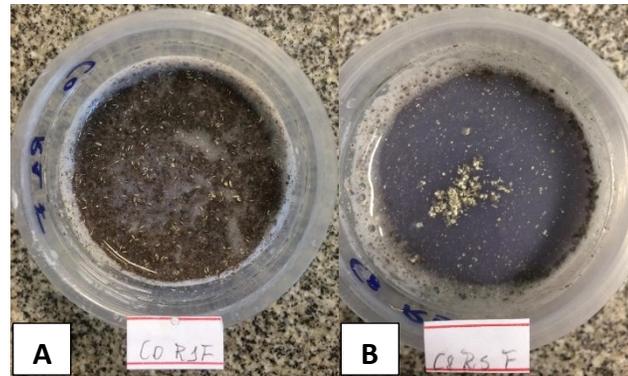
Fonte: Fabielle Paixão (2021)

APÊNDICE N – Ensaio com alfaces *L. sativa*: (A) placas em BOD e (B) plântulas de alface germinadas.



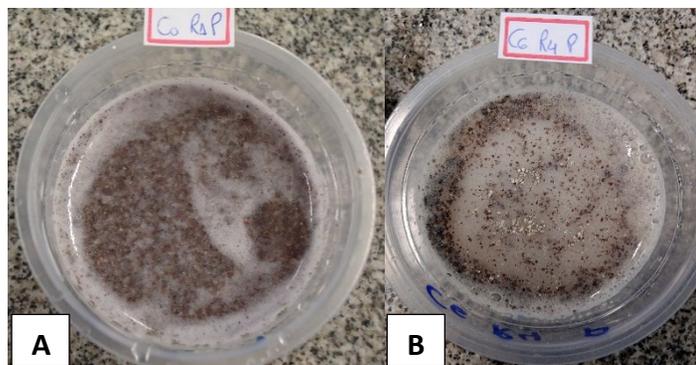
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE O – Final do ensaio de reprodução de colêmbolos *F. candida*: (A) tratamento CO (controle) e (B) tratamento C8 (15% de cascalho).



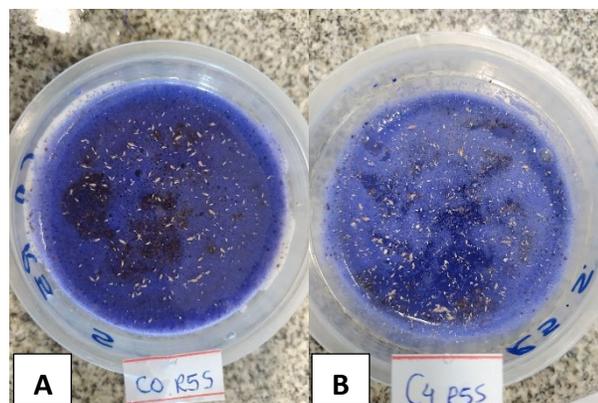
Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE P – Final do ensaio de reprodução de colêmbolos *P. minuta*: (A) tratamento CO (controle) e (B) tratamento C6 (10% de cascalho).



Fonte: Autora (2021)

APÊNDICE Q – Final do ensaio de reprodução de colêmbolos *S. curviseta*: (A) tratamento CO (controle) e (B) tratamento C4 (5% de cascalho).



Fonte: Autora (2021)