

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA, BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

Fabrielle Paixão dos Reis

**Avaliação ecotoxicológica de cascalhos de poços petrolíferos: efeitos para
disposição em áreas florestais**

Curitibanos, SC

2023

Fabrielle Paixão dos Reis

**Avaliação ecotoxicológica de cascalhos de poços petrolíferos: efeitos para
disposição em áreas florestais**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Florestal do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.
Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Júlia Carina Niemeyer.

Curitibanos, SC

2023

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

Reis, Fabrielle Paixão dos
Avaliação ecotoxicológica de cascalhos de poços
petrolíferos : efeitos para disposição em áreas florestais /
Fabrielle Paixão dos Reis ; orientadora, Júlia Carina
Niemeyer, 2023.
44 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Engenharia Florestal,
Curitibanos, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia Florestal. 2. Ecotoxicologia. I.
Niemeyer, Júlia Carina . II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Engenharia Florestal. III. Título.

Fabrielle Paixão dos Reis

**Avaliação ecotoxicológica de cascalhos de poços petrolíferos: efeitos para
disposição em áreas florestais**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Engenharia Florestal” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia Florestal

Curitiba, 13 de novembro de 2023



Documento assinado digitalmente

MARCELO BONAZZA

Data: 06/12/2023 14:32:52-0300

CPF: ***.641.899-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Marcelo Bonazza
Coordenador (a) do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente

Júlia Carina Niemeyer

Data: 06/12/2023 13:56:41-0300

CPF: ***.859.000-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof.^a Dr.^a Júlia Carina Niemeyer
Orientador (a)
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Alexandre Siminski

Data: 06/12/2023 15:09:43-0300

CPF: ***.101.149-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Alexandre Siminski
Avaliador (a)
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Djalma Eugenio Schmitt

Data: 06/12/2023 14:16:06-0300

CPF: ***.180.539-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Djalma Eugenio
Schmitt
Avaliador (a)
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família, em especial minha mãe Nelissa, meu padrasto Emerson e meus avós Rita e Doraci. Vocês são a base de tudo, sinto uma imensa gratidão por ter todo o apoio, carinho e amor. Sem vocês nada disso seria possível.

Agradeço a minha orientadora, Professora Doutora Júlia Carina Niemeyer, pelas oportunidades que me concebeu, pela paciência, ensinamentos e apoio prestado desde o ano de 2020. Tenho a imensa sorte de aprender e estar próxima de uma das mais renomadas profissionais no campo dos estudos de Ecotoxicologia.

Agradeço ao grupo NECOTOX (Núcleo de Ecologia e Ecotoxicologia do Solo), por todo apoio prestado. Esse trabalho possui um pedacinho de cada membro do grupo, sou grata a todos aqueles que de um jeito ou outro colaboram para a conclusão deste trabalho. Agradeço ao Rafael, Thomas, Erick, Roberta, Larissa, Graziéli, Leandro e Luiz. Aos membros antigos que já se formaram, mas que também estavam juntos nessa jornada, agradeço à Maria Eduarda e Bruna.

Em especial, gostaria de agradecer a Laiara e Higor, que desde o início desse trabalho, estiverem comigo e fizeram parte de cada decisão importante. E além disso, me ajudaram ao longo de todo esse processo, nas tarefas mais fáceis (manutenção do ensaio e processamento dos dados), as mais difíceis (contagem de enquitreídeos no sábado).

Por fim, quero expressar minha sincera gratidão a todos os meus professores e colegas, que generosamente compartilharam seus conhecimentos e contribuíram significativamente para o meu desenvolvimento acadêmico.

RESUMO

A indústria petrolífera possui grande importância para a economia brasileira, sendo uma das principais geradoras de matéria prima para energia não renovável. Em contrapartida, essa indústria é uma grande geradora de resíduos, podendo incluir resíduos líquidos, sólidos e gasosos, que possuem vasto potencial contaminante. Dentre esses resíduos, o cascalho oriundo da perfuração de poços petrolíferos destaca-se por ser um potencial agente poluidor e por apresentar grande volume gerado. Este resíduo vem ganhando a atenção de pesquisas e estudos por apresentar substâncias químicas de interesse como Potássio (K), Cálcio (Ca), Fósforo (P), Magnésio (Mg), Ferro (Fe) e entre outros, podendo ser empregado em setores agrícolas não-alimentício, florestais e para restauração de áreas degradadas, como adubo organomineral. Porém, a utilização deste resíduo é limitada por conta do alto teor de sódio (Na) presente na sua composição, podendo trazer ecotoxicidade para as plantas e invertebrados do solo. Como estratégia adotada, os cascalhos oriundos de poços petrolíferos foram tratados com objetivo de diminuir o teor de Na. A partir disso, o presente estudo teve como principal objetivo avaliar a ecotoxicidade dos cascalhos proveniente da perfuração de poços petrolíferos das camadas pós-sal e pré-sal após o tratamento, analisando o potencial do resíduo para a produção de adubo organomineral, preconizando o seu uso em áreas florestais. Foram realizados dois ensaios ecotoxicológicos com os cascalhos tratados das camadas pré-sal e pós-sal. O primeiro ensaio foi o de crescimento e biomassa com a espécie arbórea *Mimosa scabrella*, embasado na norma ABNT NBR/ISO 11269-2 e adaptado por Silva (2019). O experimento buscou avaliar diferentes concentrações do resíduo, variando entre 0,25 a 5%, utilizando cascalho pré-sal e pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT). Foram avaliados os *endpoints* de comprimento da parte aérea e da raiz e massa seca da parte aérea e da raiz. O Segundo ensaio de ecotoxicidade foi o Sistema Microcosmos, que consiste em uma unidade experimental contendo Solo Artificial Tropical (SAT) e diferentes concentrações de cascalho, variando entre 0,25% a 5%, na qual a resposta de dois organismos-teste foi avaliada, sendo estes colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e enquitreídeos da espécie *Enchytraeus crypticus*. Neste ensaio, foi observado se o contaminante influenciou na atividade alimentar da fauna edáfica, além de permitir avaliar a reprodução dos organismos testados. Os dados foram avaliados comparando-se os tratamentos com o controle (sem adição de cascalho), usando-se Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Dunnett ($p < 0,05$), ou por meio do teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn. Em geral, os resultados mostraram que não houve ecotoxicidade associada aos resíduos para a germinação e para o desenvolvimento inicial da espécie arbórea. Para o Sistema Microcosmos, foi possível verificar que as diferentes concentrações dos cascalhos tratados não influenciaram adversamente a atividade alimentar das espécies presentes no ensaio, assim como não inibiram a reprodução dos organismos-teste. Nesse contexto, concentrações na faixa de 0,25% (equivalente a 6,5ton/ha) a 5% (equivalente a 130 ton/ha) mostram grande potencial no uso como adubo organomineral, especialmente em cenários de plantios florestais e recuperação de áreas degradadas.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Resíduo. Concentrações. Florestal.

ABSTRACT

The oil industry is of great importance to the Brazilian economy, being one of the main generators of raw materials for non-renewable energy. On the other hand, this industry is a large generator of waste, which can include liquid, solid and gaseous waste, which has vast contaminating potential. Among these residues, gravel from the drilling of oil wells stands out for being a potential polluting agent and for having a large volume generated. This residue has been gaining attention in research and studies as it presents chemical substances of interest such as Potassium (K), Calcium (Ca), Phosphorus (P), Magnesium (Mg), Iron (Fe) and others, and can be used in sectors non-food agricultural, forestry and for the restoration of degraded areas, as organomineral fertilizer. However, the use of this residue is limited due to the high sodium (Na) content present in its composition, which can cause ecotoxicity to plants and invertebrates in the soil. As a strategy adopted, cuttings from oil wells were treated with the aim of reducing the Na content. Based on this, the main objective of this study was to evaluate the ecotoxicity of cuttings from the drilling of oil wells in the post-salt and pre-salt layers after treatment, analyzing the potential of the residue for the production of organomineral fertilizer, recommending its use in forest areas. Two ecotoxicological tests were carried out with treated cuttings from the pre-salt and post-salt layers. The first test was growth and biomass with the tree species *Mimosa scabrella*, based on the ABNT NBR/ISO 11269-2 standard and adapted by Silva (2019). The experiment sought to evaluate different concentrations of residue, varying between 0.25 and 5%, using pre-salt and post-salt gravel in Tropical Artificial Soil (SAT). The endpoints of shoot and root length and shoot and root dry mass were evaluated. The second ecotoxicity test was the Microcosmos System, which consists of an experimental unit containing Tropical Artificial Soil (SAT) and different concentrations of gravel, varying between 0.25% and 5%, in which the response of two test organisms was evaluated, these being springtails of the species *Folsomia candida* and enchytraeids of the species *Enchytraeus crypticus*. In this test, it was observed whether the contaminant influenced the feeding activity of soil fauna, in addition to making it possible to evaluate the reproduction of the organisms tested. The data were evaluated by comparing the treatments with the control (without gravel addition), using Analysis of Variance (ANOVA), followed by the Dunnett test ($p < 0.05$), or using the Kruskal-Wallis followed by the Dunn test. In general, the results showed that there was no ecotoxicity associated with the residues for the germination and initial development of the tree species. For the Microcosmos System, it was possible to verify that the different concentrations of the treated cuttings did not adversely influence the feeding activity of the species present in the test, nor did they inhibit the reproduction of the test organisms. In this context, concentrations in the range of 0.25% (equivalent to 6.5 tons/ha) to 5% (equivalent to 130 tons/ha) show great potential for use as organomineral fertilizers, especially in forestry planting and land recovery scenarios. degraded.

Keywords: Ecotoxicology. Residue. Concentrations. Forestry.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 1.1 OBJETIVOS | 10 |
| 1.1.1 Objetivo geral..... | 10 |
| 1.1.2 Objetivos Específicos..... | 10 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 12 |
| 2.1 RESÍDUO PROVENIENTE DE PERFURAÇÃO DE POÇOS DE PETRÓLEO..... | 12 |
| 2.2 ECOSSISTEMAS FLORESTAIS: IMPORTÂNCIA DA FAUNA EDÁFICA | 13 |
| 2.3 ECOTOXICOLOGIA..... | 15 |
| 2.3.1 Ensaios ecotoxicológicos..... | 15 |
| 2.3.2 Fauna edáfica do solo e uso de bioindicadores | 16 |
| 2.3.3 Aspectos ecotoxicológicos do cascalho de perfuração | 17 |
| 2.4 REUSO DO CASCALHO EM ÁREAS FLORESTAIS E ÁREAS DEGRADADAS | 18 |
| 3 METODOLOGIA..... | 19 |
| 3.1 ÁREA DE ESTUDO | 19 |
| 3.2 CASCALHOS | 19 |
| 3.3 SOLO-TESTE | 21 |
| 3.4 ORGANISMOS-TESTE | 21 |
| 3.4.1 Colêmbolos <i>Folsomia candida</i>..... | 22 |
| 3.4.2 Enquitreídeos <i>Enchytraeus crypticus</i> | 23 |
| 3.5 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS | 24 |
| 3.5.1 Ensaio de crescimento e biomassa com a espécie arbórea <i>Mimosa scabrella</i>.. | 24 |
| 3.5.2 Sistema microcosmos com organismos-testes | 26 |
| 3.6 ANÁLISE DE DADOS ESTATÍSTICOS | 27 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 28 |
| 4.1 ENSAIO DE CRESCIMENTO E BIOMASSA COM A ESPÉCIE ARBÓREA <i>Mimosa scabrella</i> | 28 |
| 4.2 SISTEMA MICROCOSMOS COM ORGANISMOS-TESTE..... | 31 |
| 4.2.2 Reprodução de <i>E. crypticus</i> no Sistema Microcosmos..... | 36 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 39 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 40 |

1 INTRODUÇÃO

A indústria petrolífera é uma grande geradora de resíduos, podendo incluir resíduos líquidos, sólidos e gasosos, que possuem vasto potencial contaminante. Se descartados de forma inapropriada, estes rejeitos podem afetar a qualidade do solo, a água e a biota do solo, sendo nocivos ao meio ambiente e à saúde pública. Dentre esses resíduos, o cascalho oriundo da perfuração de poços petrolíferos destaca-se por ser um potencial agente poluidor e por apresentar grande volume gerado (Amaral Sobrinho et al., 2018; Guedes, 2014). A estimativa de geração de cascalho produzido por um poço de petróleo *offshore* é em média de 500 a 800 m³ por poço. (Silva et al., 2019).

Este resíduo vem ganhando a atenção de pesquisas e estudos, tanto de setores públicos, quanto pela iniciativa privada, pois é instantaneamente necessário oferecer destinações apropriadas para esta substância, já que o mesmo é descartado em aterros ou no oceano. Portanto, diversos projetos de pesquisas vêm analisando o reuso deste resíduo, realizando abordagens geológica, química e física, para que o mesmo possa ter um reaproveitamento, sem que precise ser descartado de forma inadequada. Dentre essas análises, temos o estudo ecotoxicológico deste conteúdo, que possui extrema importância e complementa os demais estudos. A realização de ensaios ecotoxicológicos com organismos-teste e plantas são métodos que possuem grande relevância para determinar os níveis de toxicidade do resíduo analisado (Benazzi, 2015).

Benazzi (2015), Cruz (2022) e Guedes (2014) apontaram que o cascalho pode conter propriedades químicas interessantes para oferecer às plantas, podendo ser empregado em setores agrícolas não-alimentício, florestal e para restauração de áreas degradadas, como adubo organomineral. As amostras de cascalho pré-sal e pós-sal, alvos deste estudo, apresentaram substâncias químicas de interesse para usos agrícolas e florestais, como Potássio (K), Cálcio (Ca), Fósforo (P), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), entre outros.

A estratégia atual é tratar o cascalho oriundo de perfurações petrolíferas, para que seja possível diminuir concentrações de elementos indesejáveis para o reuso em solo, priorizando minimizar os efeitos do Sódio (Na), já que é o elemento com maior teor presente no cascalho. O excesso de sais de sódio no solo pode trazer prejuízos às propriedades físicas e químicas do mesmo, provocando a redução generalizada do crescimento das plantas cultivadas, ocasionando sérios prejuízos à atividade agrícola (Schossler et al, 2012).

O cascalho sem tratamento já foi testado por Cruz (2022) utilizando ensaios ecotoxicológicos com *Mimosa scabrella*, espécie arbórea pioneira nativa da Mata Atlântica, e obteve-se resultados promissores. A espécie não foi afetada pelas proporções de cascalho testadas (até 5%), tanto do pré-sal quanto do pós-sal.

Portanto, torna-se necessário realizar ensaios ecotoxicológicos com o resíduo tratado, afim de avaliar concentrações seguras de aplicação no solo, analisando se o uso da substância apresentará efeitos adversos em ecossistemas florestais, de acordo com as dosagens testadas. Entretanto, com o cascalho devidamente tratado para diminuir os teores de elementos antagonistas para as plantas, espera-se que o reuso desta substância mostre potencial para uso em áreas florestais. Pretende-se melhorar a qualidade do solo com uso do cascalho tratado como adubo organomineral, disponibilizando macro e micronutrientes essenciais para as espécies arbóreas empregadas em plantios florestais. Também se espera que o resíduo tratado não cause efeitos adversos em invertebrados do solo, propiciando a proliferação e a riqueza da diversidade da fauna edáfica, assegurando a interação de crescimento e desenvolvimento em maior escala das espécies vegetais (Eisenhauer et al., 2012).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O estudo teve como principal objetivo avaliar a ecotoxicidade dos cascalhos proveniente da perfuração de poços petrolíferos das camadas pós-sal e pré-sal após o tratamento, analisando o potencial do resíduo para a produção de adubo organomineral, preconizando o seu uso em áreas florestais.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a ecotoxicidade dos cascalhos das camadas pós-sal e pré-sal, após tratamento, para a espécie arbórea *Mimosa scabrella* (Bracatinga), objetivando estabelecer concentrações seguras para a formulação de um adubo organomineral.

- Determinar os efeitos de diferentes concentrações dos cascalhos tratados em solo para organismos da fauna edáfica representativa de áreas florestais, através de um ensaio ecotoxicológico de Microcosmos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RESÍDUO PROVENIENTE DE PERFURAÇÃO DE POÇOS DE PETRÓLEO

A indústria de petróleo e gás encontra-se com demanda crescente, pois possui um alto consumo mundial de seus derivados, principalmente pela energia que esse setor produz e promove. Conforme o Decreto Federal nº 8.437 de 22/04/2015, temos subdivisões de classificação das atividades de exploração e produção de petróleo e gás, as quais compreendem em atividade de exploração *onshore* e *offshore*. A exploração *onshore* é aquela onde ocorre a perfuração e exploração de petróleo no ambiente terrestre, ou seja, área localizada em terra, e a *offshore* ocorre em ambiente marinho e zona de transição terra-mar ou área localizada no mar (Cruz, 2022). No Brasil, a maior parte das reservas petrolíferas está em campos marítimos, em camadas pré-sal e pós-sal (Petrobras, s.d). Nos últimos anos, foram descobertas grandes reservas petrolíferas na camada pré-sal, que está situada nas bacias do Sul e Sudeste do Brasil e tem cerca de 800 quilômetros de extensão e 200 quilômetros de largura. A camada pré-sal fica sob as camadas de pós-sal e sal, sendo a terceira classificada abaixo do nível do mar, e varia de 3 a 7 mil metros abaixo da superfície do mar (Agência Senado, s.d). Essa reserva é constituída por grandes acumulações de óleo leve, que possui excelente qualidade e alto valor comercial. Para chegar até essas reservas, foram desenvolvidas tecnologia de ponta, com auxílio e parceria com inúmeros fornecedores, universidades e centros de pesquisa (Petrobras, s.d).

Segundo o Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural emitido pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, a produção do pré-sal correspondeu a 74,7% do total de petróleo produzido no Brasil no mês de janeiro de 2022. De acordo com a Petrobras, no ano de 1984, precisava de 4.108 poços na camada pós-sal para produzir 500 mil barris de petróleo por dia. Porém, com a descoberta do pré-sal, é necessário somente 77 poços para extrair 1,5 milhão de barris por dia (Petrobras, s.d).

Em contrapartida, a indústria petrolífera pode apresentar impactos prejudiciais ao meio ambiente, já que para explorar o petróleo, acaba ocorrendo geração de grandes volumes de resíduos, sejam eles líquidos ou sólidos. Estes resíduos gerados, na maioria das vezes, devem ser tratados e devidamente destinados em locais seguros, para que não haja contaminações e impactos ao ecossistema existente (Rangel, 2015).

O cascalho proveniente da perfuração de poços petrolíferos é um dos resíduos gerados na exploração de petróleo, possui grande relevância, pois ainda se busca um

tratamento correto e eficaz para que haja destinação final ou para que seja feito o reuso deste resíduo. O cascalho é formado por fragmentos de rochas que são transportados pela broca, desta forma são carregados para superfície no fluido de perfuração. A composição química do cascalho pode variar de acordo com a formação rochosa e da composição química do fluido de perfuração, porém, de forma geral, o resíduo é composto por misturas complexas de base aquosa ou orgânica, rica em sais de sódio (Na) e baritina (BaSO_4) (Meneses e Paula, 2015). De acordo com a classificação de resíduos ABNT – 10004 (Brasil, 2004), o resíduo proveniente da perfuração dos poços de petróleo, cascalhos contendo fluidos da perfuração, classificam-se como Classe II A – não perigosos e não inertes (Benazzi, 2015). No Brasil, a destinação mais utilizada para o descarte do cascalho *offshore* é em mar e o cascalho *onshore* geralmente é descartado em aterros industriais (Cruz, 2022). Segundo Almeida (2017) destacou, o estudo sobre o gerenciamento de cascalho de perfuração é escasso, sendo necessário desenvolver estratégias e reusos sustentáveis para este resíduo.

2.2 ECOSSISTEMAS FLORESTAIS: IMPORTÂNCIA DA FAUNA EDÁFICA

Os ecossistemas florestais têm como principal característica acumular uma camada de resíduos orgânicos sobre o solo, proveniente dos indivíduos que integram a mesma, resultante da queda de folhas, galhos, cascas, árvores tombadas, etc. Com o decorrer do tempo, estes resíduos orgânicos acabam sendo decompostos, ocasionando o desaparecimento da serapilheira por meio do processo de decomposição, sucedendo a liberação dos elementos inorgânicos (mineralização), sendo essencial para a manutenção da produtividade dos ecossistemas florestais. Esse processo de extrema relevância ocorre por consequência de diversos fatores e atividades envolvidas, de modo que inúmeros organismos interagem com o solo, como plantas, microbiota e fauna edáfica do solo (Ducatti, 2002). Portanto, a qualidade do solo está correlacionada com a capacidade de desenvolver suas funções, de acordo com cada ecossistema envolvido, através do princípio de sustentação da produtividade biológica, manter a qualidade da água, ar, saúde das plantas, animais e do Homem (Silva, et al., 2020).

Córdova, Chaves e Manfredi-Coimbra (2009) estimaram a diversidade da fauna do solo em áreas de reflorestamento com *Pinus taeda*, *Pinus elliottii*, campo nativo e floresta de araucária durante períodos de seca e de alta umidade, utilizando tubos de aço a 10 cm de profundidade no solo. Como resultados, em ecossistemas naturais (campo

nativo e floresta de araucária) observou-se maior densidade da fauna edáfica, sendo mais favoráveis comparado aos ecossistemas implantados. Os táxons Acarina, Collembola, Aranae, Coleoptera, Scorpionida e Hymenoptera apareceram de forma abundante no trabalho mencionado. Tais resultados possuem concordância com Oliveira filho et al. (2018), que afirmou que formações florestais preservadas ou naturais apresentam maior riqueza, diversidade, abundância e densidade de invertebrados do solo. A qualidade e a quantidade de serapilheira influenciam em ecossistemas florestais naturais, pois apresenta diversidade de deposição de matéria orgânica, sendo mais atrativo à fauna do solo. A diversidade de serapilheiras naturais dispõe recursos suficientes para sobrevivência, habitat, fontes de alimentação, temperatura ideal e, conseqüentemente, melhores condições de reprodução.

Outro aspecto importante observado por Eisenhauer, Reich e Scheu (2012) foi que comunidades de plantas estabelecidas onde há ocorrência de rica diversidade de fauna do solo ocorre o crescimento e desenvolvimento em maior escala das espécies vegetais, pois verificou-se maior incidência de decompositores, fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias que promovem esse ganho positivo para as comunidades existentes. Já comunidades de plantas que estão em locais pobres em fauna edáfica do solo estão sujeitas a efeitos antagônicos no solo, em razão do acúmulo de patógenos, como nematoides. Através desta interação, sugere-se que ensaios de biodiversidade sejam realizados para entendermos os efeitos da biota do solo integrada com a produtividade e funcionamento de comunidades vegetais.

De acordo com Ducatti (2002), ambientes com cobertura vegetal densa e solos com menor nível de perturbação, observou-se maiores densidades de organismos da meso e macrofauna edáfica. O uso e manejo do solo são fatores interligados diretamente com as mudanças na diversidade funcional, ou seja, diversas espécies da meso e macrofauna do solo são altamente vulneráveis à intensidade do uso do solo, reduzindo a biodiversidade funcional e a qualidade biológica do solo (Yin et al., 2020).

Outro grupo de organismo de suma importância para os ecossistemas florestais é a macrofauna do solo (diâmetro do corpo ≥ 2 mm). Esse grupo é formado principalmente por minhocas, cupins, formigas, besouros, entre outros. A macrofauna desempenha papéis relevantes no solo, auxiliando na regulação das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e, por esse motivo, esse grupo é conhecido como “engenheiros do ecossistema”. Os invertebrados que fazem parte da macrofauna do solo realizam atividade de forrageamento e escavação, podendo fazer a incorporação da serapilheira no solo,

influenciando diretamente a estrutura do solo, controlando a porosidade, aumentando a matéria orgânica, oferecendo estabilidade e dinâmica aos agregados do solo e aumentando o crescimento de microrganismos que são benéficos para comunidades vegetais e afins. Além da importância da propriedade física que a macrofauna promove no solo, devemos ressaltar a importância biológica, já que esse grupo modifica ou cria habitats para outros organismos menores que vivem no solo, possibilitando o desenvolvimento de outros tipos de organismos, agregando a biodiversidade, regulando a disponibilidade de recursos de outros organismos, formando atividades microbianas e, desta forma, oferecendo grandes vantagens às mais variadas propriedades do solo (Bottinelli et al., 2015; Oliveira Filho et al., 2018).

2.3 ECOTOXICOLOGIA

A expressão “ecotoxicologia” surgiu na década de 60 e foi difundida pelo toxicologista francês René Truhaut durante uma reunião do *Committee of the International Council of Scientific Unions (ICSU)*. Desde de então, a ecotoxicologia pode ser definida como a ciência que estuda efeitos de substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, compreendendo entre animais ou plantas, estando em populações e comunidades, tais quais habitam tanto o ambiente terrestre quanto o ambiente aquático, constituindo a biosfera, onde podemos incluir a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem em um contexto integrado (Magalhães et al., 2008). Segundo Zagatto e Bertoletti (2008), a ecotoxicologia integra os princípios de diversas outras ciências como a ecologia, toxicologia, limnologia, estatística, química, oceanografia, dentre outras. Esta ciência possibilita avaliar os efeitos de agentes xenobióticos através da integração de todas essas ciências envolvidas, complementando e ligando diversos efeitos que estão correlacionados.

2.3.1 Ensaios ecotoxicológicos

Os ensaios ecotoxicológicos são procedimentos normatizados onde espécies bioindicadoras (animais ou vegetais) são expostas a solos contaminados com o produto ou resíduo de interesse, objetivando qualificar e quantificar nestes organismos os efeitos negativos. Estes ensaios são padronizados internacionalmente pela ISO (*International Organization for Standardization*) ou pela OECD (*Organization for Economic Co-*

operation and Development). No Brasil, a ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) é uma das agências que elabora e adapta as normas de testes ecotoxicológicos, padronizando assim esses ensaios com organismos-testes a serem utilizados (Niva e Brown, 2019). A inserção dos ensaios ecotoxicológicos é uma ferramenta de grande importância na avaliação ambiental, pois disponibiliza informações que, muitas vezes, outros tipos de análises rotineiras, não são capazes de determinar ou são insuficientes para determinar os danos causados ao ecossistema, além de não considerarem os efeitos sinérgicos (antagônicos ou aditivos) entre as substâncias e fatores ambientais (Benazzi, 2015). O uso de testes ecotoxicológicos é capaz de fornecer subsídios na avaliação de resíduos ou áreas contaminadas com vistas a proteger adequadamente a qualidade ambiental (Niva e Brown, 2019). Em ensaios ecotoxicológicos terrestres, utiliza-se organismos da fauna edáfica como bioindicadores de qualidade do solo para avaliar a toxicidade de substâncias orgânicos ou inorgânicos, alertando potenciais riscos de curto e longo prazo do uso excessivo e/ou continuado de resíduos em áreas agrícolas e florestais (Maccari, et al., 2020).

2.3.2 Fauna edáfica do solo e uso de bioindicadores

As espécies de invertebrados edáficos do solo contribuem com processos de extrema importância para manter e desempenhar a qualidade do solo. Podemos citar inúmeros processos como decomposição de matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, deposição de coprólitos, aeração do solo, entre outras. A fauna do solo possui papel importante na avaliação das atividades promovidas pelo homem, pois apresentam grande sensibilidade a modificações feitas no ambiente em que vivem, podendo compreender em modificações biológicas, físicas e químicas, através de práticas de manejo do solo e cultivos empregados. Dependendo da forma e intensidade da implicação realizada no solo, pode ocorrer efeitos benéficos ou maléficos para determinadas populações, podendo afetar diretamente a diversidade de organismos edáficos (Niva et al., 2012; Baretta et al., 2011).

Pelo fato de apresentarem grande sensibilidade às mudanças e impactos e rápida capacidade de reprodução, os invertebrados edáficos do solo são ideais para exercer a função de bioincadores, pois sua presença ou sua ausência pode determina a qualidade ou nível de degradação do solo. O uso de bioindicadores é fundamental no monitoramento de impactos, sejam negativos ou positivos, no caso de quaisquer descartes de resíduo no

solo. Os principais organismos edáficos usados em ensaios ecotoxicológicos consistem em Oligochaetas, grupo representado por minhocas da espécie *Eisenia andrei* Bouché, 1972 e *E. fetida* Savigny, 1826; Enchytraeidae, família também inserida na classe dos Oligochaeta, que representa enquitreídeos dos gêneros *Enchytraeus*; e Collembola, da espécie *Folsomia candida*, que são pequenos artrópodes presentes em solos do mundo todo (Niva e Brown, 2019; Benazzi, 2015). Organismos vegetais e aquáticos também podem ser empregado como bioincadores em ensaios ecotoxicológicos com análise de resíduos.

Em relação ao uso de espécies de plantas nas avaliações, a norma ABNT NBR ISO 11269-2 preconiza o uso de espécies agrícolas. Em geral há uma carência de estudos com espécies florestais, ou mesmo a aplicação dos ensaios de ecotoxicidade com invertebrados do solo sob uma perspectiva de ambientes florestais (Ortiz, 2017). Cruz (2022) utilizou a espécie arbórea bracatinga (*Mimosa scabrella*) aplicando um protocolo adaptado por Silva (2019) para determinar germinação e crescimento em solo com cascalho proveniente de poços de perfuração de petróleo.

2.3.3 Aspectos ecotoxicológicos do cascalho de perfuração

De acordo com Benazzi (2015), o resíduo proveniente de poços *onshore* mostrou-se tóxico aos invertebrados do solo mesmo em baixas concentrações. Porém, quando testado em plantas, determinadas concentrações do resíduo apresentaram efeitos positivos sobre crescimento. Segundo Machado (2012), entre os diversos elementos químicos presentes no resíduo proveniente da perfuração de poços de petróleo, observou-se que o sódio (Na) foi o mais limitante ao desenvolvimento das plantas, pois suas elevadas concentrações nas raízes e na parte aérea apresentaram grande correlação negativa significativa. Guedes (2014) ressaltou que o cascalho também possui nutrientes essenciais para as plantas, desta forma, submeteu o resíduo a lavagem e tratamento com objetivo de remover sódio (Na) e bário (Ba), visto que, esses elementos são os mais restritivos ao crescimento de plantas. O cascalho tratado apresentou efeitos positivos às plantas testadas, já que uma boa parte dos elementos deletérios foram retirados.

2.4 REUSO DO CASCALHO EM ÁREAS FLORESTAIS E ÁREAS DEGRADADAS

O cascalho proveniente da perfuração de poços petrolíferos apresenta algumas propriedades químicas de interesse aos setores agrícolas não-alimentício, florestal e para restauração de áreas degradadas, de forma que possa ser utilizado como um adubo ou fertilizante organimineral. Para que seja possível realizar o seu uso para estes devidos fins, torna-se necessário avaliar concentrações seguras para a aplicação em solo, já que o mesmo apresenta substâncias químicas que podem ser prejudiciais ao desenvolvimento das plantas e para a fauna edáfica do solo (Cruz, 2022).

Silva (2017) testou o cascalho *onshore* simulando o uso do mesmo com destinação a utilização de substratos para espécie florestal *Colubrina glandulosa* juntamente com inoculação de uma mistura de fungos micorrízico arbusculares (*Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita*, *Dentiscutata heterogama*) para avaliar o potencial efeito destes na diminuição de possíveis efeitos deletérios do cascalho, decorrentes de sua salinidade. A espécie utilizada pelo autor é conhecida por ser rústica, de fácil cultivo e com crescimento moderado a rápido, sendo ideal para ser utilizada em restauração de áreas degradadas.

Cruz (2022) usou o cascalho *offshore* pós-sal e pré-sal para avaliar germinação, altura da parte aérea, comprimento da raiz, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz da espécie arbórea *M. scabrella*. A espécie arbórea utilizada é nativa da Mata Atlântica, apresenta um alto grau de interações ecológicas e é recomendada por muitos autores como uma espécie apta para a recuperação de áreas degradadas (Silva, 2019).

É de suma importância ressaltar que os ensaios ecotoxicológicos que foram citados utilizaram o cascalho sem nenhum tipo de tratamento ou lavagem, não sendo encontrado na literatura trabalhos com espécies florestais e o uso do cascalho de perfuração tratado. Espera-se que, a partir do tratamento e lavagem do resíduo, o mesmo se torne menos tóxicos às plantas e para a fauna edáfica, possibilitando dar continuidade com trabalhos satisfatórios e que, por fim, consigamos dar destinação correta e sustentável para este rejeito.

3 METODOLOGIA

3.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente trabalho foi conduzido na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no campus Curitibanos. Os ensaios ecotoxicológicos foram desenvolvidos, montados e analisados no laboratório de Ecologia e na casa de vegetação pertencente a universidade.

3.2 CASCALHOS

As amostras dos cascalhos de perfuração foram fornecidas pelo Centro de Pesquisas Leopoldo Américo Miguez de Mello (CENPES), pertencente a empresa Petrobras. Estas amostras são provenientes de origem marítimas, de profundidade e locais diferentes, com características químicas distintas (Tabela 1). A amostra de cascalho da camada pré-sal pertence ao poço 9-MLL-83-RJS, com profundidade de 4.450 a 4.520 metros e o cascalho pós-sal pertence ao poço 7-MLL-82HA-RJS, com profundidade de 3.400 metros. As caracterizações químicas dos resíduos foram realizadas pela equipe de pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), que também desenvolve projeto de pesquisa com o cascalho de poços de perfuração.

Tabela 1. Caracterização química (teores semitotais) de nutrientes e metais nos cascalhos dos poços de Pré-sal e Pós-sal sem tratamento e com tratamento, respectivamente.

| Determinações | Sem tratamento | | Com tratamento | |
|--------------------------------|----------------|----------|----------------|---------|
| | PRÉ-SAL | PÓS-SAL | PRÉ-SAL | PÓS-SAL |
| -----g kg ⁻¹ ----- | | | | |
| P | 5,52 | 4,13 | 1,01 | 3,12 |
| K | 0,22 | 9,30 | 9,89 | 4,69 |
| Ca | 490,78 | 63,76 | 187,71 | 15,10 |
| Mg | 57,04 | 23,23 | 16,95 | 4,38 |
| Al | 1,08 | 0,34 | 6,72 | 0,56 |
| Na | 21,56 | 19,67 | 3,66 | 1,08 |
| -----mg kg ⁻¹ ----- | | | | |
| Fe | 11.158,25 | 3.217,64 | 26.389,35 | 5897,71 |
| Cu | 24,54 | 4.011,98 | 41,14 | 2,61 |
| Mn | 183,32 | 38,59 | 326,42 | 45,75 |
| Zn | 160,16 | 20,42 | 392,44 | 18,82 |

| | | | | |
|----|-------|--------|-------|-------|
| Pb | 13,57 | 1,57 | 4,64 | 0,83 |
| Cd | 0,34 | 0,24 | 0,1 | 0,1 |
| Ni | 10,38 | 94,24 | 25,23 | 106,2 |
| Cr | 29,99 | 122,07 | 36,17 | 85,99 |

Fonte: A autora (2023).

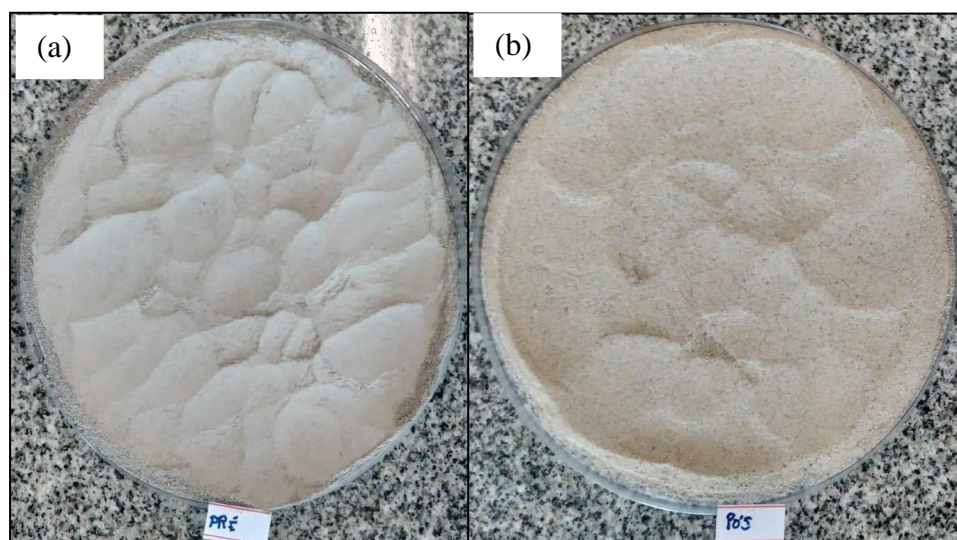
As concentrações dos cascalhos tratados foram denominadas de acordo com as concentrações que foram utilizadas com o cascalho sem nenhum tratamento, seguindo as seguintes doses: 0,25%, 0,5%, 1,0%, 2,5% e 5%. Essas concentrações foram incorporadas ao SAT (Solo Artificial Tropical) de acordo com as determinações em gramas de cada substância, conforme a Tabela 3.

Tabela 2. Relação entre concentrações do cascalho utilizadas com SAT.

| % cascalho | SAT (g) | Cascalho (g) | Total (g) |
|------------|---------|--------------|-----------|
| 0 | 200 | 0 | 200 |
| 0,25 | 199,5 | 0,5 | 200 |
| 0,5 | 199 | 1 | 200 |
| 1 | 198 | 2 | 200 |
| 2,5 | 195 | 5 | 200 |
| 5 | 190 | 10 | 200 |

Fonte: A autora (2022).

Figura 1. Aspecto geral das amostras dos cascalhos pré-sal e pós-sal oriundos dos poços 9-MLL-83-RJS e 7-MLL-82HA-RJS, respectivamente.



Legenda: (a) Imagem representativa do cascalho pré-sal; (b) Imagem representativa do cascalho pós-sal.

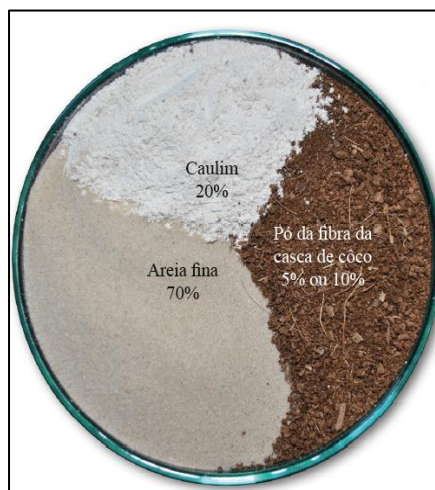
Fonte: A autora (2022).

3.3 SOLO-TESTE

Para a realização dos ensaios de ecotoxicidade, foi utilizado o Solo Artificial Tropical (SAT) que é um substrato normatizado pela OCED (1984) e adaptado por García (2004). A sua composição foi de 75% de areia fina, 20% de caulim e 5% de pó de fibra de coco (GARCIA, 2004).

A preparação do SAT requer cuidados e alguns procedimentos que devem ser realizados com os componentes do mesmo. A areia fina deve ser lavada até que seja retirada impurezas e excessos de óxido de ferro, deve ser seca em estufa a 110 °C durante 3 dias e peneirada com malha de 0,05 mm. O pó de fibra da casca de coco deverá ser seco em estufa a 40 °C durante 2 a 4 dias e peneirado em malha de 0,2 mm. Após a realização destes procedimentos, os ingredientes serão colocados em uma caixa plástica grande de aproximadamente 30 litros e serão misturados manualmente até que o SAT seja completamente homogeneizado. Após a homogeneização do substrato, deve-se medir o pH do mesmo, que deverá estar entre os valores de 5,5 a 6,5. Caso o pH do SAT não esteja dentre esses valores, ele deve ser ajustado utilizando carbonato de cálcio (CaCO_3).

Figura 2. Componentes que constituem o Solo Artificial Tropical.



Fonte: Niva e Brown (2019).

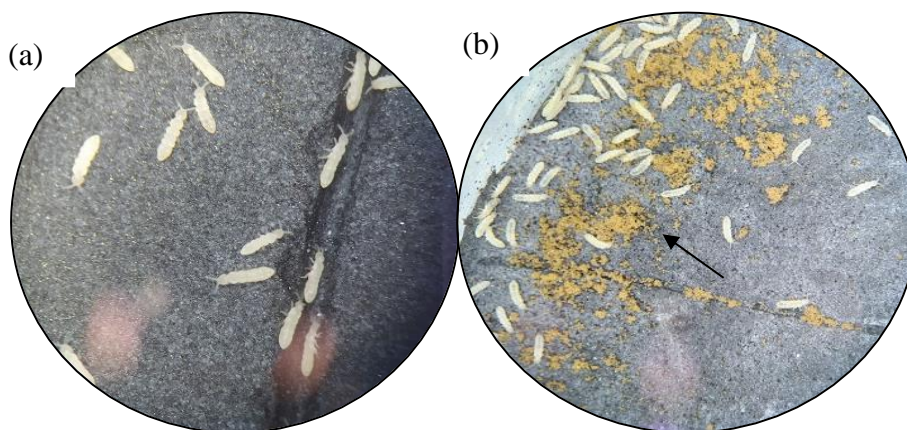
3.4 ORGANISMOS-TESTE

Todas as espécies utilizadas nos ensaios ecotoxicológicos foram provenientes de cultivos já existentes na UFSC campus Curitibanos. Estes cultivos são normatizados pela ABNT e ISO.

3.4.1 Colêmbolos *Folsomia candida*

O cultivo de colêmbolos da espécie *Folsomia candida* (Fig. 3) seguiu os critérios da norma ABNT NBR/ISO 11267 (ABNT, 2019). O meio de cultivo utilizado para essa espécie é composto por carvão ativado e gesso, na proporção 1:10. A função do uso do gesso é devido a absorção de resíduos de gases e excreções. Já o carvão ativado facilita a observação dos organismos, pois sua coloração é escura. O meio de cultivo é posto em recipientes de plástico com capacidade de 400 mL com tampas. Cada recipiente contém aproximadamente 1 cm de espessura do meio de cultivo, umedecido com água destilada. Os colêmbolos foram mantidos dentro destes recipientes, sobre o meio de cultivo, alimentados com fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) e com a adição de algumas gotas de água destilada sobre o alimento. A oferta de alimento deve ser feita de duas a três vezes por semana. Após oito semanas, deverá ser realizada a troca do recipiente e do meio de cultivo, para induzir à ovoposição dos organismos. O acondicionamento dos cultivos foi em câmara climática BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12/12 de claro/escuro, e com umidade entre 70 a 80%.

Figura 3. Cultivo de colêmbolos *Folsomia candida* vistos na lupa.



Legenda: (a) Organismos sob o meio de cultivo; (b) Seta indicando a ovoposição dos organismos adultos.
Fonte: A autora (2022).

Para obter organismos com idade padrão para os ensaios ecotoxicológicos, faz-se necessário fazer o isolamento dos ovos oriundo da ovoposição dos organismos adultos. Para tal procedimento, utilizou-se um recipiente com meio de cultivo e um fragmento de

do mesmo meio de cultivo, chamado popularmente de “pedra”, pertencente ao mesmo material do meio elaborado para os organismos. Esta pedra foi colocada no recipiente com o meio de cultivo, e sobre este material, foi depositado os ovos coletados proveniente da ovoposição de organismos adultos (Figura 4). Este procedimento é feito com a ajuda de um estereomicroscópio (lupa) e um pincel de ponta fina. Após o isolamento dos ovos, o recipiente foi colocado dentro da BOD com os demais cultivos. Os ovos foram monitorados todos os dias após seu isolamento, até ocorrer a eclosão dos mesmos. Após notar que houve a eclosão dos ovos, foi colocado fermento biológico sobre o meio de cultivo, incentivando que os juvenis descessem da pedra e permanecem sobre o meio. Após 48 horas do nascimento dos organismos, a pedra com o restante dos ovos foi removida, para que, desta forma, fosse obtido um lote de organismos sincronizados com idade padrão entre 10 a 12 dias de nascimento.

Figura 4. Isolamento dos ovos oriundo da ovoposição de adultos sob a pedra.



Fonte: A autora (2022).

3.4.2 Enquitreídeos *Enchytraeus crypticus*

O cultivo de enquitreídeos da espécie *E. crypticus* (Fig. 5) é normatizado pela norma ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012). O meio de cultivo para esta espécie é o Solo Artificial Tropical (SAT). Os organismos foram cultivados em recipientes plásticos (500 mL) com tampa perfurada, permitindo a troca gasosa com o meio externo. O pH do substrato variou entre 6 e 6,5 e a umidade foi mantida com água destilada. As caixas de cultivo foram mantidas em câmara de incubação (BOD) com temperatura entre $20 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12/12 h de claro/escuro. A farinha de aveia foi utilizada para alimentação destes organismos, oferecida *ad libitum* de duas a três vezes por semana. A substituição do meio de cultivo foi realizada a cada três meses, para evitar a contaminação do cultivo com fungos e

outros organismos. Os organismos empregados nos ensaios ecotoxicológicos estavam clitelados.

Figura 5. Enquitreídeos da espécie *Enchytraeus crypticus* vistos através do estereomicroscópio (lupa).



Fonte: A autora (2022).

3.5 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

Foi realizado um ensaio de crescimento e biomassa com espécie arbórea *M. scabrella* (bracatinga) avaliando alguns *endpoints* como comprimento da raiz e parte aérea, massa seca da raiz e parte aérea. A espécie arbórea *M. scabrella* vem sendo empregada em ensaios ecotoxicológicos, pois apresenta diversas interações ecológicas, é uma espécie pioneira e favorece a sucessão ecológica em ambientes degradados (SILVA, 2018).

Também foi executado um ensaio ecotoxicológico utilizando o Sistema Microcosmos, que consiste em uma unidade experimental replicável contendo SAT e o resíduo a ser testado, na qual a resposta de mais de uma espécie foi avaliada. Foi observado se o resíduo influenciou na atividade alimentar da fauna edáfica, já que esta ação está diretamente ligada a uma importante função ecológica, que é a degradação da matéria orgânica. (Burrows e Edwards, 2004; Bart et al., 2018). O teste de ecotoxicidade utilizando microcosmos não possui nenhuma normativa específica, portanto, o ensaio foi realizado de acordo com trabalhos que já foram executados anteriormente e que estão disponíveis na literatura.

3.5.1 Ensaio de crescimento e biomassa com a espécie arbórea *Mimosa scabrella*

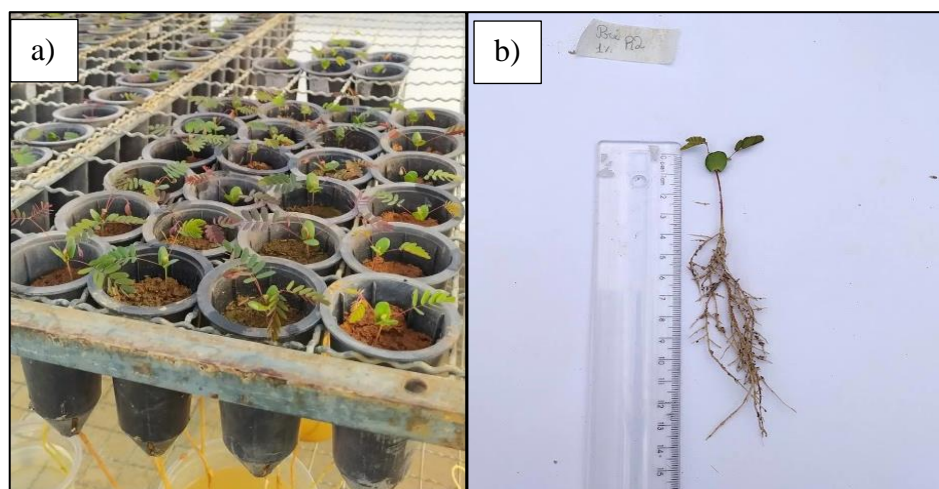
O ensaio de ecotoxicidade foi executado de acordo com as recomendações da norma ABNT NBR/ISO 11269-2 (ABNT, 2014), com adaptações realizadas por Silva

(2019). O mesmo foi conduzido na casa de vegetação da UFSC – Campus de Curitibanos, com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ (Fig. 6).

O ensaio contou com 4 réplicas e cada tratamento foi determinado de acordo com as concentrações dos cascalhos. Ao todo foram 6 tratamentos, incluindo o tratamento controle (sem adição do resíduo), para o cascalho pré-sal e pós-sal, com as concentrações variando entre 0,25% a 5%. Os recipientes-teste utilizados foram tubetes de 175 cm^3 com aproximadamente 130 g de SAT e cascalho, umedecido até 50% da sua capacidade de retenção de água (CRA). Foram adicionadas três sementes de bracatinga para cada tubete e a irrigação das plantas foi realizada manualmente pelo menos uma vez no dia. As sementes foram submetidas a imersão em água destilada quente (80°C) por aproximadamente 18 horas para superação da dormência. Após o 10º dia do estabelecimento do ensaio, foi realizado o raleio permanecendo apenas uma plântula por réplica.

O experimento foi finalizado após o 35º dia a partir do raleio das plântulas. As mudas foram removidas dos tubetes e realizou-se as aferições do comprimento da parte aérea e da raiz, sendo aferidos com auxílio de uma régua (em centímetros). Após este aferimento, as plantas foram depositadas em sacos de papel com a sua devida identificação. Posteriormente, as mesmas foram submetidas a uma secagem em estufa com circulação de ar a 60°C até atingirem peso constante. A partir deste processo, foram determinadas a massa seca da parte aérea e da raiz. As plantas foram cortadas na região do hipocótilo para serem pesadas individualmente com o auxílio de uma balança analítica.

Figura 6. Ensaio ecotoxicológico com *M. scabrella*.



Legenda: (a) As réplicas em casa de vegetação; (b) Aferição dos endpoints.

Fonte: A autora (2022).

3.5.2 Sistema Microcosmos com organismos-testes

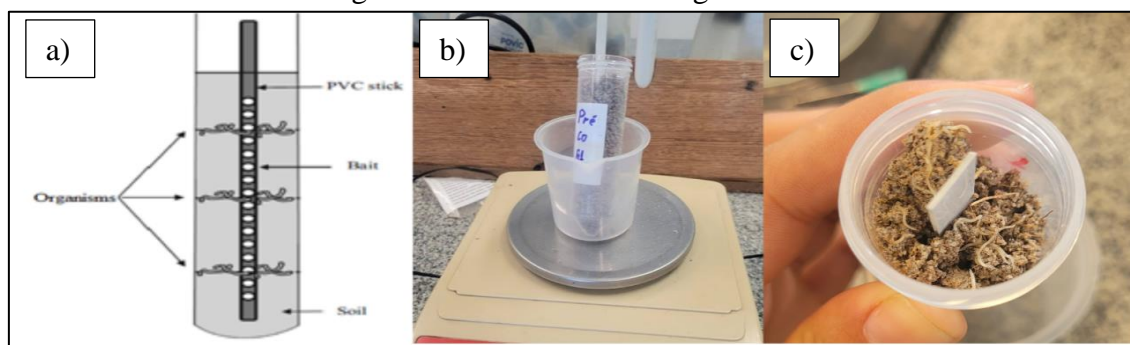
O presente ensaio de ecotoxicidade consistiu na realização de um microcosmos com duração de 30 dias, utilizando diferentes concentrações dos cascalhos (Tabela 2), que foram homogêneos com o SAT. Em cada réplica, adicionou-se duas espécies de organismos-teste, tais quais consistiam em enquitreídeos da espécie *Enchytraeus crypticus* e colêmbolos da espécie *Folsomia candida*.

Foram utilizados tubos falcon com capacidade 50 mL, adicionando as misturas de SAT com cascalho tratado, totalizando 40 g do substrato. Também foram adicionados 20 colêmbolos com idades entre 10 a 12 dias e 20 enquitreídeos clitelados.

Para determinação da atividade alimentar da fauna do solo, em cada réplica foi inserida uma unidade de lâminas-iscas, conhecido como método *bait lamina* normatizado pela ISO 18311 (ISO, 2016). As lâminas-iscas são compostas por placas de plástico PVC fino, com tamanho de 120 mm x 6 mm x 1mm, com sua ponta com formato pontiagudo na extremidade inferior, sendo feitos 16 aberturas de 1,5 mm de diâmetro, com espaçamento entre 5 mm, já que essas aberturas servem para alocação da isca. O alimento utilizado como isca possui composição de 70% celulose, 25% farinha de trigo e 5% de carvão ativado.

Ao final dos 30 dias, as lâminas foram removidas e realizou-se a contagem do número de aberturas onde a isca foram consumidas pela fauna. O consumo nos tratamentos foi comparado estatisticamente com o consumo do tratamento controle, onde não há a presença do cascalho. Com a realização deste teste, foi possível verificar se as diferentes concentrações do cascalho influenciaram adversamente a função alimentar das espécies presentes no teste.

Figura 7. Ensaio ecotoxicológico Microcosmos.

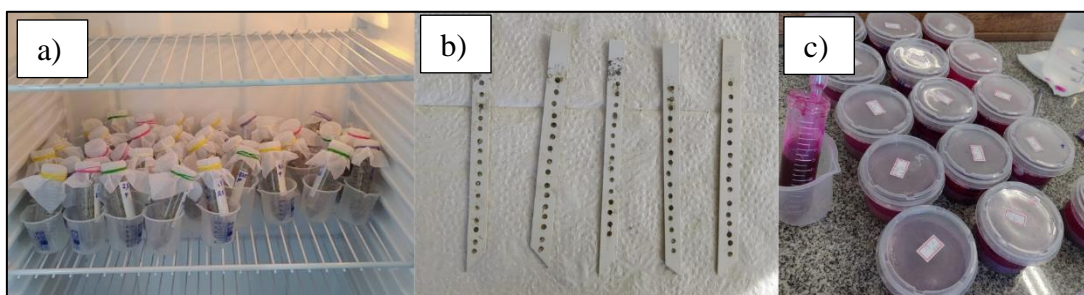


Legenda: (a) Ilustração do recipiente-teste usado como microcosmo com a inserção da lâmina-isca. (b) Pesagem do solo com a inserção da *bait-lamina*. (c) Adição dos organismos-teste em cada réplica.
Fonte: A autora (2022).

Ao final do ensaio ecotoxicológico, realizou-se a contagem dos organismos-teste presentes em cada réplica, seguindo adaptações das normas ABNT NBR/ISO 11267 (ABNT, 2019) que estabelece informações sobre ensaio de reprodução de colêmbolos *F. candida* e pela norma NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012), que determina ensaio de reprodução com *E. crypticus*.

Os tratamentos deste ensaio correspondem às diferentes concentrações do cascalho, sendo dois tratamentos controle, um para o cascalho pré-sal e outro para o pós-sal, com apenas o SAT, e cinco tratamentos com diferentes concentrações dos cascalhos tratados, como consta na Tabela 2. Cada tratamento apresentou seis réplicas e uma dessas réplicas não recebeu organismos, sendo utilizada para determinação de umidade e pH ao final do ensaio. Cada réplica recebeu um *bait lamina* para avaliar a atividade alimentar dos organismos. O teste ecotoxicológico foi mantido em câmara climatizada a $20^{\circ}\text{C} \pm 1$ com fotoperíodo de luz/escuro de 12h/12h.

Figura 8. Finalização do ensaio Microcosmos.



Legenda: (a) Réplicas mantidas em BOD. (b) Avaliação das *bait-laminas*. (c) Método utilizado para realizar a contagem dos organismos-teste.

Fonte: A autora (2022).

3.6 ANÁLISE DE DADOS ESTATÍSTICOS

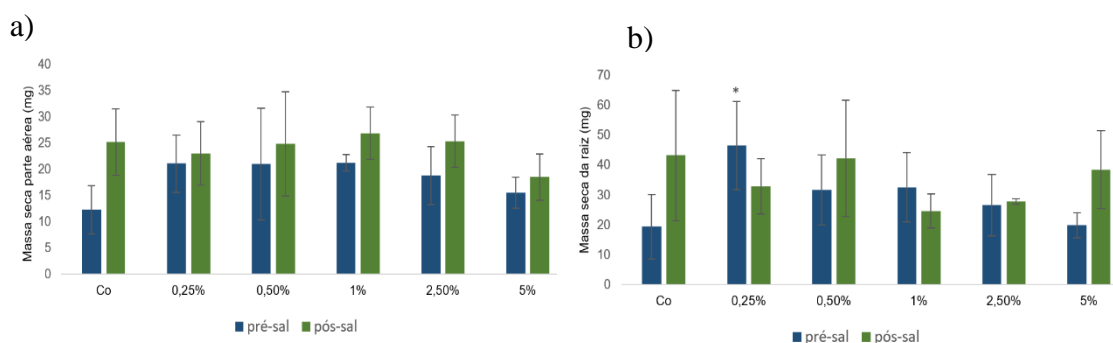
Os resultados para cada *endpoint* avaliado, tanto no microcosmos quanto no ensaio com plantas, foram analisados usando a Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste post-hoc de Dunnett ($p < 0,05$), comparando o desempenho das espécies nos tratamentos com o controle (sem adição de cascalho). Foi utilizado o software MiniTab 16. A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram testadas usando meio do teste de Shapiro-Wilks e Bartlett, respectivamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ENSAIO DE CRESCIMENTO E BIOMASSA COM A ESPÉCIE ARBÓREA *Mimosa scabrella*

Os resultados do ensaio ecotoxicológico com a espécie arbórea *M. scabrella* utilizando os cascalhos da camada pré-sal e pós-sal são apresentados nas Figuras 9 e 10. Em geral, os cascalhos não apresentaram ecotoxicidade nas concentrações testadas para os parâmetros massa seca e comprimento, tanto da parte aérea quanto da raiz. De forma atípica, houve diferença estatística ($p < 0,05$) para a proporção de 0,25% do cascalho pré-sal comparado com o tratamento controle, para o *endpoint* de massa seca da raiz, conforme a Fig. 9, indicando um ganho de massa seca neste tratamento.

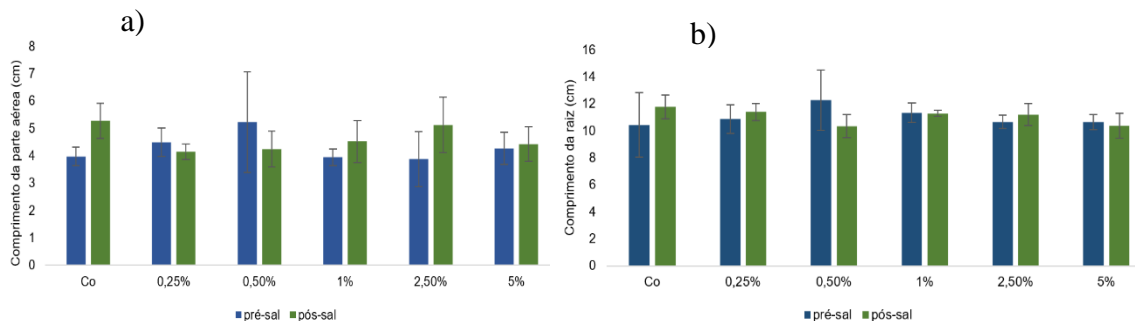
Figura 9. Massa seca da parte aérea (a) e da raiz (b) de *Mimosa scabrella* (média \pm intervalo de confiança) exposta a diferentes proporções do cascalho tratado da camada pré-sal e pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT), cultivado por 45 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett ($p < 0,05$)).



Fonte: A autora (2023).

Os resultados obtidos estão de acordo com Cruz (2022), que testou os cascalhos pré-sal e pós-sal sem tratamento em um ensaio de crescimento e biomassa com a mesma espécie em Solo Artificial Tropical. A autora verificou que não houve efeitos significativos nas concentrações de 0,25% a 5% do cascalho pré-sal para os *endpoints* de massa seca da parte aérea e da raiz e comprimento da parte aérea. Porém, notou-se de forma atípica, diferenças significativas nos tratamentos de 1% e 4% para o *endpoint* de comprimento da raiz. Para o cascalho pós-sal, a autora não encontrou diferença significativa ($p < 0,05$) para nenhum dos *endpoints* avaliados.

Figura 10. Comprimento da parte aérea (a) e da raiz (b) de *Mimosa scabrella* (média \pm intervalo de confiança) exposta a diferentes proporções do cascalho tratado da camada pré-sal e pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT), após 45 dias de exposição. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett ($p < 0,05$)).



Fonte: A autora (2023).

Martins (2022) realizou um ensaio de crescimento e germinação com alface (*Lactuca sativa*) testando os cascalhos pré-sal e pós-sal tratados adicionados ao SAT. De acordo com os resultados obtidos, houve a germinação em todos os tratamentos testados. Não houve redução significativa ($p < 0,05$) para o crescimento da raiz (cm) e altura da parte aérea (cm). Porém, foi observado uma redução significativa no acúmulo de massa seca (mg) nos tratamentos 0,5, 2,5 e 5% da camada pré-sal, indicando efeitos negativos deste resíduo sobre as plantas.

Silva (2017) testou o cascalho *onshore* simulando o uso do resíduo com destinação à utilização de substratos. A espécie florestal utilizada no experimento foi a *Colubrina glandulosa*, juntamente com a inoculação de uma mistura de fungos micorrízico arbusculares (*Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita*, *Dentiscutata heterogama*). O objetivo do estudo foi avaliar o potencial efeito dos fungos na diminuição de possíveis efeitos deletérios do cascalho, decorrentes de sua salinidade. A espécie utilizada pela autora é conhecida por ser rústica, de fácil cultivo e com crescimento moderado a rápido, ideal para utilização em restauração de áreas degradadas. Silva (2017) verificou que o crescimento em altura e diâmetro do coleto da espécie *C. glandulosa* foi afetado a partir da concentração de 10% do resíduo, ocasionando redução do desenvolvimento das plantas. Já os tratamentos que foram associados com os fungos micorrízicos arbusculares apresentaram crescimento uniforme em altura, diâmetro e massa seca total, verificando-se que os fungos amenizaram o estresse prejudicial sobre o crescimento da espécie.

Cruz (2022) mencionou que a espécie arbórea *M. scabrella* apresenta grande potencial para o cultivo em solo salino e também alta adaptação para ser utilizada em recuperação de áreas degradadas. A autora também realizou ensaios ecotoxicológicos com organismos-teste representantes de invertebrados do solo, importantes em processos ecossistêmicos em florestas. Através deste estudo, verificou-se que as plantas apresentaram menor sensibilidade comparado aos invertebrados, apontando que as concentrações seguras do resíduo podem ser diferentes para plantas e para a fauna, preconizando sempre a menor concentração a ser disposta no solo.

Para o cascalho tratado da camada pós-sal, os resultados não apontaram ecotoxicidade para as concentrações testadas. De acordo com os *endpoints* avaliados, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tratamento controle e os demais tratamentos com adição de cascalho pós-sal, conforme as figuras 9 e 10. De forma geral, o cascalho pós-sal apresenta menores teores de macronutrientes, micronutrientes e metais pesados comparado com o cascalho da camada pré-sal, portanto, pode gerar efeitos menos adversos aos organismos expostos.

Cruz (2022) realizou um ensaio de crescimento e biomassa com bracatinga utilizando cascalho *offshore* da camada pós-sal sem tratamento adicionados em SAT. A autora concluiu que o resíduo não causou ecotoxicidade para os mesmos *endpoints* avaliados no presente estudo. Porém, observou-se uma redução significativa atípica na concentração de 2,5%. A autora também efetuou um ensaio de germinação e crescimento com alface (*L. sativa*), avaliados por meio de elutriatos com cascalhos pré-sal e pós-sal sem tratamento. Os resultados indicaram a germinação em todos os tratamentos, sem redução significativa ($p < 0,05$) para o crescimento da raiz (cm), quando comparadas ao controle. Martins (2022) realizou um ensaio de germinação e crescimento de plantas com alface (*L. sativa*) com cascalho pós-sal tratado utilizando SAT. Neste estudo, foi possível observar que os resultados não indicaram redução significativa ($p < 0,05$) comparado com o tratamento controle para altura da parte aérea (cm), crescimento de raiz (cm) e massa seca da raiz e parte aérea (mg) para todas as concentrações testadas.

Sobre as concentrações de cascalhos, Cruz (2022) testou o cascalho *onshore* (de poços terrestres), sem tratamento para remoção de Na, variando de 5% a 20% a porcentagem de cascalho adicionada ao SAT em ensaio de crescimento com bracatinga. Os dados obtidos revelaram que concentrações acima de 5%, de forma geral, apresentaram uma redução significativa ($p < 0,05$) para mesmos *endpoints* avaliados neste estudo, exceto para a massa seca da parte aérea. Importante ressaltar que as características

químicas, físicas e geológicas alteram-se de forma significativa, visto que o cascalho *onshore* é extraído em ambiente terrestre e o *offshore* é extraído em ambiente marinho.

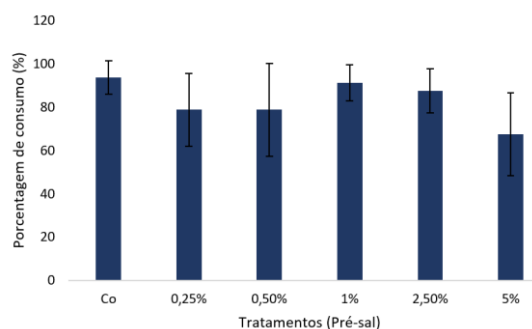
Contudo, Silva (2018) ressalta que trabalhos ecotoxicológicos com espécies arbóreas são escassos, portanto, tem-se a necessidade de mais estudos e investigações utilizando tais organismos, buscando também a padronização de espécies arbóreas para fins comparativos e uniformidade.

Leite (2015) enfatiza que é necessário investigar e analisar minuciosamente os benefícios do emprego de resíduos na agricultura como fontes de adubo ou fertilizantes. Isso se deve ao fato de que, frequentemente, os resíduos apresentam desequilíbrios em termos de teores nutricionais adequados para atender às necessidades das plantas (como é o caso das relações C/N, Ca/Mg e K/Mg). Além disso, existe desconhecimento acerca da eficácia na liberação desses nutrientes, da composição química do material orgânico e da possível presença de substâncias e elementos que poderiam representar riscos ambientais nos resíduos.

4.2 SISTEMA MICROCOSMOS COM ORGANISMOS-TESTE

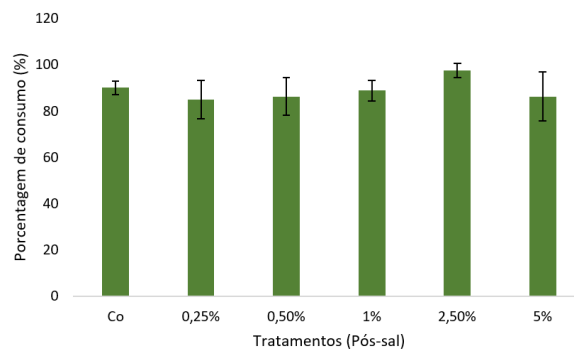
O principal resultado obtido no ensaio ecotoxicológico de Sistema Microcosmos é a avaliação da atividade alimentar dos organismos-teste. Foi possível avaliar visualmente e quantificar a porcentagem de consumo, pela fauna edáfica do solo, através do substrato aderido aos orifícios de uma lâmina plástica introduzida ao solo-teste (ISO, 2016). Portanto, de acordo com as figuras 11 e 12, é notável que as porcentagens de consumo de *bait lamina* não foram afetadas em nenhum tratamento, tanto do cascalho pré-sal quanto do pós-sal, ambos tratados.

Figura 11. Porcentagem de consumo médio (média \pm intervalo de confiança) de iscas *bait lamina* para o cascalho tratado da camada pré-sal em função de suas diferentes concentrações, no ensaio de microcosmos após 30 dias de exposição.



Fonte: A autora (2023).

Figura 12. Porcentagem de consumo médio (média \pm intervalo de confiança) de *iscas bait lamina* para o cascalho tratado da camada pós-sal em função de suas diferentes concentrações, no ensaio de microcosmos após 30 dias de exposição.



Fonte: A autora (2023).

Helling et al. (1989) foi o precursor deste método de avaliação alimentar utilizando *bait lamina* e diferentes invertebrados do solo em estudos de abrangência laboratorial. O mesmo utilizou duas espécies representativas de colêmbolos (*Folsomia candida* e *Onychiurus fimatus*) e duas espécies de enquitreídeos (*Enchytraeus minutus* e *Enchytraeus lacteus*) para determinar quais táxons realmente se alimentavam de iscas *bait lamina* e quais eram as preferências alimentares dos organismos testados. Os autores utilizaram compartimentos de 50 cm³ com adição de 75 g de solo e constataram uma alta taxa de consumo alimentar dos colêmbolos e enquitreídeos, o que está de acordo com os resultados encontrados no presente estudo.

É notável que as proporções de cascalhos tratados testados não afetaram o consumo alimentar dos organismos-teste, indicando que os parâmetros estruturais e funcionais do solo não foram afetados. A estratégia para integrar investigações funcionais na biologia do solo ao nível de ecossistema tem a vantagem de explicar os processos que envolvem a decomposição da matéria orgânica, mudanças importantes na estrutura e funcionabilidade do solo, questões de gestão de ecossistemas e proteção do solo (Kratz, 1998).

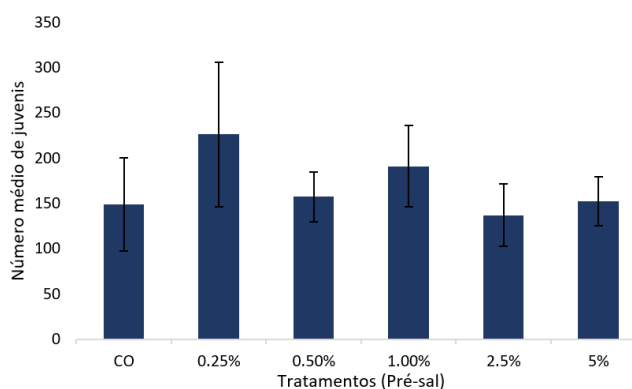
De acordo com Bart et al. (2018), o microcosmo utilizando *bait lamina* adaptado para condições laboratoriais é um método de fácil execução, rápido e barato, o que torna-o uma ferramenta relevante a ser utilizada em avaliações ecológicas. Além disso, este método permite avaliar a resposta de mais de um organismos-teste no mesmo experimento. Mas é relevante ressaltar que o método microcosmos realizado em laboratório não substitui o uso do *Bait-Lamina Test* (BLT) em campo, onde há toda a complexidade e dinamismo de um ecossistema biodiverso. Portanto, assim que a

formulação do adubo organomineral for concluída e disposta a campo, é imprescindível a realização do BLT para avaliar a função de habitat do solo e o funcionamento relevante que a fauna do solo representa nos processos ecológicos.

4.2.1 Reprodução de *F. candida* no Sistema Microcosmos

No Sistema Microcosmos, além da avaliação da atividade alimentar dos organismos-teste, também houve a mensuração da reprodução dos colêmbolos *F. candida*. Para os tratamentos do cascalho pré-sal, os resultados obtidos mostraram que não houve diferença estatística ($p < 0,05$) comparado com o tratamento controle (Figura 15).

Figura 13. Número médio de juvenis de colêmbolos *F. candida* (média \pm intervalo de confiança) expostos a diferentes proporções do cascalho tratado da camada pré-sal em Solo Artificial Tropical (SAT) no ensaio Microcosmos, após 30 dias de exposição.



Fonte: A autora (2023).

O cascalho pré-sal tratado não apresentou ecotoxicidade em todas as proporções testadas, mostrando desacordo com dados encontrados por Martins (2022) que testou o mesmo resíduo tratado, porém, houve reduções significativas na reprodução de colêmbolos nas concentrações de 0,50%, 2%, 4% e 5%. A maior proporção testada pela autora (5%) foi a que mais apresentou ecotoxicidade aos organismos-teste. No presente ensaio ecotoxicológico, foi possível observar que o número médio de juvenis da concentração de 5% manteve-se próximo ao número médio encontrado para o tratamento controle, que não possui adição de cascalho. Como o Sistema Microcosmos segue padrões diferentes ao ensaio normatizado de reprodução com colêmbolos, pode haver uma

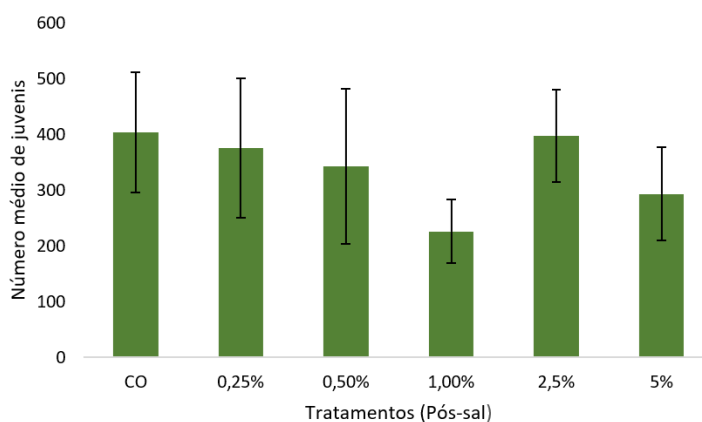
possível explicação sobre a discrepância entre essas diferenças de reproduções do organismo testado.

Em ensaio de reprodução de *F. candida* utilizando cascalho pré-sal sem tratamento, Cruz (2022) encontrou redução significativa ($p < 0,05$) em proporções a partir de 1% e inibição total a partir de concentrações de 7,5%. De acordo com a autora, a inibição de reprodução dos invertebrados do solo pode estar relacionada com as altas concentrações de Na presentes no cascalho pré-sal sem tratamento, o que foi evidenciado pelos altos valores de condutividade elétrica ao início e ao final dos ensaios. No presente estudo, como o cascalho passou por tratamento para redução de Na (método a ser patenteado, por isso, não está descrito neste trabalho), as avaliações biológicas demonstram que de fato o tratamento reduziu a ecotoxicidade deste resíduo.

Mesmo não havendo diferença estatística ($p < 0,05$), é notável que o tratamento 0,25% apresentou maior média comparado com os demais tratamentos, incluindo o tratamento controle. Essa mesma tendência também foi observada por Martins (2022), que obteve a maior média de número de juvenis na mesma proporção testada, porém, sem diferenças estatísticas ($p < 0,05$). Tais resultados podem indicar uma possível dosagem a ser utilizada na formulação do adubo organomineral, já que não apresentou toxicidade aos organismos-teste e estimulou a reprodução dos mesmos.

Para o cascalho tratado da camada pós-sal, também houve a contagem dos juvenis após a finalização do Sistema Microcosmos (Fig. 14).

Figura 14. Número médio de juvenis de colêmbolos *F. candida* (média \pm intervalo de confiança) expostos a diferentes proporções do cascalho tratado da camada pós-sal em Solo Artificial Tropical (SAT) no ensaio Microcosmos, após 30 dias de exposição.

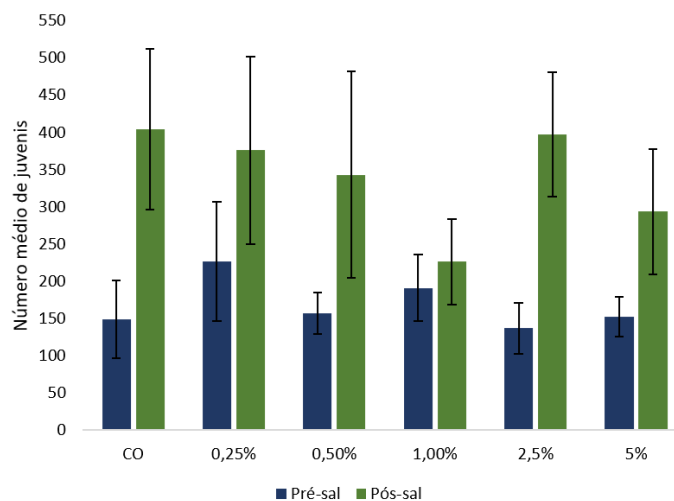


Fonte: A autora (2023).

De acordo com os dados obtidos, não houve diferença significativa entre os tratamentos em comparação com o tratamento controle, portanto, é possível afirmar que não houve ecotoxicidade associada ao resíduo em nenhuma das concentrações testadas.

Em comparação com o número médio dos indivíduos mensurados no cascalho pré-sal tratado, observa-se um grande aumento na reprodução dos colêmbolos com o uso do cascalho pós-sal, como pode ser visto na Fig. 15. É fundamental destacar que os ensaios ecotoxicológicos Microcosmos para os cascalhos pré-sal e pós-sal foram realizados simultaneamente, ocorrendo na mesma câmara de incubação (BOD), e sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade.

Figura 15. Comparativo entre cascalho pré-sal e pós-sal sobre o número médio de juvenis (média \pm intervalo de confiança) de colêmbolos *F. candida* no Sistema Microcosmos, após 30 dias de exposição.



Fonte: A autora (2023).

Em testes com cascalho pós-sal sem tratamento utilizando SAT, Cruz (2022) observou inibições na reprodução de *F. candida* a partir da concentração de 4%. Já Martins (2022), não observou inibição de reprodução dos organismos em todas as concentrações de cascalho pós-sal tratado com SAT, corroborando com os dados obtidos no presente estudo. O cascalho pós-sal é caracterizado por possuir menor teor de Na e outros elementos químicos que possam ser deletérios aos organismos terrestre, portanto, esse fator pode estar associado à alta reprodução dos colêmbolos comparado com o cascalho pré-sal, que possui maior teor de Na, mesmo após o tratamento (Tabela 2).

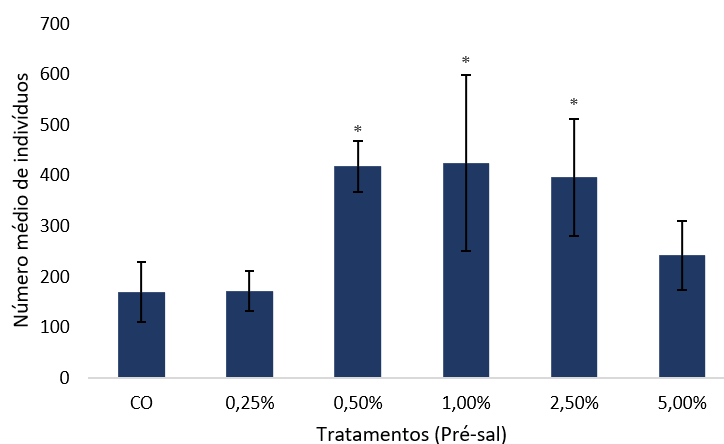
Apesar de ter demonstrado uma redução de número médio de juvenis na concentração de 1%, o cascalho pós-sal tratado possui um grande potencial para a

formulação do adubo organomineral, principalmente considerando menores proporções de uso (0,25 a 0,5%), embora as maiores concentrações também tenham apresentado bons resultados em relação a reprodução de colêmbolos e crescimento de plantas.

4.2.2 Reprodução de *E. crypticus* no Sistema Microcosmos

A reprodução de enquitreídeos também foi determinada no ensaio Microcosmos (Fig. 16). Para os tratamentos com cascalho pré-sal tratado, é possível observar diferenças estatísticas ($p < 0,05$) nas concentrações 0,50%, 1% e 2,5% onde houve estímulo à reprodução dos enquitreídeos.

Figura 16. Número médio de indivíduos de *E. crypticus* (média \pm intervalo de confiança) expostos a diferentes proporções do cascalho tratado da camada pré-sal em Solo Artificial Tropical (SAT) no ensaio Microcosmos após exposição de 30 dias. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett ($p < 0,05$)).



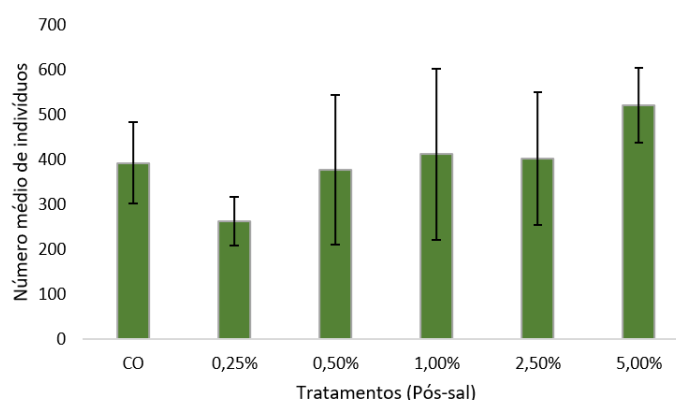
Fonte: A autora (2023).

De acordo com a figura 16, pode-se observar que o número médio de enquitreídeos aumentou significativamente em três proporções do cascalho pré-sal, gerando diferenças estatísticas em comparação com o tratamento controle, que não possui adição de cascalho. Os resultados obtidos estão de acordo com Martins (2022), que utilizou o mesmo resíduo tratado em um ensaio de reprodução com enquitreídeos. Segundo os dados obtidos neste ensaio, não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos, mas as médias que apresentaram aumento na reprodução comparado com o tratamento controle, foram nas concentrações de 0,25%, 0,50%, 1% e 2%.

Cruz (2022) realizou um ensaio de reprodução com enquitreídeos utilizando cascalho da camada pré-sal sem tratamento, e observou que os organismos sofreram inibição reprodutiva a partir da proporção de 4%.

Para o cascalho tratado da camada pós-sal, não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre as concentrações testadas em comparação com o tratamento controle (Figura 17).

Figura 17. Número médio de indivíduos de *E. crypticus* (média \pm intervalo de confiança) expostos a diferentes proporções do cascalho tratado da camada pré-sal em Solo Artificial Tropical (SAT) no ensaio Microcosmos após 30 dias de exposição.



Fonte: A autora (2023).

De forma atípica, a maior média de número de indivíduos encontrados foi na maior proporção testada (5%), estando de acordo com Martins (2022), que encontrou médias de indivíduos semelhantes em um ensaio de reprodução com *E. crypticus* com o mesmo resíduo tratado. Para o cascalho pós-sal sem tratamento, Cruz (2022) encontrou inibição da reprodução dos organismos a partir da concentração de 2,5%. Também neste caso, os ensaios do presente estudo mostram a eficiência do tratamento na redução da ecotoxicidade.

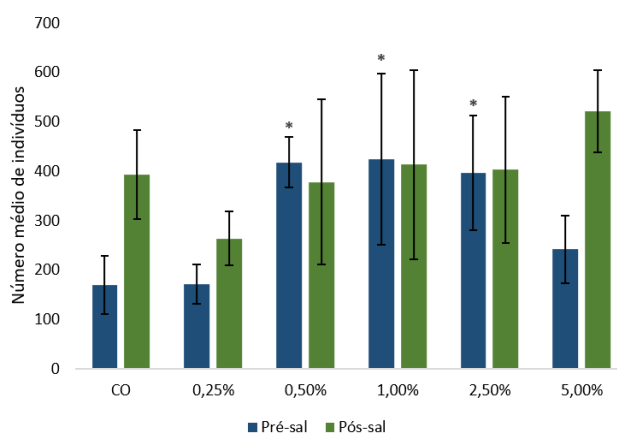
Diferentemente do comparativo dos dois cascalhos com o número médio de juvenis de colêmbolos (Figura 15), o número médio de indivíduos de enquitreídeos não apresentou diferenças significativas entre os cascalhos da camada pré-sal e pós-sal, exceto na concentração de 5% do pós-sal e no tratamento controle (Figura 18).

A princípio, esperava-se maior sensibilidade na reprodução de enquitreídeos do que na reprodução dos colêmbolos. Enquitreídeos são organismos de corpo mole, o que implica na absorção de água e oxigênio que ocorre através da epiderme, portanto,

deveriam estar mais expostos ao Na e outros elementos químicos através do solo. Os colêmbolos, por sua vez, possuem um exoesqueleto que oferece uma maior proteção contra substâncias nocivas no solo (Pereira et al., 2015).

Dado que o cascalho proveniente das perfurações de poços petrolíferos constitui-se de uma matriz complexa que incorpora uma variedade de outros potenciais elementos contaminantes, tais como o Bário que advém do fluido de perfuração, metais e hidrocarbonetos, é plausível supor que outros contaminantes também possam afetar a resposta dos organismos, mesmo que o resíduo tenha sido tratado para mitigar as consequências tóxicas incorporadas (Cruz, 2022).

Figura 18. Comparativo entre cascalho pré-sal e pós-sal tratados sobre o número médio de indivíduos (média \pm intervalo de confiança) de enquitreídeos *E. crypticus* no Sistema Microcomos após 30 dias de exposição. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett ($p < 0,05$)).



Fonte: A autora (2023).

Outro fator relevante que deve ser discutido é o tipo de solo a ser utilizado com o resíduo estudado, já que diferentes tipos de solo podem afetar a ecotoxicidade de substâncias e conseqüentemente, afetar a resposta dos organismos terrestre (Cruz, 2022; Domene et al., 2011). Portanto, torna-se necessário realizar ensaios com o mesmo resíduo, seja ele com ou sem tratamento, porém, utilizando solos naturais para resultados mais concretos.

5 CONCLUSÃO

Os cascalhos tratados provenientes da perfuração de poços petrolíferos das camadas pré-sal e pós-sal não apresentaram ecotoxicidade à espécie arbórea *M. scabrella* e para os organismos-teste empregados no Sistema Microcosmos.

No ensaio de crescimento e biomassa com a espécie arbórea *Mimosa scabrella*, foi possível observar, através da avaliação dos *endpoints*, que não houve ecotoxicidade associado aos resíduos tratados com a utilização de Solo Artificial Tropical para todas as concentrações testadas. Dessa forma, o uso dos resíduos após o tratamento pode apresentar resultados favoráveis para espécies arbóreas empregadas em plantios florestais. Entretanto, é necessário a realização de mais ensaios ecotoxicológicos com outras espécies arbóreas de interesse econômico, e também, o emprego de solos naturais nesses ensaios.

No ensaio ecotoxicológico Sistema Microcosmos, constatou-se a ausência de ecotoxicidade relacionada aos resíduos testados em Solo Artificial Tropical. As diferentes concentrações dos cascalhos das camadas pré-sal e pós-sal após o tratamento não apresentaram efeitos adversos para a atividade alimentar dos organismos-teste, assim como para a reprodução de colêmbolos e enquitreídeos.

Nesse contexto, concentrações na faixa de 0,25% (equivalente a 6,5ton/ha) a 5% (equivalente a 130 ton/ha) mostram grande potencial no uso como adubo organomineral, especialmente em cenários de plantios florestais e recuperação de áreas degradadas. Vale destacar que, para a espécie arbórea pioneira e os organismos do solo comumente encontrados em áreas florestais, todas as concentrações não demonstraram ecotoxicidade alguma.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA SENADO. **Pré-Sal**. [s.d]. Disponível em:

<<https://www12.senado.leg.br/noticias/entenda-o-assunto/pre-sal#:~:text=A%20camada%20pr%C3%A9%20sal%20%C3%A9,abaixo%20da%20superf%C3%ADcie%20do%20mar>> Acesso em: 10 maio 2022.

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

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.

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. ABNT. ABNT: Rio de Janeiro, 2014.

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.

BARETTA, D.; SANTOS, J. C. P.; SEGAT, J. C.; GEREMIA, E. V.; OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; ALVES, M. V. Fauna edáfica e qualidade do solo. **Tópicos Ciência do Solo**. p. 119-170, 2011.

BART, S.; ROUDINE, S.; AMOSSÉ, J.; MOUGIN, C.; PÉRY, A. R. R.; PELOSI, C. How to assess the feeding activity in ecotoxicological laboratory tests using enchytraeids? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 33844-33848, 2018.

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.

BOTTINELLI, N.; JOUQUET, P.; CAPOWIEZ, Y.; PODWOJEWSKI, P.; GRIMALDI M.; PENG, X. Why is the influence of soil macrofauna on soil structure only considered by soil ecologists? **Soil & Tillage Research**, v. 146, p. 118–124. 2015.

BURROWS, L. A.; EDWARDS, C. A. The use of integrated soil microcosms to assess the impact of carbendazim on soil ecosystems. **Ecotoxicology**, v. 13, p. 143–161. 2004.

BRASIL. ABNT - **Associação Brasileira de Normas Técnicas - NBR 10004:2004. Resíduos Sólidos – Classificação.** p. 71, 2004.

CÓRDOVA, M.; CHAVES, C. L.; MANFREDI-COIMBRA, S. Fauna do solo X vegetação: estudo comparativo da diversidade edáfica em áreas de vegetação nativa e povoamentos de *pinus* sp. **Revista Eletrônica do Curso de Geografia.** n. 12, jan/jun. 2009.

CRUZ, D. C. M. V. P. **Ecotoxicidade de cascalhos de perfuração de poços de petróleo:** aspectos ecológicos para a disposição em solo. 2022. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ecossistemas Agrícolas e Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2022.

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.

DUCATTI, F. **Fauna edáfica em fragmentos florestais e em áreas reflorestadas com espécies da Mata Atlântica.** 2002. 70 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

EISENHAUER N.; REICH, P. B.; SCHEUE, S. Increasing plant diversity effects on productivity with time due to delayed soil biota effects on plants. **Basic and Applied Ecology**, v. 13, p. 571–578, 2012.

GARCÍA, M. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicological test methods for tropical regions. **Ecology and Development Series**, v. 19, p. 291, 2004.

GROTH, V. A.; PEREIRA, T. C.; SILVA, E. M.; NIEMEYER, J. C. Ecotoxicological assessment of biosolids by microcosms. **Chemosphere**, v. 161, p. 342-348, 2016.

GUEDES, J. N. **Estratégia de manejo do cascalho oriundo da perfuração de poços de petróleo.** 2014. 136 f. Tese (Doutorado em Área de concentração em Ciência do Solo) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Universidade Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

HELLING, B.; PFEIFF, G.; LARINK, O. A comparison of feeding activity of collembolan and enchytraeid in laboratory studies using the bait-lamina test. **Applied Soil Ecology** 7. 1998. 207–212.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 11268-2:** Soil quality - Effects of pollutants on earthworms-- Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*. Geneva, 2011b.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 18311**: Soil Quality - Method for Testing Effects of Soil Contaminants on the Feeding Activity of Soil Dwelling Organisms - Bait-Lamina Test. Geneva, ISO 2016.

LEITE, T. O. **Desenvolvimento inicial de *Ricinus communis* L. com substratos de torta de mamona e cascalho de perfuração de poços de petróleo**. 2015. 50 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, 2015.

MACCARI, A. P.; SEGAT, J. C.; TESTA, M.; BARETTA, C. R. D. M.; BARETTA, D. The effect composted and non-composted poultry litter on survival and reproduction of *Folsomia candida*. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 9, p. 99-105. 2020.

MACHADO, H. M. **Efeitos da aplicação de resíduo de perfuração de poço de petróleo no solo, no desenvolvimento de plantas de arroz e no comportamento de *Eisenia andrei***. 2012. 111 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p.355-381, 2008.

MARTINS, A. G. M. **Avaliação ecotoxicológica do cascalho tratado de perfuração de poços petróleo para formulação de adubo organomineral**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, 2022. 51 f.

MENESES, C. G.; PAULA, G. A. Avaliação do resíduo de cascalho de perfuração de poços de petróleo da bacia potiguar e alternativas para sua destinação e reaproveitamento. **Revista Eletrônica do Mestrado em Petróleo e Gás – RunPetro**, v. 3, n. 1, p. 29-38, 2015.

NIVA, C. C.; BUCH, A. C.; CANTELLI, K. B.; NIEMEYER, J. C.; BROWN, G. G. Fauna edáfica como indicadora de contaminação do solo. **FERTBIO**. 2012.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília, DF; Embrapa Cerrados-Livro científico, 2019.

OECD- THE ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Test No. 208**: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Guidelines for Testing of Chemicals Section 2: Effects on Biotic Systems. Paris: OECD Publishing, 1984b.

OLIVEIRA FILHO, L. C. I. Fauna edáfica em ecossistemas florestais. *In*: BARETTA, D.; PEREIRA, J. M.; MALUCHE-BARETTA, C. R. D.; POMPEO, P. N. CARDOSO, E. J. B. N. **Ciências Ambientais**. Vol. II. Taubaté: Unitau, 2018. p. 10-48.

ORTIZ, D. C. **Diversidade de collembola em sistemas florestais e agrícolas no sul de Santa Catarina**. 2017. 112 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, 2017.

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.

PETROBRAS. **Pré-Sal**. [s.d]. Disponível em: <<https://petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/areas-de-atuacao/exploracao-e-producao-de-petroleo-e-gas/pre-sal/>> Acesso em: 10 maio 2022.

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 em: 25 maio 2022.

RANGEL, N. S. **Gerenciamento de resíduos da perfuração de poços de petróleo e gás offshore: fluidos e cascalhos de perfuração**. 2015. 62 f. Monografia (Especialização em Engenharia de Campo SMS). Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2015.

SCHOSSLER, T. R.; MACHADO, D. M.; ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R.; PIAUILINO, A. C. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Enciclopédia Biosfera**. Goiânia, v. 8, n. 15, p. 1563 – 1578, 2012.

SILVA, M. **Potencial de uso da espécie arbórea *Mimosa scabrella* Benth. em ensaios de ecotoxicidade**. 2018. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

SILVA, D. C.; PEREIRA, J. M.; ORTIZ, D. C.; OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; PINTO, L. V. A. Fauna edáfica como indicadora de qualidade do solo em fragmentos florestais e área sob cultivo do cafeeiro. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v. 6, n. 3, p.14795-14816, mar. 2020.

SILVA, N. C.; GONÇALVES, H. C.; CHAVES, L. A. O.; MACHADO, F. S.; AMARAL, M. C. O conceito lean green utilizado na proposta de reciclagem de cascalho de perfuração de poços de petróleo e gás. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**. Curitiba, v. 2, n. 4, p. 1389-1401, jul./set. 2019.

SILVA, D. C. V.; POMPÊO, M.; PAIVA, T. C. B. A ecotoxicologia no contexto atual no Brasil. **Ecologia de reservatórios e interfaces**, p. 460, 2015.

SILVA, A. C. R.; **Crescimento de mudas *Colubrina grandulosa* perkins micorrizadas em substrato com cascalho de perfuração de poço petrolífero**. Monografia (Curso de Engenharia Florestal) - Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. 2017.

YIN, R.; KARDOL, P.; THAKUR M. P.; GRUSS, I.; WU, G-L.; EISENHAEUER, N.; SCHÄDLER, M. Soil functional biodiversity and biological quality under threat:

Intensive land use outweighs climate change. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 147, 2020.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. **São Carlos: Rima**, p. 464, 2008.