

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS

CURSO DE AGRONOMIA

ANA GABRIELA MABE MARTINS

**Avaliação ecotoxicológica do cascalho tratado de perfuração de poços petróleo para
formulação de adubo organomineral**

Curitibanos

2022

Ana Gabriela Mabe Martins

**Avaliação ecotoxicológica do cascalho tratado de perfuração de poços de petróleo para
formulação de adubo organomineral**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação do Centro de Ciências Rurais, Campus Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção de título Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Prof. 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.

Mabe Martins, Ana Gabriela

Avaliação ecotoxicológica do cascalho tratado de perfuração de poços petróleo para formulação de adubo organomineral / Ana Gabriela Mabe Martins ; orientador, Júlia Carina Niemeyer, 2022.

50 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2022.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Agronomia. 3. Ecotoxicologia. 4. Cascalho. 5. Formulação de adubo organomineral. I. Niemeyer, Júlia Carina . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Agronomia. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia
Rodovia Ulysses Gaboardi km3
CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC
TELEFONE (048) 3721-4174 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

Ana Gabriela Mabe Martins

Avaliação ecotoxicológica do cascalho tratado de perfuração de poços petróleo para formulação de adubo organomineral

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitibanos, 13 de julho de 2022.



Documento assinado digitalmente
Douglas Adams Weiler
Data: 24/07/2022 18:03:27-0300
CPF: 008.111.820-10
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Douglas Adams Weiler
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
Julia Carina Niemeyer
Data: 23/07/2022 22:05:38-0300
CPF: 808.859.000-06
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Júlia Carina Niemeyer
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Sandra Santana de Lima

Profa. Dra. Sandra Santana de Lima
Membro da banca examinadora
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



Documento assinado digitalmente
Alexandre Siminski
Data: 24/07/2022 18:25:41-0300
CPF: 022.101.149-85
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Alexandre Siminski
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina

**A minha sempre presente e amada família,
dedico.**

AGRADECIMENTOS

Considerando este trabalho como resultado de uma longa caminhada, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje. Agradeço:

A Deus, que ilumina meu caminho a cada dia.

Agradeço aos meu pais, Amarildo Martins e Aparecida Satiko Mabe Martins, e ao meu irmão Arthur Mabe Martins, pelo apoio e pelo amor incondicional.

Aos meus irmãos de coração, Bruna Martins Coelho e Vitor Martins Coelho, por sempre acreditarem em mim.

Ao meu melhor amigo e namorado Weiner Hung por todo amor, apoio e compreensão para a conclusão deste trabalho.

A professora Dra. Júlia Carina Niemeyer pela valiosa orientação, dedicação e apoio científico neste percurso.

As minhas queridas primas e amigas Janine e Laís, por sempre estarem presentes e por todos os bons momentos.

As minhas tias Aldeli Martins, Ana Maria Martins, Maria Mabe e Yoko Mabe, por todo amor.

Aos meus familiares pelo carinho e incentivo para concluir esta etapa da vida.

Aos meus amigos, colegas de faculdade e de Curitibanos que sempre levarei no coração. Em especial a Daniela, Renata, Jéssica, Denize, Mariah, Vitória, Eduardo e James.

A UFSC pela oportunidade de ensino e a PIBIC pela bolsa concedida.

Ao grupo NECOTOX (Núcleo de Ecologia e Ecotoxicologia do Solo), pelos ensinamentos e amizade, sem eles este trabalho não seria possível. Em especial a Fabrielle, Bruna, Laiara, Maria, Simone, Jéssica e Lorryna.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

O petróleo é uma importante fonte de energia e de matérias primas do planeta e encontra-se na natureza ocupando os vazios de uma rocha porosa chamada rocha reservatório. A perfuração de poços de petróleo gera diversos resíduos entre os quais estão os fluidos e os cascalhos de perfuração. A maior preocupação da indústria de petróleo e gás se deve à quantidade desses resíduos gerados e seus contaminantes. Com isso, a Petrobras financiou o presente trabalho em parceria com a UFSC e a UFRRJ com a finalidade de encontrar doses seguras do cascalho para o uso na agricultura, como adubo organomineral. Para tanto, foram realizados testes ecotoxicológicos com o cascalho para avaliar seu efeito sobre a germinação de plantas e sobre a fauna edáfica. Foram avaliados cascalhos oriundos da extração marítima (*Offshore*), e de diferentes profundidades, pós-sal e pré-sal. Os resíduos foram tratados e triturados, para posterior avaliação em misturas com 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*) e minhocas (*Eisenia andrei*), de reprodução com colêmbolos (*F. candida*) e enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*), de crescimento e germinação com alface (*Lactuca sativa*). Com os testes de fuga foi possível observar que o cascalho tratado oriundo da camada pré-sal causou fuga nas espécies *F. candida* e *E. andrei*, a partir das concentrações de 0,25% e 1%, respectivamente, enquanto o cascalho pós-sal apresentou fuga a partir da proporção de 0,5%. Para a reprodução de colêmbolos, o cascalho do pós-sal tratado, apesar de apresentar uma redução no número médio de juvenis de colêmbolos em todas as concentrações testadas, não houve diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle, enquanto o cascalho pré-sal apresentou redução significativa na reprodução dos colêmbolos nas concentrações 0,25%, 2%, 4% e 5%. No ensaio de reprodução com os enquitreídeos (*E. crypticus*; resultados parciais) não houve redução significativa na reprodução para as concentrações testadas. No ensaio de germinação e crescimento de plantas de alface (*L. sativa*), para altura da parte aérea (cm) e comprimento de raiz (cm) não houveram diferenças significativas, enquanto para acúmulo de biomassa (mg) houve redução nos tratamentos pré-sal. Com isso, o cascalho pós-sal tratado na concentração de 0,25% (6,5 ton/ha), não apresentou efeitos negativos em nenhum dos ensaios, portanto seria o mais promissor para a produção de adubo organomineral. Os efeitos tóxicos observados podem estar relacionados à alta concentração de sais, principalmente de Na.

Palavras-chave: resíduo, ecotoxicologia, agricultura.

ABSTRACT

Petroleum is the world's biggest energy source and feedstock and it is found in nature between the emptiness of a porous rock called reservoir rock. Oil wells drilling generates waste like drilling fluids and cuttings. The biggest concern of the oil and gas industries is the amount of waste and its contaminants, so Petrobras funded this present research in partnership with UFRRJ with the purpose of finding a safe amount of gravel to use in agriculture as organomineral fertilizer. Therefore, ecotoxicological's tests with gravel were performed to evaluate its effect on plants germination and on edaphic fauna. Gravels from oceanic's extraction (Offshore) were evaluated, with different depths, post-salt and pre-salt. The waste were treated, crushed and then disposed for later disposal and ground testing. Laboratorial and in vegetation houses experiments were performed, with applications of tropical artificial soil, following the ABNT or ISO: rejection tests with collembolans (*Folsomia candida*) and worms (*Eisenia andrei*), collembolans reproduction (*F. candida*) and enchytraeids (*Enchytraeus crypticus*), lettuce growth and germination (*Lactuca sativa*). With the rejection tests, it was possible to observe that the treated gravel from pre-salt caused the species *F. candida* and *E. andrei* to reject it from concentrations of 0,25% and 1%, respectively, while the post-salt gravel caused rejection from the proportion of 0,5%. For the collembolan species reproduction, the post-salt treated gravel, despite showing a reduction in the average number of collembola juveniles at all concentrations tested, there weren't statistically significant differences compared to the control test, while the pre-salt gravel showed a significant reduction in the reproduction of collembolas at concentrations 0,25%, 2%, 4% e 5%. In the reproduction test with enchytraeids (*E. crypticus*) there was no significant reduction. In the germination and growth test of lettuce plants (*L. sativa*), for shoot height and root length there were no significant differences, while for dry mass accumulation (mg) there was a reduction in the pre-salt treatments. Accordingly, the post-salt gravels were treated at a concentration of 0.25% (6.5 ton/ha); no negative effects were presented in any of the tests, therefore it would be the most promising for organomineral fertilizer production. The observed toxic effects may be related to the high concentration of salts, mainly Na.

Key-words: Residue, Ecotoxicology, Agriculture

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Cascalho tratado e triturado, pós sal e pré sal.....	16
Figura 2- Minhoca da espécie <i>Eisenia andrei</i> clitelada.....	21
Figura 3- Cultivo de colêmbolos <i>Folsomia candida</i> vistos na lupa.....	22
Figura 4- <i>Enchytraeus crypticus</i> vista do microscópio.....	23
Figura 5- <i>F. candida</i> visto de microscópio.....	25
Figura 6- Exemplar de minhoca da espécie - <i>E. andrei</i>	26
Figura 7- Ensaio de fuga. Etapa: Inserção dos 10 indivíduos na interface entre os dois solos.....	27
Figura 8- Pesagem após adicionado o solo controle e solo contaminado.....	28
Figura 9- Adição de água e tinta de carimbo para posterior contagem.....	29
Figura 10- Enquitreídeos já corados com rosa de bengala na fase de contagem.....	30
Figura 11- Delineamento inteiramente casualizado do ensaio de germinação e crescimento de alface (<i>L. sativa</i>).....	31
Figura 12- Ensaio de fuga com minhocas (<i>E. andrei</i>), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras cinza-escuro representam o solo controle (SAT) e as barras cinzas-claro, 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 ($p < 0,05$).....	32
Figura 13- Ensaio de fuga com minhocas (<i>E. andrei</i>), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras escuras representam o solo controle (SAT) e as barras claras, 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 ($p < 0,05$).....	33
Figura 14- Ensaio de fuga com colêmbolos (<i>F. candida</i>), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras escuras representam o	

solo controle (SAT), e as barras claras, 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 ($p < 0,05$).....34

Figura 15- Ensaio de fuga com colêmbolos (*F. candida*), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras escuras representam o solo controle (SAT) e as barras claras, 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 ($p < 0,05$).....34

Figura 16- Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras cinzas representam a média do número de juvenis, com solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).....35

Figura 17- Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras cinzas representam a média do número de juvenis, com solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).....36

Figura 18- Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução em solo artificial tropical (SAT). As barras cinzas representam a média do número de juvenis. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).....37

Figura 19- Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução com solo artificial tropical (SAT). As barras cinzas indicam a média do número de juvenis, em solo com aplicação de cascalho do pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).....37

Figura 20- Massa seca de raiz e parte aérea de alface (*Lactuca Sativa*) exposta a diferentes concentrações do cascalho pós-sal e pré-sal.....38

Figura 21- Altura da parte aérea da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pós-sal em solo artificial tropical. Os asteriscos (*)

indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).39

Figura 22- Comprimento da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pós-sal em solo artificial tropical. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).39

Figura 23- Altura da parte aérea (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pré-sal em SAT. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).....40

Figura 24- Altura da parte aérea da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pré-sal em solo artificial tropical. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$). 40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 OBJETIVOS	14
1.1.1 Objetivo geral	14
1.1.2 Objetivos específicos	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 COMPOSIÇÃO DO CASCALHO.....	16
2.2 USO DE RESÍDUOS TRATADOS ADVINDOS DA PERFURAÇÃO DE POÇOS DE PETRÓLEO.....	18
2.3 ECOTOXICOLOGIA.....	19
2.4 FAUNA EDÁFICA.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 ORGANISMOS-TESTE.....	24
3.1.1 <i>Folsomia candida</i> Willem 1902	24
3.1.2 <i>Eisenia andrei</i> Bouché 1972	25
3.1.3 <i>Enchytraeus crypticus</i> Westheide & Graefe 1992.....	26
3.2 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE.....	26
3.2.1 Ensaio de fuga	26
3.2.1.1 Ensaio de fuga com minhocas - <i>E. andrei</i>	27
3.2.1.2 Ensaio de fuga com colêmbolos - <i>F. candida</i>	27
3.2.2 Ensaio de reprodução	28

3.2.2.1 Ensaios de reprodução com colêmbolos - <i>F. candida</i>	29
3.2.2.2 Ensaio de reprodução com enquitreídeos - <i>Enchytraeus crypticus</i>	29
3.3 GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE PLANTAS	30
3.4 ANÁLISE DE DADOS	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 ENSAIOS DE FUGA	32
4.2 ENSAIOS DE REPRODUÇÃO.....	35
4.3 ENSAIOS CRESCIMENTO DE PLANTAS.....	38
5 DISCUSSÃO	42
5.1 INVERTEBRADOS DE SOLO.....	42
5.2 PLANTAS.....	43
6 CONCLUSÃO	45
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A atividade petrolífera envolve grande potencial de riscos ao meio ambiente, entre os quais se destaca a produção de grandes volumes de cascalhos na perfuração de poços de petróleo. Tem se tornado grande desafio, para os governos e empresas envolvidas, a destinação final desse resíduo de forma adequada às exigências ambientais (MENESES; PAULA, 2014). Com a descoberta de petróleo em camadas mais profundas no Brasil, conhecidas como pré-sal, aumentam as reservas petrolíferas do país. Entretanto, apesar das inúmeras vantagens econômicas e energéticas, a exploração petrolífera traz o ônus da poluição ambiental. Dentre os resíduos produzidos pela atividade de exploração de poços de petróleo, o cascalho de perfuração tem destaque, em razão da sua importância como potencial agente poluente, em função do fluido utilizado (DIAS, *et al.*, 2005).

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 marinhos e zona de transição terra-mar ou área localizada no mar”. 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. Além da origem, o cascalho pode ser classificado de acordo com a profundidade, pós-sal 3.400 metros de profundidade e pré-sal de 4.450 a 4.520 metros.

O cascalho é um resíduo composto por rocha triturada e fluido de perfuração, o qual possui diferentes substâncias que lhes conferem propriedades distintas (LEITE, 2015). No entanto, na sua composição há também a presença de alguns nutrientes essenciais às plantas e, portanto, para tornar possível o seu uso são necessários estudos para indicar os efeitos no sistema solo-planta (GUEDES, 2014).

A composição química dos cascalhos é muito variada e depende, principalmente, da composição das formações rochosas perfuradas e da composição química do fluido de perfuração (FIALHO, 2012). Diante dos problemas apresentados em função da destinação deste resíduo, a Petrobrás financiou o presente trabalho, que em parceria com a UFRRJ (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro) busca uma nova opção de reuso do cascalho.

A aplicação de resíduos em áreas agrícolas somente deve ocorrer se houver interesse e benefício comprovado para o solo e, conseqüentemente, para a cultura, e que os locais de aplicação sejam mantidos ambientalmente seguros. São necessários estudos agronômicos sobre as características e o desempenho dos resíduos, mostrando os efeitos no sistema solo-planta, seja como material corretivo ou fonte de nutrientes. Dessa forma, o resíduo deve ser caracterizado, definindo a sua origem, as etapas em que foi gerado, a quantidade gerada em cada etapa e os possíveis poluentes presentes (LIMA, 2013).

Pensando nas diferentes práticas e destinos aplicados a esse material que este trabalho objetiva o reaproveitamento do cascalho tratado para a formulação de adubo organomineral, promovendo o reuso de um resíduo e colaborando para a recuperação de áreas degradadas. Para isso será avaliada a ecotoxicidade do cascalho tratado de perfuração de poços de petróleo para plantas dicotiledôneas, e para fauna do solo, a partir de ensaios laboratoriais, buscando determinar as doses de aplicação que não causem efeitos adversos à biota, contribuindo para o fornecimento de nutrientes às plantas. A ecotoxicologia é uma importante ferramenta de monitoramento ambiental, auxiliando na avaliação dos riscos ambientais associados a diversas fontes de poluição, além de mensurar os efeitos em organismos e plantas.

Propor soluções inovadoras em potenciais problemas podem gerar benefícios e fortalecer os anseios de uma sociedade cada vez mais preocupada com o ambiente e com a geração de passivos ambientais. E não é de outra forma, se não a investigação científica agronômica, a causa e precursora de novas tecnologias de uso destes resíduos que visam maior produtividade no campo, com mais economia, sustentabilidade e, sobretudo responsabilidade. Desta forma, aliando a prática ambiental de gerenciamento de resíduos com a remediação de áreas salinizadas, estabeleceram-se as hipóteses de que o cascalho de perfuração tem aplicabilidade como insumo agrícola (FREITAS *et al.*, 2013).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação no solo do cascalho tratado de perfuração de poços de petróleo da camada pós-sal e pré-sal, no desenvolvimento de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.), e a influência na biota do solo, para a formulação de adubo organomineral.

1.1.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos, este trabalho buscou:

- Determinar os efeitos sobre a germinação e crescimento de plantas dicotiledôneas, alface (*L. sativa*), em solos com disposição do resíduo;
- Avaliar a ecotoxicidade do cascalho tratado de perfuração de poços de petróleo, sob diferentes concentrações em solo, em ensaios laboratoriais de fuga e reprodução com invertebrados de solo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

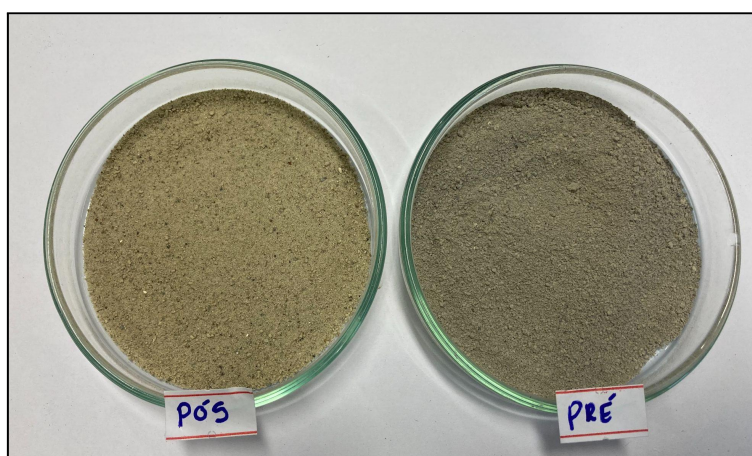
2.1 COMPOSIÇÃO DO CASCALHO

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), por meio de sua normativa NBR 10004 (2004), para a classificação de resíduos é preciso identificar o processo e/ou atividade que lhes deu origem, seus constituintes e características, sendo necessária a comparação com listas de resíduos e substâncias cujo impactos são conhecidos (MACHADO, 2012).

De acordo com a norma brasileira ABNT – 10004 (BRASIL, 2004), os resíduos são classificados como resíduos classe I e resíduos classe II. Os cascalhos contendo fluidos de perfuração, classificam-se como Classe II A – não inertes. Estes não se enquadram nas classificações de resíduos classe I - Perigosos ou de resíduos classe II B – Inertes. Nos termos desta Norma, essa classe de resíduo pode ter propriedades, tais como: biodegradabilidade, combustibilidade ou solubilidade em água. A composição química dos cascalhos é muito variada e depende, principalmente, da composição das formações rochosas perfuradas e da composição química do fluido de perfuração (FIALHO, 2012).

O tratamento do cascalho com fluido de perfuração é realizado com uma lavagem que vem sendo desenvolvida pela UFRRJ, para posterior trituração, como é possível observar na figura 1.

Figura 1 : Cascalho tratado e triturado, pós sal e pré sal.



Fonte: A autora

A composição do cascalho é muito variada e depende, principalmente, da composição das formações rochosas perfuradas e da composição química do fluido de perfuração (FIALHO, 2012). A caracterização química dos resíduos foi realizada 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. As amostras de cascalho pré-sal e pós-sal apresentaram substâncias químicas de interesse para usos agrícolas e florestais, como Potássio (K), Cálcio (Ca), Fósforo (P), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), entre outros. O processo de lavagem a que o cascalho foi submetido reduziu o Na de 21,56 g/kg⁻¹ para 3,66 g/kg⁻¹, no cascalho pré-sal e de 19,67 g/kg⁻¹ para 1,08 g/kg⁻¹, no cascalho pós-sal.

Tabela 1. Teores Pseudo Totais de macronutrientes, micronutrientes e metais pesados dos cascalhos pré e pós-sal antes do tratamento.

Determinações	Pré- sal	Pós sal
	-----g kg ⁻¹ -----	
P	5,52	4,13
K	0,22	9,3
Ca	490,78	63,76
Mg	57,04	23,23
Al	1,08	0,34
Na	21,56	19,67
	-----mg kg ⁻¹ -----	
Fe	11.158,25	3.217,64
Cu	24,54	4.011,98
Mn	183,32	38,59
Zn	160,16	20,42
Pb	13,57	1,57
Cd	0,34	0,24
Ni	10,38	94,24
Cr	29,99	122,07

Tabela 2. Teores Pseudo Totais de macronutrientes, micronutrientes e metais pesados dos cascalhos pré e pós-sal após tratamento.

Determinações	Pré- sal -----g kg ⁻¹ -----	Pós sal
P	1,01	3,12
K	9,89	4,69
Ca	187,71	15,10
Mg	16,95	4,38
Al	6,72	0,56
Na	3,66	1,08
	-----mg kg ⁻¹ -----	
Fe	26389,35	5897,71
Cu	41,14	2,61
Mn	326,42	45,75
Zn	392,44	18,82
Pb	4,64	0,83
Cd	0,1	0,1
Ni	25,23	106,2
Cr	36,17	85,99

2.2 USO DE RESÍDUOS TRATADOS ADVINDOS DA PERFURAÇÃO DE POÇOS DE PETRÓLEO

De acordo com o estudo realizado por Freitas, 2013, que fez a caracterização química de cascalhos de perfuração de poços de petróleo e seus efeitos em plantas e nas bases trocáveis do solo, concluiu que nas plantas de cevada o acúmulo de sódio e potássio na parte aérea e nas raízes foi maior quanto maior a dose de cascalho calculada, além de acumularem mais massa seca na parte aérea.

Sob o ponto de vista agrícola, a principal vantagem do uso de resíduos está no fornecimento de nutrientes e/ou adição de material orgânico que pode manter ou elevar a fertilidade do solo, assim como melhorar as suas propriedades físicas, químicas e biológicas (LEITE, 2015). Com a determinação de doses adequadas do cascalho tratado, a salinidade não seria mais um risco para as cultivares e para a fauna do solo.

Freitas (2009), avaliou o crescimento de oleaginosas sob diferentes doses de resíduo orgânico da produção de biodiesel, em amostras de solo arenoso, contaminado e não

contaminado com petróleo, concluiu que o resíduo utilizado tem aplicabilidade na agricultura como fertilizante orgânico e seu uso encontra respaldo na legislação do MAPA (IN 23, 2005) como fertilizante orgânico composto de classe “B”. Além disso, sua incorporação no solo pode estimular a atividade microbológica e assim, favorecer e /ou aumentar a capacidade de degradar contaminantes orgânicos, inerente a alguns micro-organismos ali presentes. Ainda segundo o autor, ignorar o potencial que os resíduos podem apresentar é atuar contra os diferentes tratados que reforçam a preservação do meio ambiente e a redução do desperdício. Atentar com parcimônia e responsabilidade para a utilização e/ou reutilização de resíduos pode contribuir para o crescimento e o desenvolvimento sustentável.

Já no trabalho de Benazzi (2015), que realizou avaliação ecotoxicológica de resíduos da perfuração petrolífera em terra, não recomendou o uso dos resíduos de perfuração de poços de petróleo em terra como fertilizantes ou condicionadores agrícolas, pois pode haver efeitos deletérios aos invertebrados do solo mesmo em concentrações consideradas seguras para as plantas. E segundo Silva (2017), que avaliou o crescimento de mudas *Colubrina grandulosa Perkins* micorrizadas em substrato com cascalho de perfuração de poço petrolífero, concluiu que o crescimento em altura e diâmetro do coleto de *C. grandulosa* foi afetado a partir da dosagem de cascalho a 10%, ocorrendo a redução gradativa do desenvolvimento da espécie.

Cruz (2022), testou doses de cascalho oriundos das camadas pré-sal e pós-sal, no crescimento da bracatinga (*M. scabrella*) e em alface (*L. sativa*), e na fauna do solo, e os resultados demonstraram que espécie arbórea não foi afetada pelas as proporções de cascalho testadas (até 5%), tanto do pré-sal como do pós-sal. Os resultados de germinação e crescimento com alface também não apresentaram efeitos tóxicos nas concentrações avaliadas. Sobre os invertebrados do solo os cascalhos de perfuração *offshore* apresentaram efeitos adversos em diferentes proporções, 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.

De acordo com as pesquisas já existentes sobre o tema, os cascalhos e outros resíduos utilizados não passaram por tratamento de lavagem para redução da salinidade.

2.3 ECOTOXICOLOGIA

Zagatto (2008) definiu a ecotoxicologia como a ciência que estuda os efeitos de poluentes aos organismos e como esses interagem com seus habitats, e de acordo com o

mesmo autor a ecotoxicologia aquática se desenvolveu antes mesmo da terrestre, onde testes de toxicidade eram implantados em organismos aquáticos na década de 1930. A importância dos estudos ecotoxicológicos para ambientes terrestres foi reconhecida posteriormente em relação à ecotoxicologia aquática. A padronização dos ensaios ecotoxicidade no Brasil iniciou-se em 1975, através de um programa internacional que visava a padronização destes ensaios com a International Organization for Standardization (ISO) e a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006), posteriormente pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Os ensaios são realizados expondo-se os organismos-teste a um solo contaminado, objetivando-se avaliar o efeito da contaminação na sobrevivência, crescimento, reprodução, mudanças comportamentais, dentre outros fatores. Estes ensaios podem ajudar a verificar se as concentrações de contaminantes em um determinado meio são altas o suficiente para causar efeitos adversos em organismos (LIMA, 2009).

Niva *et al.* (2019) relataram que o uso de ensaios ecotoxicológicos constitui uma importante ferramenta na avaliação de como substâncias lançadas no ecossistema podem afetar diferentes organismos e populações, fornecendo subsídios para avaliar a qualidade de corpos receptores e proteger adequadamente a qualidade ambiental. Segundo Niemeyer *et al.* (2007) os ensaios de ecotoxicidade incorporam a interação entre os contaminantes e as propriedades do solo e os efeitos resultantes da mistura destes contaminantes e, ainda, o efeito da biodisponibilidade, permitindo a avaliação ecologicamente relevante dos efeitos derivados da exposição.

2.4 FAUNA EDÁFICA

A ecotoxicologia estuda os efeitos dos poluentes sobre os organismos e a interação destes com o habitat. Para se avaliar o impacto de uma substância no solo, ensaios ecotoxicológicos com metodologia padronizada internacionalmente podem ser realizados com invertebrados edáficos, tais como as minhocas, enquitreídeos e colêmbolos.

No ensaio descrito na norma ABNT NBR/ISO 11269-2 recomenda-se o uso de duas espécies vegetais, monocotiledônea e dicotiledônea, para realização do trabalho foi escolhido uma dicotiledônea, o alface (*L. sativa*). Este ensaio teve como objetivo avaliar se o solo ou resíduo permite a germinação e crescimento das plantas, e se há efeitos deletérios sobre o ganho de biomassa no solo ou substrato a ser testado.

A abundância e diversidade dos organismos edáficos são parâmetros amplamente usados para avaliar o impacto ambiental de uma variedade de poluentes do solo (NIVA, *et al*, 2019). A escolha dos organismos-teste, sua manutenção em laboratório e exigências para sua utilização nos testes basearam-se nas recomendações dos protocolos ISO e ABNT. Dentre os organismos-teste e bioindicadores de interesse nesse estudo, foram utilizados minhocas, colêmbolos e plantas. A espécie *Folsomia candida* tem sido utilizada em ensaios de fuga para avaliação de solos contaminados e de matrizes contaminadas (NIEMEYER *et al.*, 2010), usando as diretrizes estabelecidas para os testes.

A utilização de minhocas em testes é amplamente utilizada em testes ecotoxicológicos, já que além de abundante em solos tropicais e temperados, estas possibilitam fácil cultivo e reprodução em laboratório, e também são procriadoras contínuas (BENAZZI, 2015). O nicho ecológico das minhocas as caracteriza como organismos muito importantes no solo e como bioindicadores ambientais (DE ANDRÉA, 2010). A espécie *E. andrei* é representante da subclasse Oligochaeta, organismos responsáveis por construir galerias no solo, facilitando a infiltração de água e oxigênio, sendo também responsável pela ciclagem de nutrientes (HOFFMANN *et al.*, 2009), além de serem utilizados como indicadores biológico por ser sensível às ações antrópicas.

Figura 2 - Minhoca da espécie *E. andrei* clitelada.

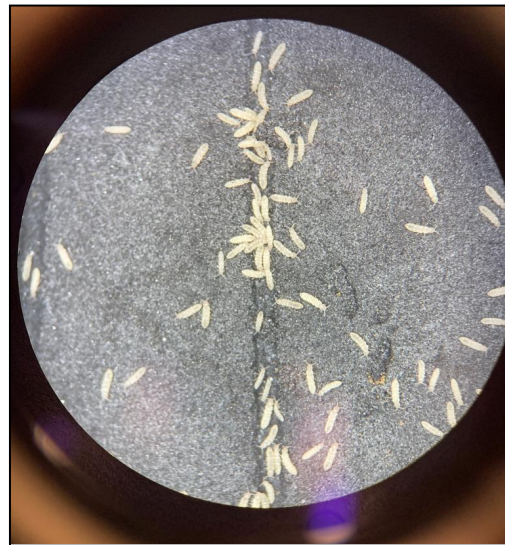


Fonte: A autora, 2022.

A espécie *F. candida* pertence à classe Entognatha que junto aos insetos, formam o subfilo Hexapoda. São organismos de fácil reprodução no laboratório, pois são partenogênicos. São muito utilizados em ensaios ecotoxicológicos, por possuírem

características de sensibilidade a alterações ecológicas. Estes organismos são responsáveis por facilitar os processos de decomposição da matéria orgânica (TRAJANO, 2006). Os colêmbolos pertencem ao grupo da mesofauna, e são bioindicadores da contaminação do solo. A realização do teste de fuga com colêmbolos vem se tornando mais frequente, pois esse teste permite resposta em curto período de tempo e indica a existência de condições desfavoráveis em um ambiente (ZORTÉA *et al.*, 2015).

Figura 3- Cultivo de colêmbolos *F. candida* vistos na lupa.



Fonte: A autora, 2022.

Os enquitreídeos (Figura 4) são organismos da mesofauna saprógafa do solo, pois contribuem para a segregação e decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes. São parentes próximos das minhocas, comumente encontrados no mundo inteiro (NIVA *et al.*, 2010). Esta tem sido uma das principais espécies utilizadas em ensaios ecotoxicológicos internacionalmente devido à vantagem de se poder reduzir o tempo do ensaio pelo seu ciclo de vida rápido (STACECHEN *et al.*, 2013).

Figura 4- *E. crypticus* vista do microscópio.



Fonte: A autora

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no *campus* de Curitibanos. Os experimentos foram implantados na casa de vegetação da universidade, e as análises feitas no Laboratório de Ecologia (UFSC), no período de março de 2022 a julho de 2022. Para a realização dos ensaios de ecotoxicidade foram utilizados organismos-teste, que seguem as normas da ISO (International Organization for Standardization) e ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). Diferentes doses do cascalho foram aplicadas, pós-sal e pré-sal, de acordo com o ensaio realizado.

Para execução dos ensaios foi utilizado SAT (Solo artificial tropical), produzido no laboratório de ecologia da UFSC, em Curitibanos, SC. Os componentes do SAT são, areia fina peneirada, caulim e pó de casca de coco, na proporção 75%, 20% e 5% respectivamente.

As espécies de *E. andrei*, *F. candida* e *E. crypticus* são provenientes de cultivos já existentes na UFSC, Campus de Curitibanos, cultivados e mantidos segundo as normas da ABNT.

3.1 ORGANISMOS-TESTE

3.1.1 *Folsomia candida* Willem 1902

Os critérios utilizados para cultivo dos colêmbolos foram de acordo com ABNT NBR/ISO 11267 (ABNT, 2019). Para o meio de cultivo, foi realizada uma mistura de carvão ativado e gesso na proporção 1:10 com a adição de água destilada, em recipiente plástico de 9 cm de diâmetro e 5,5 cm de altura. O alimento dos colêmbolos é o fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*), o qual é ativado pela adição de gotas de água destilada. O acondicionamento dos cultivos foi em câmara climática (BOD) com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12/12 de claro/escuro, e com umidade entre 70 a 80 %.

Para a obtenção de organismos com idade padrão para o uso nos ensaios, foi colocado no recipiente com meio de cultivo um pequeno pedaço de pedra, do mesmo material do meio, na qual foram colocados os ovos isolados do cultivo de organismos adultos. As informações do dia de isolamento, responsável, e espécie foram anotadas na tampa do recipiente para controle. Cada lote foi monitorado até a primeira eclosão, retirando-se a pedra com os ovos

não eclodidos 48 h depois, e usando-se os organismos no 10º dia após a remoção. Desta forma, os organismos usados no ensaio tinham idade padronizada de 10 a 12 dias.

Figura 5- *F. candida* visto de microscópio.



Fonte: A autora, 2022.

3.1.2 *Eisenia andrei* Bouché 1972

Os critérios utilizados para cultivo das minhocas foram de acordo com a norma ISO 11268-2 (ISO, 2011). Para o cultivo é feito o uso de câmara climatizada na criação das minhocas da espécie *E. andrei*, com a temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. O meio de cultivo recomendado para a criação das minhocas é constituído de esterco bovino desfaunado com pó de casca de coco, na proporção 50:50.

Para a obtenção de organismos com idade e tamanhos padronizados, foram iniciados os cultivos a partir de casulos, adicionando-se alimentação com dejetos de bovinos semanalmente, e com troca de substrato mensal. A idade dos cultivos para teste foi entre dois e doze meses, quando as minhocas estavam cliteladas. O recipiente para a realização dos cultivos são caixas plásticas, com capacidade entre 10 a 15 L.

Figura 6 - Exemplar de minhoca da espécie - *E. andrei*



Fonte:A autora, 2022.

3.1.3 *Enchytraeus crypticus* Westheide & Graefe 1992

Os Enchytraeidae são oligoquetas extremamente diversos na mesofauna, e ocupam a parte superficial do solo (até 20 cm). Possuem papel importante na ciclagem de nutrientes em solos temperados, e também atuam na microporosidade. O cultivo dos enquitreídeos segue as recomendações da norma ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012). O cultivo foi realizado em Solo Artificial Tropical (SAT) composto por areia, caulim e matéria orgânica, e umedecido até 50% da capacidade de retenção de água. Os organismos foram mantidos em recipientes de 125 mL com furos na tampa para permitir aeração. A alimentação fornecida era farinha de aveia e a manutenção do cultivo realizada semanalmente. Os cultivos permaneceram em incubadora (BOD) com temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12h: 12h, claro: escuro.

3.2 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE

3.2.1 Ensaio de fuga

Os ensaios de fuga visam avaliar se um solo contaminado ou se um contaminante adicionado ao solo pode causar um comportamento de fuga/rejeição dos organismos. Considera-se como comportamento de fuga o ato de um organismo evitar o solo-teste, com preferência pelo solo controle. Esta mudança no comportamento dos organismos pode ser utilizada para quantificar os efeitos do estresse sobre os indivíduos e as populações (NIEMEYER, *et al*, 2019).

3.2.1.1 Ensaio de fuga com minhocas - *E. andrei*

O ensaio seguiu os critérios estabelecidos pela ABNT NBR/ISO 17512-1 (ABNT, 2011). Para o ensaio de fuga, foram utilizados recipientes plásticos com tampa, possuindo perfurações para haver troca gasosa com o meio externo, com dimensões de 20 x 12 x 5 cm, divididos ao meio por divisória removível, de modo que um lado recebeu 300 gramas de SAT (solo artificial tropical) com o cascalho, e o outro lado recebeu 300 gramas de solo-controle, como é possível observar na figura 7. A camada de solo apresentou espessura aproximada de 5 cm, contendo no total 600 gramas de solo, de modo a permitir a mobilidade dos organismos. Com os recipientes preparados, após a remoção da divisória, dez organismos foram adicionados na interface entre os dois solos. Cada tratamento contou com cinco réplicas. Durante 48 h, os ensaios ficaram em incubadora sob temperatura entre $20 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 12/12 h de claro/escuro. Depois desse período, foi novamente inserida a divisória e verificado o número de organismos-teste no solo-teste e no solo-controle. A distribuição observada foi comparada com a distribuição esperada dos organismos-teste, sendo que caso mais de 80% destes evitem o solo-teste, considera-se que possuem sua função de habitat limitada.

Figura 7- Ensaio de fuga. Etapa: Inserção dos 10 indivíduos na interface entre os dois solos.



Fonte: A autora, 2022.

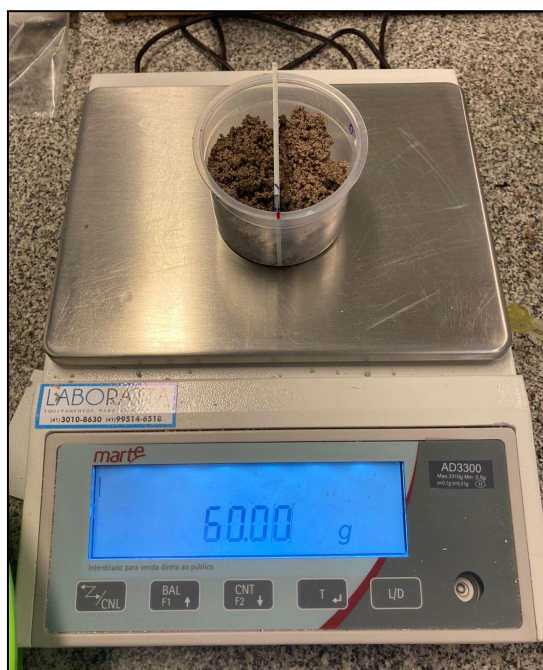
3.2.1.2 Ensaio de fuga com colêmbolos - *F. candida*

Os colêmbolos da espécie *F. candida* foram submetidos ao ensaio de fuga seguindo a norma ISO 17512-2 (ISO, 2012). A metodologia é semelhante ao já citado no item 3.2.1.1, entretanto com utilização de 20 organismos-teste adultos, com a capacidade dos recipientes

de 125 mL, e os solos-teste e o solo-controle pesados em 30 g em cada lado. Cada tratamento contou com cinco réplicas. Os ensaios permaneceram por 48 h em incubadora sob temperatura entre $20 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 12/12 h de claro/escuro.

A leitura do ensaio foi realizada após o período em incubadora, para isso é inserido novamente a divisória entre os dois solos, para poder separá-los de recipientes, de modo que contenha apenas um dos solos por recipiente, adicionando água e algumas gotas de tinta de carimbo nos recipientes, para que os organismos fiquem suspensos e com a coloração da tinta facilitando o processo de contagem dos organismos-teste. O ensaio é invalidado se o número de organismos mortos ou perdidos for superior a 20% por tratamento.

Figura 8- Pesagem após adicionado o solo controle e solo contaminado.



Fonte: A autora, 2022.

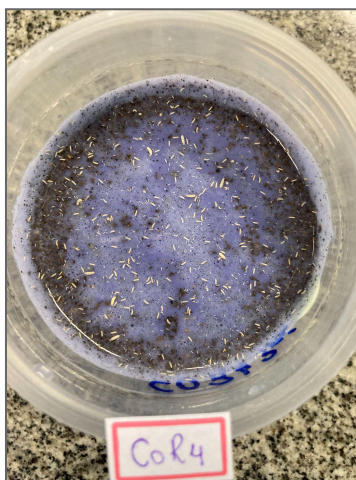
3.2.2 Ensaio de reprodução

Os ensaios de reprodução consistem na exposição dos organismos a diversas concentrações de um resíduo, buscando assim avaliar se há efeitos inibidores da reprodução de organismos-teste. Neste trabalho, foram utilizadas diferentes doses de cascalho tratado, misturadas ao solo, buscando determinar doses seguras para aplicação em campo que não prejudiquem a fauna do solo.

3.2.2.1 Ensaio de reprodução com colêmbolos - *F. candida*

O ensaio de reprodução com colêmbolos, seguiu os critérios estabelecidos pela ABNT NBR/ISO 11267 (ABNT, 2019). Para o ensaio, foram utilizados recipientes plásticos com capacidade de 125 mL, e com perfurações na tampa, e receberam 30 g de solo, teste e controle, e também dez organismos-teste com idade entre 10 e 12 dias por recipiente. Cada tratamento contou com cinco réplicas, e uma réplica extra (parâmetro), sem adição de organismos, para determinação de umidade e pH finais. Os colêmbolos foram mantidos em incubadora a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 12/12 h de claro/escuro, sendo alimentados no 1º e no 14º dia de teste, com 2 a 10 mg de fermento biológico (*S. cerevisiae*). Para a manutenção da umidade, os recipientes foram pesados semanalmente, repondo-se a água perdida com a adição de água destilada. No 28º dia, a leitura foi realizada com a adição de tinta de carimbo e água e, após uma leve agitação, os colêmbolos subiram até a superfície, como é possível observar na figura 6, permitindo então, a captura fotográfica para posterior contagem dos juvenis usando o Programa Image J.

Figura 9- Adição de água e tinta de carimbo para posterior contagem.



Fonte: A autora, 2022.

3.2.2.2 Ensaio de reprodução com enquitreídeos - *E. crypticus*

O ensaio seguiu a norma ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012). Para a realização do ensaio, foram utilizados dez enquitreídeos com idade adulta (organismos com clitelo) em cada recipiente. Cada tratamento teve 5 réplicas e mais uma réplica para a leitura de parâmetros ao final do ensaio. Os recipientes possuíam capacidade de 125 mL com 30 g de

solo contaminado ou solo-controle, sendo o peso final anotado. As réplicas do ensaio foram distribuídas de forma aleatória na incubadora com temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h:12 h (claro: escuro). A alimentação fornecida foi de 25 mg por semana, e o peso perdido foi repostado com água destilada. Após o período de 28 dias foi realizada a leitura do ensaio, para tanto foi necessária a fixação e coloração dos organismos, para facilitar a leitura, utilizando a adição de álcool e algumas gotas de uma solução de rosa de Bengala a 1% em etanol (100 mL de álcool para 1 g de rosa de 29 Bengala).. 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%.

Figura 10- Enquitreídeos já corados com rosa de bengala na fase de contagem.



Fonte: A autora, 2022.

3.3 GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE PLANTAS

O ensaio foi realizado na casa de vegetação 3 da UFSC – Campus de Curitibanos - experimentos em vasos com 21 dias de duração, sem renovação, contados a partir da germinação de 50% das sementes no controle. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, para alface (*L. sativa*), e seguiu a Norma ABNT NBR/ISO 11269-2 (ABNT, 2014). Cada recipiente de 1L devidamente preenchido com 400 g de SAT (Solo artificial tropical), recebeu dez sementes da espécie em estudo, e contou com cinco repetições, sendo um o solo-controle, com quatro réplicas por tratamento, de modo que

permitiu a análise e comparação do desenvolvimento desta em solo-controle e solo-teste. O raleio foi realizado após emergir 50% das plântulas do tratamento controle, deixando cinco indivíduos por recipiente. Para umedecer o solo, além das regas diárias, foi utilizado um barbante que ligava os recipientes teste com recipientes com água, permitindo a absorção de água pelas raízes por capilaridade. Após o período de 15 dias, sem renovação, foi realizada a coleta das plantas remanescentes para as análises de biomassa, coletando as medidas de tamanho: total, parte aérea e raiz. A medição da parte aérea e raiz foi realizada com uma régua, e a biomassa seca foi pesada após 4 dias de secagem na estufa.

Figura 11- Delineamento inteiramente casualizado do ensaio de germinação e crescimento de alface (*L. sativa*).



Fonte: A autora, 2022.

3.4 ANÁLISE DE DADOS

A avaliação dos ensaios de fuga foi realizada pelo teste exato de FISHER ($p < 0,05$). Comparando-se a distribuição esperada (aleatória) nas réplicas com controle em ambos os lados da caixa com a distribuição observada nas combinações controle X solo com cascalho.

Na análise de dados dos ensaios de reprodução dos invertebrados e do crescimento e biomassa das plantas, primeiramente foi verificada a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias usando-se o teste Shapiro-Wilk e Barlett, respectivamente. Os dados paramétricos foram avaliados com a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Dunnet ($p < 0,05$), de modo a comparar o desempenho das espécies, nos tratamentos com o desempenho no solo controle. Os dados não paramétricos,

que são aqueles que não atenderam aos pressupostos da ANOVA, foram avaliados com o teste de Kruskal-Wallis.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ENSAIOS DE FUGA

Após a exposição de 48 horas das minhocas (*E. andrei*), em solo contaminado com cascalho pós-sal, seguindo os critérios de validação do ensaio foram alcançados, segundo as normas ABNT NBR ISO 17512- 1 (ABNT, 2011), a letalidade no controle foi <10% para as minhocas e <20% para os colêmbolos, e a distribuição dos organismos foi aleatória na combinação controle x controle (CoA x CoB). Os resultados do ensaio de fuga são apresentados na Fig. 12.

Figura 12- Ensaio de fuga com minhocas (*E. andrei*), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras cinza-escuro representam o solo controle (SAT) e as barras cinzas-claro, 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 ($p < 0,05$).

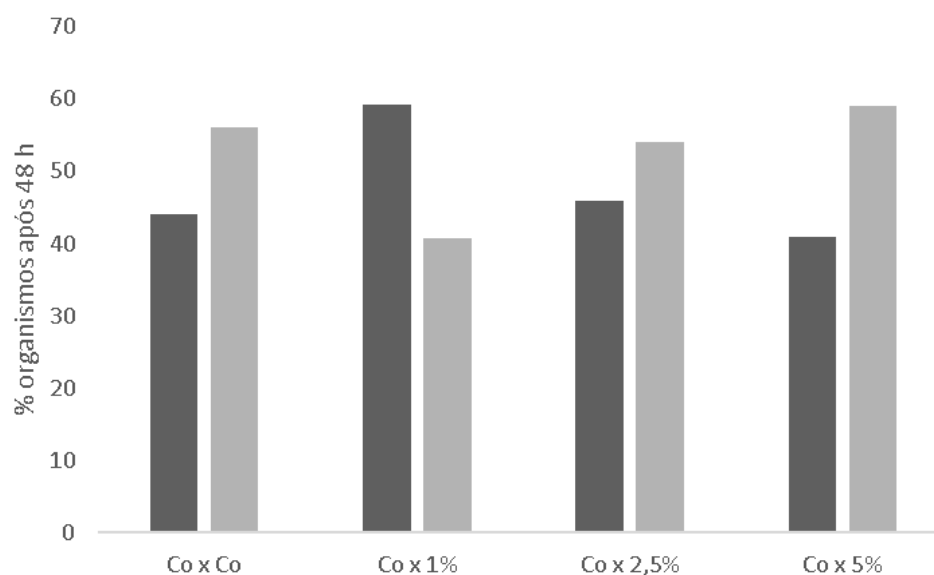
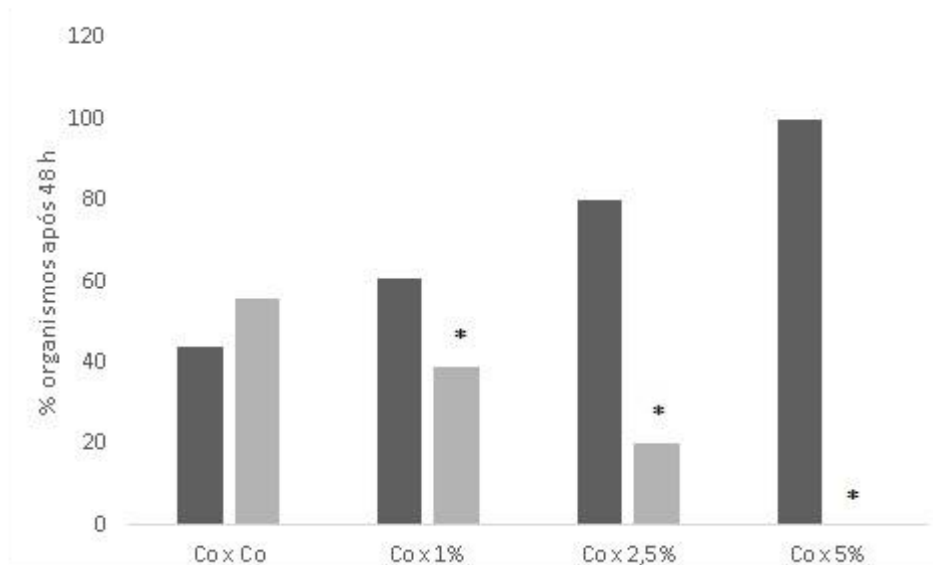


Figura 13- Ensaio de fuga com minhocas (*E. andrei*), expostas ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras escuras representam o solo controle (SAT) e as barras claras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo o teste exato de Fisher ($p < 0,05$).



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 1% de cascalho, quando comparado ao controle (Figura 13), enquanto o ensaio com cascalho do pós-sal não apresentou fuga em nenhuma concentração.

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 0,25% de cascalho tratado, quando comparadas ao controle (Figura 15). Os resultados com cascalho do pós-sal apresentaram fuga apenas nas proporções a partir de 0,5% (Figura 14).

Figura 14- Ensaio de fuga com colêmbolos (*F. candida*), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras escuras representam o solo controle (SAT), e as barras claras, 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 ($p < 0,05$).

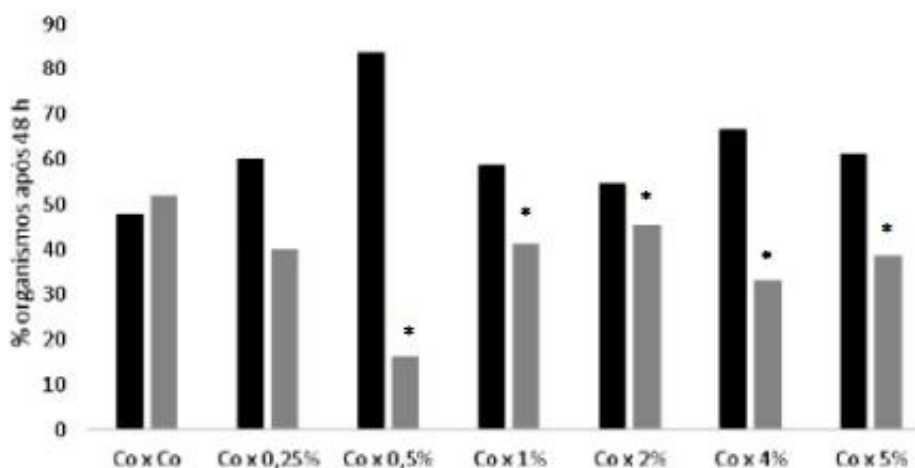
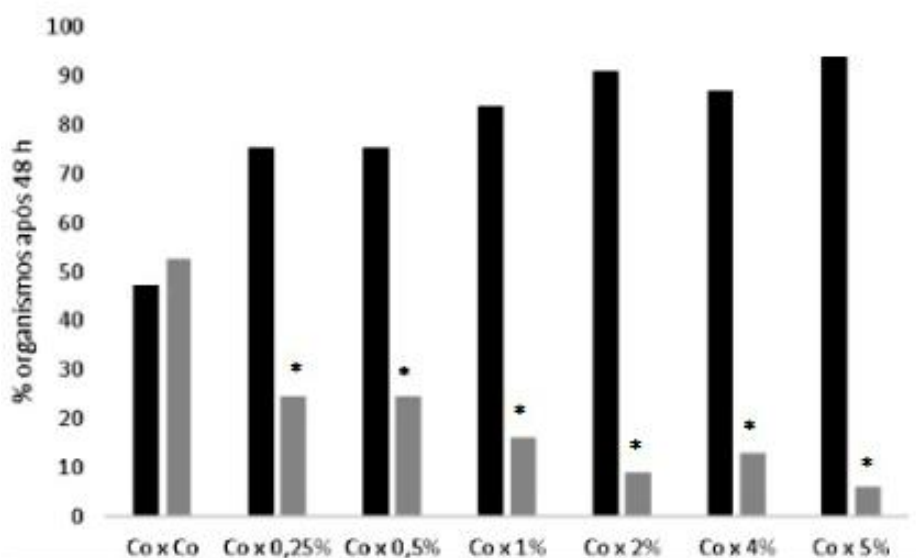


Figura 15- Ensaio de fuga com colêmbolos (*F. candida*), expostos ao cascalho de perfuração sob diferentes proporções em solo artificial tropical (SAT). As barras escuras representam o solo controle (SAT) e as barras claras, o solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas entre o número de organismos em solo controle e solo teste após 48 h de exposição segundo teste exato de Fisher ($p < 0,05$).



4.2 ENSAIOS DE REPRODUÇÃO

Após o período de exposição determinado pelas normas ABNT NBR ISO 11267 para colêmbolos e ABNT NBR ISO 16387 para enquitreídeos, os critérios de validação dos ensaios foram alcançados: letalidade < 20% dos adultos, reprodução mínima de 100 colêmbolos e 25 enquitreídeos, e coeficiente de variação <30% nos controles para colêmbolos e <50% para enquitreídeos.

Para a reprodução de colêmbolos, o cascalho do pós-sal tratado, apesar de apresentar uma redução no número médio de juvenis de colêmbolos em todas as concentrações testadas, não houve diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle.

Figura 16. Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras cinzas representam a média do número de juvenis, com solo com aplicação de cascalho pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

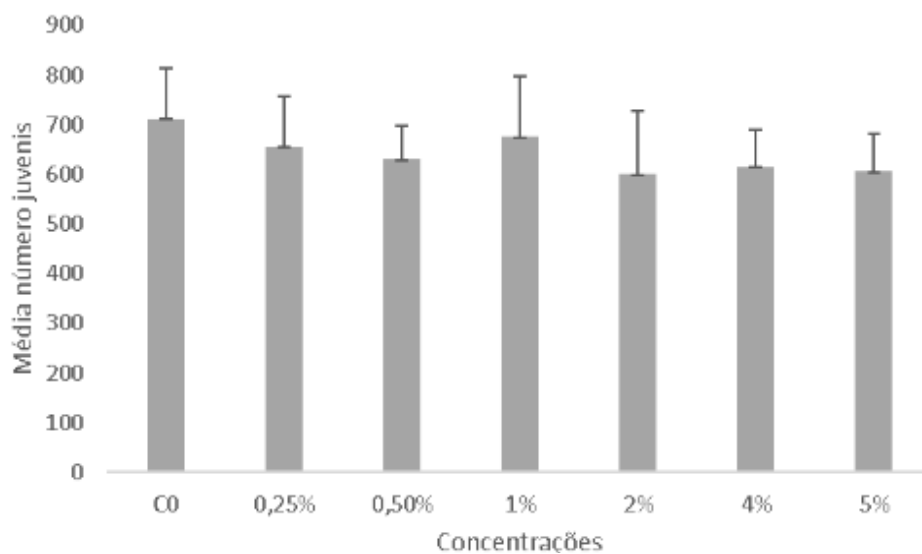
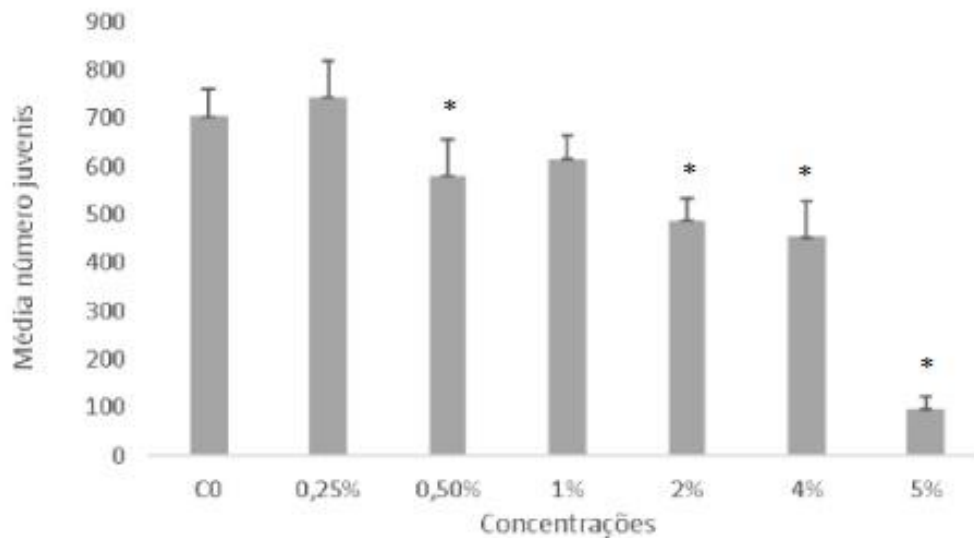


Figura 17. Número de juvenis de colêmbolos (*F. candida*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução. As barras cinzas representam a média do número de juvenis, com solo com aplicação de cascalho pré-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).



Para o cascalho do pré-sal tratado, houve diferenças estatisticamente significativa nas concentrações 0,25%, 2%, 4% e 5% . Esta tendência do cascalho do pré-sal apresentar redução significativa da reprodução de colêmbolos em doses mais baixas do que o cascalho do pós-sal se manteve quando comparamos com o trabalho com o cascalho sem tratamento (CRUZ, 2022).

Em relação aos enquitreídeos (*E. crypticus*), representando os oligoquetas nos ensaios de reprodução, não apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) no número de juvenis no cascalho pós-sal e pré-sal, em relação ao tratamento controle (figuras 18 e 19). O resultado do ensaio é parcial e será finalizado durante a vigência da bolsa PIBIC.

Figura 18. Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução em solo artificial tropical (SAT). As barras cinzas representam a média do número de juvenis. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

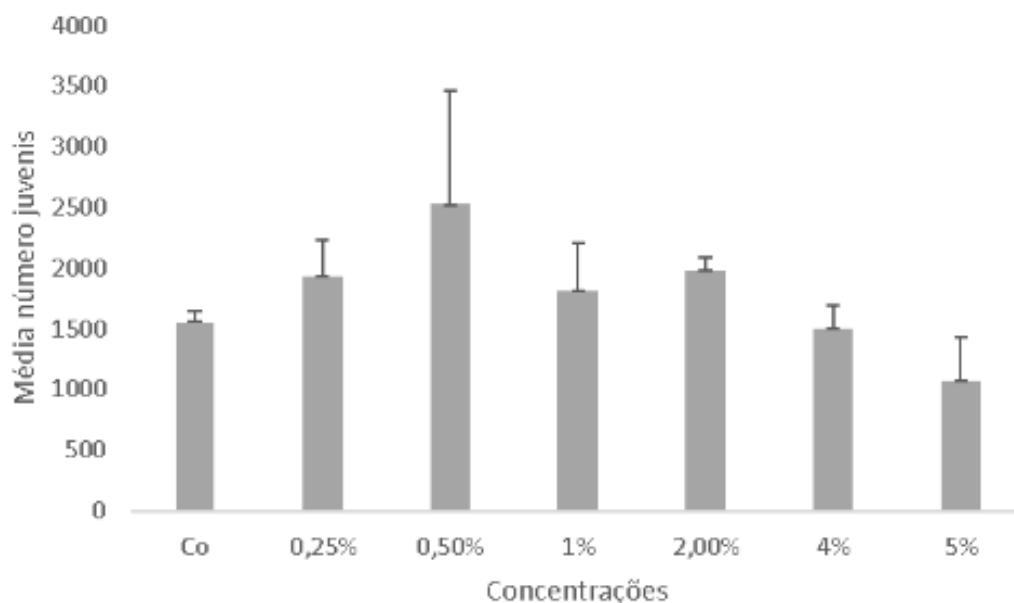
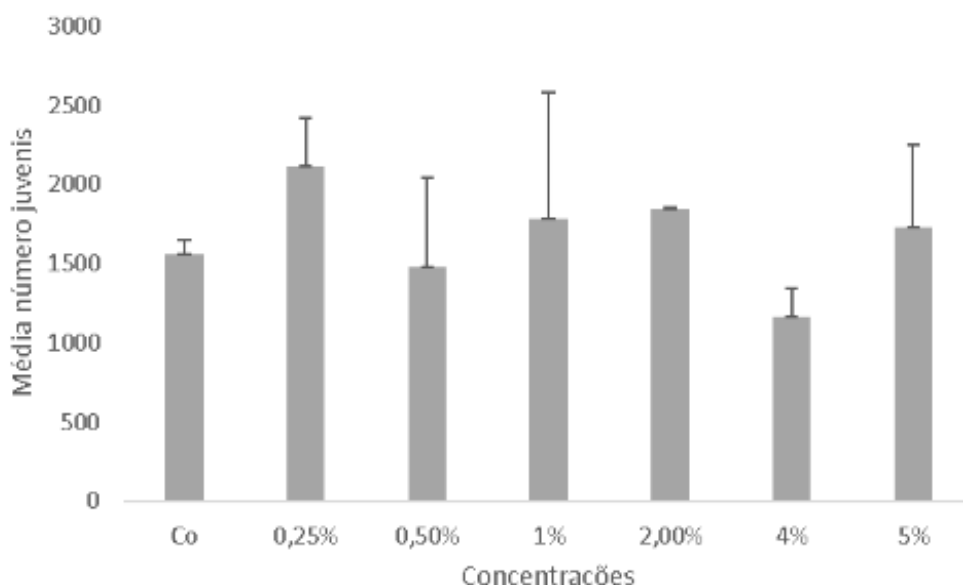


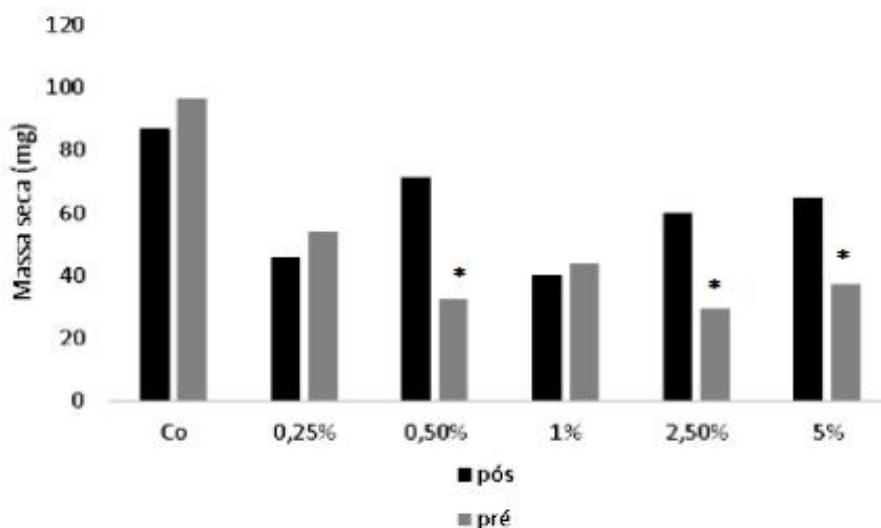
Figura 19. Número de juvenis de enquitreídeos (*E. crypticus*) (média \pm desvio padrão) em ensaio de reprodução com solo artificial tropical (SAT). As barras cinzas indicam a média do número de juvenis, em solo com aplicação de cascalho do pós-sal. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).



4.3 ENSAIOS CRESCIMENTO DE PLANTAS

Os resultados dos ensaios com a espécie *L. sativa* mostraram que em ambos os cascalhos pré-sal e pós-sal, houve uma redução no acúmulo de massa seca em relação ao controle, porém apenas as concentrações 0,5; 2,5 e 5% apresentaram redução significativa no acúmulo de biomassa para os ensaios com cascalho pré-sal tratado.

Figura 20- Massa seca de raiz e parte aérea de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes concentrações do cascalho pós-sal e 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 ($p < 0,05$).



Os resultados dos ensaios com alface não indicaram redução significativa ($p < 0,05$) para altura da parte aérea e crescimento de raiz em (cm), para os tratamentos com cascalho pós-sal tratado.

Figura 21- Altura da parte aérea da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pós-sal em solo artificial tropical. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

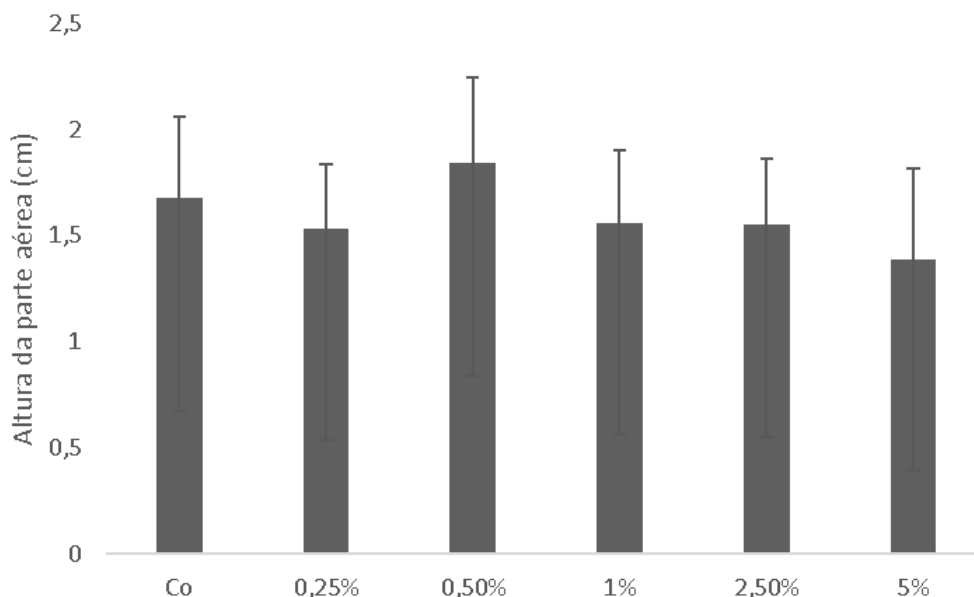
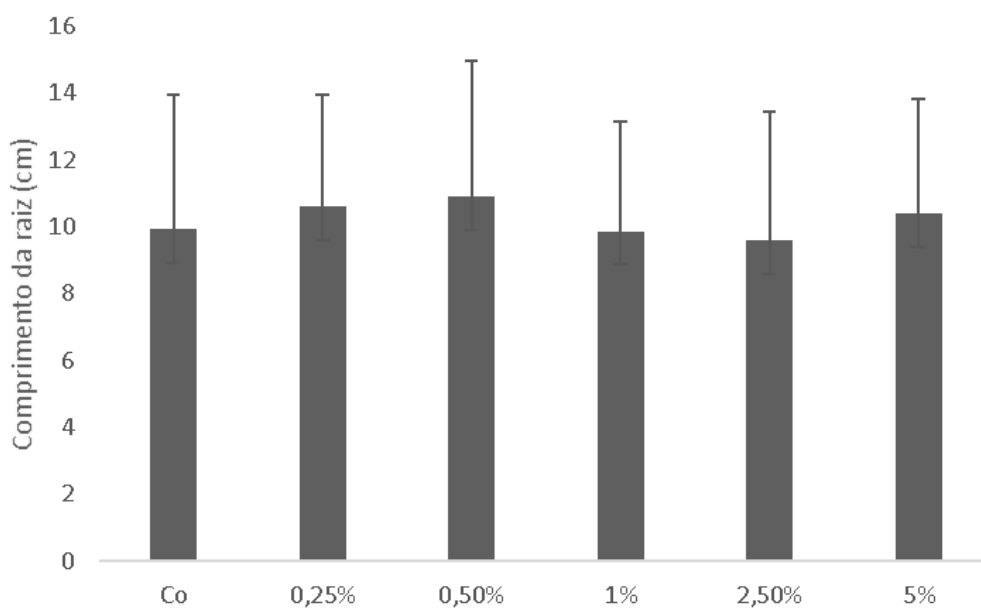


Figura 22. Comprimento da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pós-sal em solo artificial tropical. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).



Para altura da parte aérea nas concentrações de cascalho pré-sal não houve diferenças significativas ($p < 0,05$), e para tamanho de raiz apenas na concentração 5% houve redução em relação ao controle porém sem diferenças significativas também (fig. 24).

Figura 23. Altura da parte aérea (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pré-sal em SAT. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

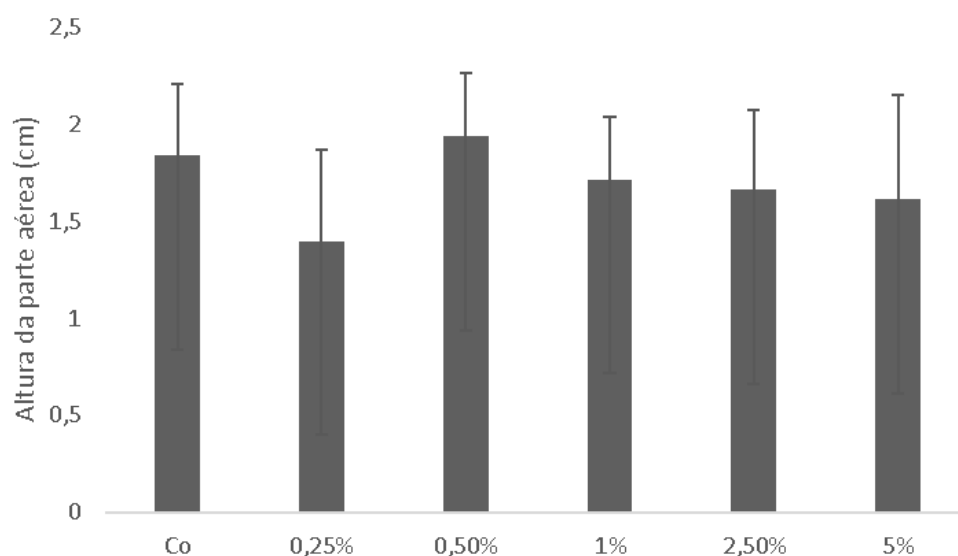
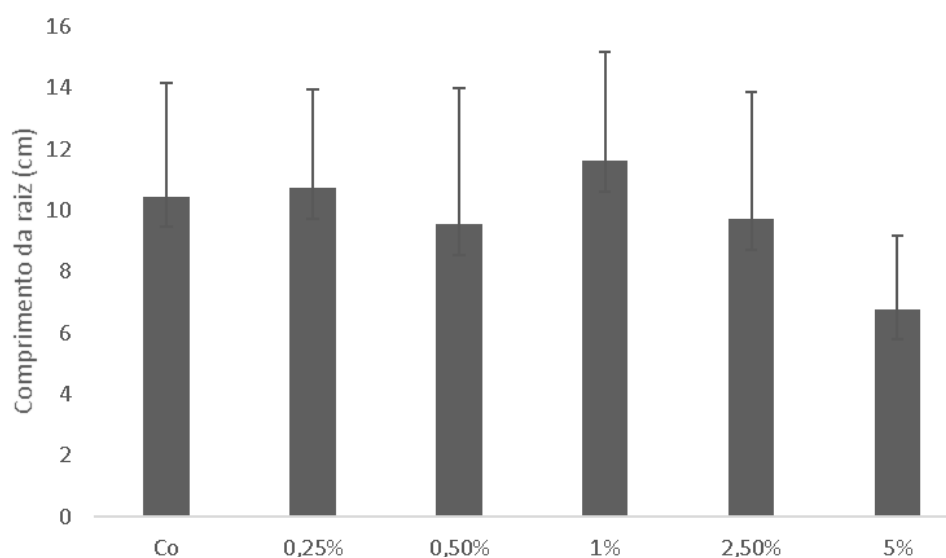


Figura 24. Altura da parte aérea da raiz (média \pm desvio padrão) de alface (*L. sativa*) exposta a diferentes proporções de cascalho pré-sal em solo artificial tropical. Os asteriscos (*) indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).



Os resultados dos ensaios de germinação e crescimento com alface (*L. sativa*), 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) e altura da parte aérea (cm), quanto ao acúmulo de massa seca (mg) foi observado redução nos tratamentos pré-sal.

5 DISCUSSÃO

5.1 INVERTEBRADOS DE SOLO

Os resultados dos ensaios de fuga com minhocas (*E. andrei*) com o cascalho do pré-sal apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nas proporções a partir de 1% de cascalho, quando comparado ao controle, enquanto o ensaio com cascalho do pós-sal não apresentou fuga em nenhuma concentração. Estes resultados podem indicar que as maiores concentrações de sódio que o cascalho pré-sal possui podem ser fatores limitantes para a espécie *E. andrei*. Os testes de fuga foram utilizados como testes de triagem em avaliação de substâncias ou solos contaminados. Sensibilidade de métodos de testes de fuga ao estresse salino podem ser maiores do que ou comparáveis aos de reprodução (OWOJORI; REINECKE, 2009).

De acordo com o trabalho de Cruz (2022), como o cascalho de perfuração é uma matriz complexa e envolve vários outros possíveis contaminantes, como Bário do fluido de perfuração, metais e hidrocarbonetos, é possível que outros contaminantes também influenciam a resposta dos organismos. Machado (2012) também testou a aplicação dos resíduos de perfuração, porém não tratado, e observou que a presença do resíduo influenciou na alimentação e reprodução das minhocas. Os resíduos apresentaram também, como maior limitação os elevados teores de sódio, afetando a reprodução da *E. andrei*.

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 0,25%, enquanto o cascalho pós-sal apresentou fuga a partir de 0,5%, de cascalho. Além disso, no cascalho pré-sal, mais de 70% dos colêmbolos foram encontrados no solo controle nas combinações com 1; 2 ; 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, onde pode-se observar concentrações mais altas de Na no cascalho pré-sal, o que se refletiu também nos valores de pH do solo, que chegaram a medir entre 8 e 9 nas maiores concentrações de 4 e 5%. Além disso, testes de ecotoxicidade podem indicar possíveis efeitos aditivos da salinidade e outros contaminantes, como metais (OWOJORI *et al.*, 2009).

Para a reprodução de colêmbolos, o cascalho do pós-sal tratado, apesar de apresentar uma tendência a redução no número médio de juvenis de colêmbolos em todas as

concentrações testadas, não houve diferenças significativas em relação ao controle. Para o cascalho do pré-sal tratado, houve diferenças estatisticamente significativas nas concentrações 0,25%, 2%, 4% e 5% . Em trabalhos sem o tratamento do cascalho também foi observado redução no número de juvenis, o que indica que doses menores devem ser testadas. 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). Cruz (2022) realizou ensaios de fuga com *F. candida* e constatou fuga na maior proporção (10%), onde quase a totalidade dos organismos foram encontrados no solo controle. Segundo Princz *et al.*, (2012), às altas concentrações de Na indicam ser o principal agente tóxico para os organismos testados, não descarta-se o possível efeito conjunto de outros contaminantes.

Outros trabalhos têm apresentado resultados similares, nos quais as concentrações de Na indicam ser as responsáveis pelos efeitos de fuga (OWOJORI; REINECKE, 2009; DO AMARAL SOBRINHO *et al.*, 2018; MACHADO *et al.*, 2018; NIEMEYER *et al.*, 2020).

Os ensaios de reprodução parciais com enquitreídeos não indicaram diferenças entre o cascalho pré-sal e pós-sal, não havendo redução significativa dos tratamentos em relação ao controle. Dentre as espécies usadas nos ensaios de reprodução, os enquitreídeos foram menos sensíveis do que os colêmbolos. No estudo de Cruz (2022), os ensaios de reprodução com enquitreídeos indicaram diferenças entre o cascalho pré-sal e pós-sal, porém os efeitos do cascalho do pós-sal foram mais pronunciados. No cascalho pré-sal, a redução significativa da reprodução foi observada a partir de 4% de cascalho, o que pode estar relacionado com a falta da etapa de lavagem do cascalho.

É importante ressaltar que o SAT apresenta vantagens como a sua funcionalidade como substrato inerte, permitindo a determinação da toxicidade intrínseca do cascalho e comparação com resultados de outros estudos da literatura científica. Porém uma vez determinadas as doses de interesse para sua aplicação em solo, recomenda-se que as próximas etapas sejam realizadas utilizando solo natural.

5.2 PLANTAS

Os resultados dos ensaios com alface indicaram que não houve efeito de inibição da germinação nas doses avaliadas para ambos os cascalhos. Avaliando-se o crescimento e a biomassa da espécie *L. sativa*, os resultados mostraram que para o cascalho pós-sal, não

houve uma redução significativa de massa seca em relação ao controle, o que indica que as doses não influenciaram para o crescimento e desenvolvimento da planta. Porém os ensaios com o cascalho pré-sal mostraram redução de biomassa significativa nas concentrações 0,5; 2,5 e 5% . De acordo com o estudo de Cruz (2022), com cascalho não tratado disposto no solo com as sementes de alface também não demonstrou efeitos negativos nas concentrações 0,25%, 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5%. 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). Outros estudos indicaram que concentrações tóxicas para invertebrados podem ser seguras para as plantas (OWOJORI ; REINECKE, 2009), contudo no ensaio da alface houve redução significativa na biomassa em concentrações maiores que 0,5% de cascalho pré-sal.

O trabalho realizado mostrou que existe certo nível de toxicidade para fauna do solo, já para o alface não houveram indícios de toxicidade, sendo necessário mais estudos para entender o impacto do resíduo em outras doses e testar em outras espécies. É recomendado também utilizar outros organismos-teste para avaliação, além de ensaios utilizando solos naturais, e ensaios a campo testando atividade alimentar dos organismos presentes em solo agrícola.

6 CONCLUSÃO

Os resultados até o momento indicam que a aplicação do cascalho de perfuração no solo pode impactar o ecossistema solo, as plantas e a fauna edáfica, a depender da dose, mas em geral apenas em doses mais altas. O presente trabalho traz informações sobre as proporções que causaram efeitos para a biota exposta, sendo que acima de 5% apresentaram diferenças estatísticas para os endpoints testados. Nos ensaios comportamentais de fuga, foi observado que os organismos testados evitaram o solo contaminado com cascalho pré-sal e pós-sal tratados, especialmente no pré-sal, podendo ser indicado uma dose de 0,25% (6,5 ton/ha) do cascalho pós-sal, que não apresentou efeitos negativos em nenhum dos ensaios. Os efeitos tóxicos observados podem estar relacionados à alta concentração de sais, principalmente de Na, que apresenta $3,66 \text{ g/kg}^{-1}$ no cascalho pré-sal e $1,08 \text{ g/kg}^{-1}$, após tratamento. A dose de 0,25%, por exemplo, apresenta $43,12 \text{ mg Na/Kg}$ solo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As perspectivas sobre o reuso de resíduos da exploração petrolífera no Brasil abrangem setores como o econômico, social e ambiental. A incorporação do resíduo cascalho tratado de perfuração de poços de petróleo para formulação de adubos organominerais traria benefícios como a redução na importação de adubos, e a redução dos impactos ambientais, já que o cascalho pode apresentar alta toxicidade quando descartado inadequadamente.

Segundo a Agência Internacional de Energia (IEA), a previsão da demanda global de petróleo elevou neste ano de 2021 em 170 mil barris por dia, para 5,5 milhões de barris por dia e também aumentou a estimativa de consumo da commodity para 2022, em 210 mil barris por dia, para 3,3 milhões de barris diários. Com isso, a demanda por petróleo no ano de 2022 deve exceder os níveis pré-pandemia, consequentemente aumentando os resíduos oriundos da exploração.

Recomenda-se estudos futuros com as proporções a serem usadas baseadas nas concentrações de Na do cascalho e em diferentes proporções de cascalho, considerando a variabilidade que pode ocorrer entre diferentes lotes. É recomendado também utilizar outros organismos para avaliações, além de ensaios utilizando solos naturais, e ensaios a campo. Ressaltando a importância de avaliações ecotoxicológicas, mesmo para substâncias não incluídas na legislação.

Ocorre a necessidade de avaliar se as doses testadas terão valor significativo frente à problemática do grande volume de resíduos.

REFERÊNCIAS

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.

ABNT – 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.

ABNT – 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.

ABNT – 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.

ABNT – 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.

AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA – INTERNATIONAL ENERGY AGENCY - IEA (2020). **World Energy Outlook 2020**. Disponível em: www.iea.org.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**: 2021. Rio de Janeiro.

BENAZZI, E. S. **Ecotoxicological assessment of onshore drilling cuttings**. 2015. 91p. Thesis (Doctorate in Science, Technology and Innovation in Agriculture). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

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

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, Curitiba, 2022.

DE ANDRÉA, M. M. Uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoológica Mexicana (ns)**, v. 26, 2010.

DIAS, G. J; COUTINHO, A. L. G. A.; MARTINS, R. P. Modelagem tridimensional do lançamento de cascalhos de perfuração de poços de petróleo em águas profundas. **3º Congresso Brasileiro de P & D em Petróleo e Gás**. 2005.

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.

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.

FIALHO, P. F. **Cascalho de perfuração de poços de petróleo e gás. Estudo do potencial de aplicação em concreto**. 217 f. 2012. Dissertação de (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2012.

FREITAS, F. C. **Uso de resíduo orgânico da produção de biodiesel direta da semente na atenuação dos efeitos de hidrocarbonetos de petróleo no solo**. 2009.

FREITAS, F. C. **Caracterização química de cascalhos de perfuração de poços de petróleo e seus efeitos em plantas e nas bases trocáveis do solo**. 2013.

GUEDES, J. N. **Estratégias de manejo do cascalho oriundo da perfuração de poços de petróleo**. 2014.

HOFFMANN, R. B., NASCIMENTO, M. D. S. V., DINIZ, A. A., ARAÚJO, L. H. A., SOUTO, J. S. Diversidade da mesofauna edáfica como bioindicadora para o manejo do solo em areia, Paraíba, Brasil. **Revista Caatinga**. 2009.

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.

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

LEITE, T. O. **Desenvolvimento inicial de Ricinus communis L. com substratos de torta de mamona e cascalho de perfuração de poços de petróleo**. 2015.

LIMA, C. A. **Avaliação de risco ambiental como ferramenta para o descomissionamento de uma indústria de metalurgia de zinco**. 2009. 238 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LIMA, L.S. **Influência do tratamento de lavagem de resíduos de perfuração de poços de petróleo no desenvolvimento de plantas de arroz (Oryza sativa)**. 2013.

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.

- MACHADO, H. M. **Efeitos da aplicação de resíduos da perfuração e recuperação de fluídos de poço de petróleo no solo, no desenvolvimento de plantas de arroz e no comportamento de *Eisenia andrei***. 2012.
- 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. **RUnPetro-ISSN 2316-6681**, v. 3, n. 1, p. 29-38, 2014.
- NIEMEYER, J. C.; MOREIRA-SANTOS, M.; NOGUEIRA, M. A.; CARVALHO, G. M.; RIBEIRO, R.; SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. **Environmental risk assessment of a metalcontaminated area in the Tropics**. Tier I: screening phase. *Journal of Soils and Sediments*, v. 10, p. 1557-1571, 2010. DOI: 10.1007/s11368-010-0255-x.
- NIVA, C. C.; BUCH, A. C.; CANTELLI, K. B.; NIEMEYER, J. C.; BROWN, G. G.. Fauna edáfica como indicadora de contaminação do solo. In: **Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 30.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 14.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 12.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 9.; SIMPÓSIO SOBRE SELÊNIO NO BRASIL, 1., 2012, Maceió. A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola: anais. Viçosa, MG: SBCS, 2012. FERTBIO 2012., 2012.
- NIVA, C. C.; BROWN, G. G. Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. **Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE)**, 2019.
- NIVA, C. C.; KOVALSKI, R.; SCHMELZ, R. M.; BROWN G. G. **Estabelecimento de coleção de culturas de enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida)**. 2010.
- 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.
- RINCZ, 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.
- SILVA, A. C. R.. **Crescimento de mudas *Colubrina grandulosa* Perkins micorrizadas em substrato com cascalho de perfuração de poço petrolífero**. 2017.
- STACECHEN, C.; DE MORAIS, R. S.; NIVA, C. C. Avaliação do efeito do agrotóxico Vertimec® 18EC sobre a reprodução de enquitreídeos em solo artificial tropical. In: **Embrapa Florestas-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 12., 2013, Colombo. Anais. Colombo: Embrapa Florestas, 2013.(Embrapa Florestas. Documentos, 253). Editores

técnicos: Marcílio José Thomazini, Elenice Fritzsons, Patrícia Raquel Silva, Guilherme Schnell e Schuhli, Denise Jeton Cardoso, Luziane Franciscon. EVINCI. Resumos., 2013.

TRAJANO, E.; BICHUETTE, M.E. **Biologia subterrânea: introdução**. 2006.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, p. 464, 2006.

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

ZORTÉA, T.; BARETTA, D.; SEGAT, J. C.; MACCARI, A. P.; BARETTA, C. R. D.; DA SILVA, A. S. Comportamento de fuga de colêmbolos expostos a solos contaminados com cipermetrina. **Scientia agraria**, v. 16, n. 4, p. 49-57, 2015.