

**UFRRJ**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-  
GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,  
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**TESE**

**Avaliação Ecotoxicológica de Resíduos da  
Perfuração Petrolífera em Terra**

**Eloísa dos Santos Benazzi**

**2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E  
INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE RESÍDUOS DA  
PERFURAÇÃO PETROLÍFERA EM TERRA**

**ELOÍSA DOS SANTOS BENAZZI**

*Sob a Orientação da Professora*

**Maria Elizabeth Fernandes Correia**

*e Co-orientação do Professor*

**Nelson Moura Brasil do Amaral Sobrinho**

Tese submetida como requisito parcial  
para obtenção do grau de **Doutora**, no  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência, Tecnologia e Inovação em  
Agropecuária, Área de Concentração em  
Agrobiologia

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2015

363.728  
B456a  
T

Benazzi, Eloísa dos Santos, 1985–  
Avaliação ecotoxicológica de resíduos da perfuração petrolífera em terra / Eloísa dos Santos Benazzi.–  
2015.  
116 f.: il.

Orientador: Maria Elizabeth Fernandes Correia.  
Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação Agropecuária, 2015.  
Bibliografia: f. 61-75.

1. Resíduos industriais – Aspectos ambientais – Teses. 2. Reaproveitamento (Sobras, refugos, etc.) – Teses. 3. Adubos e fertilizantes – Teses. 4. Petróleo – Perfuração de poços – Teses. 5. Toxicologia ambiental – Teses. I. Correia, Maria Elizabeth Fernandes, 1967– II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação Agropecuária. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO  
EM AGROPECUÁRIA**

**ELOÍSA DOS SANTOS BENAZZI**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Área de Concentração em Agrobiologia.

**TESE APROVADA EM 27/ 02/ 2015**

---

Maria Elizabeth Fernandes Correia. Dra. Embrapa Agrobiologia  
(Orientadora)

---

Lucia Helena Cunha dos Anjos. Ph.D. UFRRJ

---

Nelson Mazur. Dr. UFRRJ

---

Júlia Carina Niemeyer. Ph.D. UFSC

---

Ana Carolina Callegario Pereira. Dra. UniFOA

## EPÍGRAFE

*“Os rios sabem disto: não é preciso ter pressa. Haveremos de chegar lá um dia.” (Alan Milne)*

*“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente.” (Roger Von Oech)*

*“Para nós os grandes homens não são aqueles que resolveram os problemas, mas aqueles que os descobriram.” (Albert Schweitzer)*

*“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, eles são a abertura para achar as que estão certas.” (Carl Sagan)*

*“Tudo é energiae isso é tudo o que há. Sintonize a frequência que você deseja e, inevitavelmente, essa é a realidade que você terá. Não tem como ser diferente. Isso não é filosofia. É Física.”(Autor desconhecido)*

## **DEDICATÓRIA**

**A meus queridos pais.**

**Aos meus irmãos.**

**Ao meu melhor amigo e marido.**

**Em especial aos pequenos Maximiliano, Danilo e Salvatore,  
que nos orgulham, alegram e enchem de vida a cada descoberta e argumentação ...**

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me guiar e permitir que mais esta etapa se conclua.

Aos meus pais por nos encorajarem a seguir em frente com conselhos e exemplos...por tudo e mais um pouco.

Aos meus irmãos e família por perdoarem as ausências e trazerem à vida criaturinhas maravilhosas, que nos encham de ternura e encantamento. Espantando todo estresse e preocupação.

Ao meu marido, que compreendeu e apoiou minhas escolhas e abdições, suportando – por anos – a distância. Sem você este momento não seria completo!

A minha orientadora, Dra. Maria Elizabeth - a Beth - pela disposição e confiança em me orientar (mesmo sem me conhecer), pelo incentivo, oportunidades e pela paciência em revisar o trabalho e auxiliar a cada etapa.

Ao co-orientador, Dr. Nelson Moura, pela confiança, pela acessibilidade e cuidado em cada fase do trabalho. E, especialmente, por ter permitido o desenvolvimento desta tese cedendo os resíduos para pesquisa.

O que me faz ter a certeza de que fui privilegiada ao ser orientada por vocês, que souberam me ouvir quando precisei. Saibam que contribuíram muito em minha formação profissional e pessoal.

Ao Laboratório de Fauna do Solo, pelas conversas e risadas (cafezinhos, festas surpresas, sorvetes), pelas discussões que acrescentam tanto aos que ali convivem, por toda ajuda nesta caminhada, pela amizade, enfim...por tudo! Fernandinha (mana), Miriam, Rafael, Khadidja, Luiz Fernando, Andressa e Lucio, Láina, Mariana Iguatemy, Seu Paulo Genaro e, claro, Robertinho foram quatro anos de trabalho, mas foram incríveis. Sem vocês seria menos divertido e mais pesado.

Aos amigos de longa data, e aos feitos durante a caminhada da pós, pelas experiências trocadas, momentos de descontração, de reclamação e tantos outros que construíram quem somos hoje. Cada um deixou sua marca.

Ao pessoal do laboratório de Química do Solo, por todo auxílio com as análises químicas de tecido vegetal e recharacterização dos resíduos.

Adriana, Jair e Sandrinha não imaginam o que fizeram por mim na reta final. Vocês foram essenciais.

Ao Andrés Calderín (um de meus queridos amigos cubanos) pela disposição e paciência em ajudar com o espanhol.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelos anos de formação e aprimoramento profissional e pessoal.

Ao PPGCTIA, representado aqui pela professora Dra. Lucia Helena C. Anjos e Renata, exemplos de presteza na solução de problemas, de apoio e dedicação ao curso e seus alunos.

Ao corpo docente do Departamento de Solos: cada professor me inspirou de maneira distinta e primordial.

Aos membros da banca por enriquecerem este trabalho com suas sugestões e observações pertinentes. Especialmente a Dra. Júlia Carina Niemeyer por doar tanto dos seus conhecimentos em ecotoxicologia.

A CAPES pela concessão da bolsa, possibilitando a dedicação exclusiva à pesquisa.

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

Muito obrigada!

## **BIOGRAFIA**

Eloísa dos Santos Benazzi, filha de Danilo Sergio dos Santos Benazzi e Ezilda dos Santos Benazzi, nasceu em Paracambi – RJ em 08 de novembro de 1985. Em 2000 ingressou no Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CTUR) cursando ensino médio e profissionalizante em Agropecuária com habilitação em Agropecuária Orgânica. Iniciou a graduação em Agronomia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2003, obtendo o título de Engenheira Agrônoma em 2008. Durante a graduação foi monitora das disciplinas Morfologia e Física do Solo (2006), e Fertilidade do Solo (2006-2008) ambas do Departamento de Solos. Em março de 2009 ingressou no Curso de Pós-graduação em Agronomia – Ciência do Solo, em nível de mestrado na mesma instituição. Obteve o título de Mestra em Agronomia - Ciência do Solo em fevereiro de 2011. Em março do mesmo ano ingressou no Programa de pós-graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, em nível de doutorado também pela UFRRJ. Onde teve a oportunidade de ser bolsista Capes-Reuni adquirindo experiência em docência e de, em outubro de 2012, viajar para Argentina através do Programa de Doutorado com Estágio no Exterior (PDSE), permanecendo por três meses na Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA), realizando as atividades do Programa de Centros Associados da Pós-Graduação Brasil-Argentina (CAPG-BA), intitulado “Impactos ambientais provenientes da produção agrícola: contaminação por metais pesados, degradação e emissão de gases de efeito estufa.”

## RESUMO

BENAZZI, Eloísa dos Santos. **Avaliação ecotoxicológica de resíduos da perfuração petrolífera em terra**. 2015. 91f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

A demanda energética traz como consequência o aumento da geração de resíduos oriundos da perfuração de poços de petróleo. A indústria petrolífera busca alternativas viáveis e rentáveis ao gerenciamento desse material. A aplicação como fertilizantes e condicionadores agrícolas se apresenta como uma opção; no entanto é preciso identificar a viabilidade do uso. A abordagem ecotoxicológica e os ensaios com organismos terrestres são uma ferramenta importante na determinação da toxicidade ambiental desses resíduos. Com o objetivo de definir o nível de segurança ambiental dos resíduos de perfuração foram testadas sete doses dos resíduos dos equipamentos—Secador e Centrífuga (0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 6%) em dois materiais de solo: solo artificial tropical e solo natural (amostras de solo de um Argissolo Vermelho-Amarelo, coletado em Seropédica—RJ). Os ensaios realizados para avaliar as funções de *habitat* do solo foram: fuga e inibição da reprodução com minhocas (*Eisenia andrei*); inibição da reprodução com colêmbolos e enquitreídeos; e germinação e crescimento de plantas de milho (*Zea mays*— monocotiledônea) e feijão caupi (*Vigna unguiculata*—dicotiledônea). Os organismos do solo foram afetados negativamente pelos resíduos de perfuração. O comportamento de fuga indicou comprometimento das funções de *habitat* na dose de 0,5% de ambos os resíduos, independente do material de solo. A reprodução dos enquitreídeos foi inibida, em solo artificial tropical, já na primeira dose de ambos os resíduos. A reprodução dos colêmbolos foi inibida, em solo natural, na dose de 0,25% do resíduo do Secador e na dose de 0,5% do resíduo da Centrífuga. Nos ensaios com plantas o milho foi mais sensível à presença dos resíduos na germinação, enquanto o feijão caupi teve seu crescimento e sua nodulação afetados pela aplicação dos resíduos. Os resultados foram atribuídos às concentrações de sódio elevadas dos resíduos, bem como ao sinergismo entre os demais constituintes dos resíduos, características do solo e organismos-teste. Diante dos resultados, não se recomenda a aplicação dos resíduos de perfuração como fertilizantes e condicionadores agrícolas, devendo ficar restritos às áreas destinadas a disposição adequada.

**Palavras-chave:** Toxicidade de misturas. Cloreto de sódio. Ecotoxicologia terrestre.

## ABSTRACT

BENAZZI, Eloísa dos Santos. **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.

The demand of energy has as a consequence the increasing generation of residues from oil drilling cuttings. The oil industry searches viable and profitable alternative to the management of this residues. Their usage as agricultural fertilizers and conditioners is presented as an option; however it is necessary to identify the feasibility of their usage. The ecotoxicological approach and the tests with terrestrial organisms are an important tool in determining the environmental toxicity of those wastes. With the aim of defining the environmental safety level of the oil drilling cuttings there were tested seven residues dosages from Dryer and Centrifugal equipments (0.25; 0.5; 1; 1.5; 2; 3; 6%) in two soil materials, identified as tropical artificial soil and natural soil (soil samples from an Ultisol, collected in Seropédica – RJ). The tests performed to evaluate the soil habitat functions were: avoidance behavior and inhibition of reproduction, with earthworms (*Eisenia andrei*); reproduction inhibition with springtails and enchytraeids; and germination and growth of corn (*Zea mays*–monocot) and cowpea (*Vigna unguiculata*– dicot) plants. Soil organisms were adversely affected by the drilling cuttings residues. The avoidance behavior indicated impairment of habitat functions at the dosage of 0.5% for both residues, regardless of the soil material. The reproduction of enchytraeids was inhibited, in the tropical artificial soil, even at the first dose of both residues. The reproduction of springtails was inhibited in the natural soil at the 0.25% dosage of Dryer residue, and at the 0.5% dosage of Centrifugal residue. In the plants tests the corn was more sensitive to presence of residues in the germination, while the cowpea had the growth and nodulation affected by the residues application. The results were attributed to the high sodium concentration in the residues, and to the synergism among other constituents of residues, soil characteristics and test organisms. Given the results, it is not recommended the application of drilling cuttings as fertilizers and agricultural conditioners, and they should be restricted to proper disposal in designated areas.

**Key words:** Toxicity of mixtures. Sodium chloride. Terrestrial ecotoxicology.

## RESUMEN AMPLIADO

BENAZZI, Eloísa dos Santos. **Evaluación ecotoxicológica de los residuos de la perforación de petróleo en tierra.** 2015. 91p. Tesis (Doctorado en Ciencia, Tecnología e Innovación en Agropecuaria). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

### 1. Introducción

La generación de residuos provenientes de la perforación *onshore* en la región Nordeste de Brasil, equivale a 100 mil m<sup>3</sup> por año, lo que representa una preocupación y un desafío para las petroleras y los órganos ambientales (GANGHIS et al., 2009). Estos residuos son clasificados por la legislación brasileña como residuos de Clase IIA –no peligrosos y no inertes, siendo un material heterogéneo, con cantidades significativas de hidrocarburos, metales pesados y sales solubles en agua, cuyas características físicas y químicas dependen del tipo de fluido utilizado, de las características geológicas locales, del operador del equipamiento, de la técnica de perforación utilizada y del método de recuperación del fluido (AL-ANSARY & AL-TABBAA, 2007).

De esta forma, son investigadas alternativas viables y rentables para el gerenciamiento de estos residuos, constituyendo el reciclaje de los mismos, una opción importante desde el punto de vista económico, social y ambiental. En este contexto, la aplicación al suelo como fertilizante o acondicionadores agrícolas constituye la principal forma de reciclaje adoptada en diferentes países.

Sin embargo, la viabilidad en la utilización de estos residuos debe aún ser evaluada, pues además de las cuestiones relacionadas con los límites establecidos por la legislación y de las normas vigentes, se resalta la importancia de una investigación ecotoxicológica. Esta última permite determinar la toxicidad de los residuos y aportar informaciones relevantes para la toma de decisiones. Las herramientas generadoras de tales informaciones son los ensayos realizados con organismos terrestres, estudiando aspectos como la fuga, la reproducción y mortalidad de colémbolos, lombrices y enquitreidos, así como los de germinación de semillas y emergencia de plantas mono y dicotiledóneas que caracterizan las funciones del hábitat del suelo.

Estos organismos son extremadamente sensibles a las alteraciones ambientales y son utilizados en la ecotoxicología como indicadores por presentar respuestas rápidas y reproducibilidad en diversos locales. La ecotoxicología se destaca en la evaluación ambiental frente a la complejidad de las nuevas sustancias. Esto se debe a que las referencias sobre las mezclas complejas, como los residuos de la perforación, son inexistentes y hay poca información sobre los efectos de la salinidad en invertebrados del suelo, esta tesis constituye un instrumento para la ampliación del entendimiento –en términos biológicos– de los perjuicios ambientales que la aplicación de estos residuos que contienen cloruro de sodio puede ocasionar. De la misma forma, se contribuye también para la creación de un banco de datos que permite un aporte importante en esta área del conocimiento.

En este sentido, se espera determinar, a través de una evaluación ecotoxicológica el nivel de seguridad ambiental de los residuos, seleccionando las posibilidades para su uso agrícola o para recomendar su disposición en locales adecuados. También, contribuir en la creación de un banco de datos que auxilien nuevos estudios.

## **2. Material y Métodos**

### **2.1 Obtención del residuo y preparación de las muestras compuestas**

La colecta de los residuos fue realizada con un equipamiento de recuperación del fluido de la perforación (Secador, Centrífuga I y Centrífuga II), obteniéndose muestras simples representativas de cada equipamiento. El residuo es oriundo del pozo 7-MGP-98-D-BA, situado en el campo de Miranga, en la Bacia do Recôncavo, municipio de Pojuca, estado de Bahia, cuya finalidad era la producción de aceite. El muestreo fue realizado en el canalón de salida de cada equipamiento mediante la utilización de una pala.

Una vez colectado, el residuo fue acondicionado en sacos plásticos identificados, lo que fueron puestos en sacos de nylon y cubiertos con lona para evitar la exposición al sol y la lluvia. Posteriormente, las muestras fueron encaminadas para el Departamento de Suelos, UFRRJ en Seropédica –RJ, donde fueron preparadas y mezcladas para formar una muestra compuesta para cada equipamiento.

El residuo de la perforación fue caracterizado a partir de muestras compuestas según la norma técnica NBR 10004 (Residuos sólidos – Clasificación), teniendo como prescripciones la NBR 10005 –Procedimiento para la obtención de extracto lixiviado de residuos sólidos (ensayos de lixiviación), donde fueron clasificados como residuo clase II: No peligrosos. La NBR 10006 –Procedimiento para la obtención de extracto solubilizado de residuos sólidos (ensayos de solubilidad), encuadrándose en la clase de residuo sólido No peligroso, No Inerte (Clase IIA) (ABNT, 2004).

### **2.2 Residuos evaluados**

Los residuos evaluados fueron gentilmente cedidos por el Laboratorio de Química y Contaminación de Suelos de la UFRRJ, liderado por el Dr. Nelson Moura (Co-tutor de la Tesis). El material fue obtenido del proyecto en colaboración entre la UFRRJ-FAPUR-PETROBRAS, y fue objeto de estudio de varias investigaciones en el laboratorio citado. En función de la poca cantidad de muestras compuestas de los residuos, para el desarrollo de este trabajo, se mezclaron las siguientes muestras: 1S, 2S, 6S y 7S, para la obtención del residuo identificado como Secador y las muestras 1C1, 5C1, 6C1 y 1C2, para la obtención del residuo identificado como Centrífuga.

### **2.3 Re-caracterización de los residuos de perforación**

En función de la mezcla de las muestras compuestas restantes de los equipamientos Secador y Centrífugas I y II, fue realizada una nueva caracterización química del material. Complementando la caracterización química de los residuos, fueron realizadas – en el laboratorio de Química Agrícola de la Embrapa Agrobiología – los análisis de nutrientes (rutina de fertilidad) y en el Laboratorio de Física del Suelo, de la misma institución, la caracterización física (granulometría), conforme EMBRAPA (1997). Tanto en el residuo del Secador como en el de la Centrífuga, fueron encontrados bajos valores de cationes intercambiables, nitrógeno y carbono, además de valores de aluminio y acidez potencial nulos, los cuales se deben a la elevada alcalinidad del residuo. La elevada alcalinidad y los altos valores de sodio limitan el uso en grande escala del residuo como acondicionador del suelo o para fines agrícolas.

### **2.5 Definición de tratamientos y dosis**

Las dosis fueron definidas con base a estudios ecotoxicológicos anteriores, en los cuales se utilizaron los mismos tipos de residuos. En estos estudios, Machado (2012), utilizando solo las muestras compuestas puras (sin mezclar), encontró – para cada respuesta analizada – valores específicos que fueron asociados a los valores de sodio del residuo y

expresados en  $\text{Mg ha}^{-1}$ . De esta forma, las dosis trabajadas fueron fijadas considerando valores inferiores y superiores a los que anteriormente provocaron las reacciones de fuga, mortalidad o reducción del crecimiento e inhibición de la reproducción. Las dosis evaluadas en los ensayos estandarizados fueron – para ambos residuos – las siguientes: 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 3 y 6% del residuo, además del control.

Cada porcentual correspondió a una concentración distinta de sodio, de acuerdo con las características de cada residuo, en función del equipamiento de recuperación de fluido. El secador por ser el primer equipamiento de recuperación, retira la mayor parte del fluido impregnado en la roca molida, generando un residuo con características predominantes de tipo roca perforada y menor valor de fluido. La Centrifuga, el segundo equipamiento de recuperación, retira las partículas menores que se encuentran en el fluido, generando residuo con más cantidad de fluido y de sus constituyente. Siendo así, el residuo del Secador presenta una concentración de sodio menor que el residuo de la Centrifuga.

## **2.6 Caracterización del material del suelo**

Para desarrollar los ensayos se consideraron dos etapas distintas: la evaluación de la ecotoxicidad intrínseca del residuo y la evaluación de la ecotoxicidad expresada en el ambiente. De esta forma fue utilizado en los experimentos un material que será identificado como suelo artificial tropical (SAT: compuesto por 5% de fibra de coco, 22,5% de caolín y 72,5% de arena fina, totalmente misturados) y material de suelo natural – Argissolo Vermelho-Amarelo, colectado en el campo experimental de la Embrapa Agrobiología (Terraço), Seropédica – RJ.

Previamente a los ensayos, las muestras de suelo natural fueron tamizadas en tamiz con tamaño de 4 mm, posteriormente acondicionadas en sacos plásticos bien sellados y llevados al frízer. Al suelo se le realizaron tres ciclos de congelamiento y descongelamiento, de 48 horas cada una, con el objetivo de garantizar la eliminación de organismos representantes de la macro y meso fauna. Después de establecer estas condiciones, el material fue preparado para el inicio de los ensayos, siendo mezcladas las proporciones de residuos correspondientes a cada dosis.

## **2.7 Ecotoxicología Terrestre**

Los ensayos realizados en el Laboratorio de Fauna del Suelo de la Embrapa Agrobiología fueron mantenidos en condiciones específicas de temperatura ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), con simulación de fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad), humedad relativa del aire de 80% y humedad del material de 60% de la capacidad de campo. El diseño experimental adoptado fue totalmente aleatorizado con cinco repeticiones. Los ensayos de letalidad fueron concomitantes con los ensayos de reproducción.

### **2.7.1 Ensayos de fuga**

Fueron realizadas las pruebas de fuga con lombrices de la especie *Eisenia andrei*, basados en las normas ISO 17512-1 (2007) y NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011). De forma que permitiese la ejecución y que atendiese a las exigencias del protocolo, fue realizado en el laboratorio, una cultura de lombrices de la misma especie.

Los organismos adultos fueron mantenidos en estiércol bovino orgánico curtido hasta la producción de huevos, los que fueron aislados para la eclosión y obtención de los juveniles sincronizados, o sea, de individuos de la misma edad y estadio fisiológico, los que sirvieron de organismo-prueba al llegar a la edad de dos meses.

Las unidades experimentales fueron constituidas de cajas plásticas (20 cm x 12 cm x 5 cm) que fueron divididas en dos secciones de igual tamaño mediante una espátula plástica. Una de las secciones fue llenada con 500 g de suelo control y otra con la

misma cantidad de la mezcla de suelo y residuo. Cuando se finalizó el llenado, la espátula fue removida y 10 lombrices sincronizadas, con una masa individual de 300-600 mg, fueron colocadas sobre la línea divisoria. Pasadas 48 horas, las cajas fueron nuevamente divididas en dos secciones y fue registrado el número de lombrices en cada una de ellas.

## 2.7.2 Ensayos crónicos

### a. *Eisenia andrei*

Para las evaluaciones de reproducción con *Eisenia andrei* se observaron las orientaciones de la norma ISO 11268 (1993). En este caso, fueron utilizados 10 individuos sincronizados, con clitelo desarrollado, edad superior a los dos meses y masa individual variada entre 300-600 mg por repetición. La alimentación (masa de avenas), fue suministrada en el inicio del ensayo y a cada 15 días. La unidad experimental consistió en recipientes plásticos opacos con capacidad de 500 mL conteniendo 500 g del material de suelo (control) o la mezcla del material de suelo y residuo. A los 28 días del ensayo, estos organismos adultos permanecieron en las unidades experimentales. Después de este periodo, fueron retirados restando solo los huevos, los que permanecieron hasta el 56° día de ensayo, momento en que fueron contabilizados los juveniles. Cuando la mortalidad no fue detectada, se evaluaron alteraciones de masa corporal a partir de la comparación de medias de peso de las lombrices vivas a los 28 días con las medias iniciales de las 10 lombrices incluidas en cada réplica en el primer día. Diariamente los potes eran abiertos para la oxigenación.

### b. *Enchytraeus crypticus*

En la realización de la evaluación de reproducción de *Enchytraeus crypticus* fueron adoptados los procedimientos descritos en las normas ISO 16387 (2003) y NBR ISO 16387 (2012), donde 10 individuos con clitelo desarrollado fueron colocados en unidades experimentales que consistían en frascos transparentes con capacidad de 80 mL y tapa con rosca, llenados con 20 g de suelo seco por repetición. En BOD, la duración del experimento fue de tres semanas para el SAT (21 días) y cuatro semanas para el suelo natural (28 días). La alimentación (harina de avena), fue suministrada al inicio del ensayo y cada dos semanas y semanalmente, la humedad del suelo fue ajustada con agua destilada a un volumen calculado a través de las diferencias en el peso de los frascos. Al final del ensayo se adicionó en cada frasco alcohol 70% a un volumen suficiente para cubrir el material, además de cinco gotas de colorante rosa de bengala 1% en etanol. El material se quedó en reposo por 24 horas para garantizar que todos los organismos estuviesen coloreados. Posteriormente, cada repetición fue lavada en tamiz de 100 mm y los enquitreidos – coloreados y visibles a simple vista – fueron transferidos para placa Petri y contados en el microscopio.

### c. *Folsomia candida*

La evaluación de inhibición de la reproducción de *Folsomia candida*, fue realizado según se describe en las normas ISO 11267 (1998) y NBR ISO 11267 (ABNT, 2011), y consiste en exponer individuos jóvenes al material de suelo y a la mezcla del material de suelo y residuo, haciendo una comparación de la taza reproductiva con la obtenida en el control. Para el ensayo hubo la sincronización de los organismos de la colonia, que constituyó la renovación del medio de cultivo para estimular la postura de huevos, los que fueron aislados y observados continuamente para la determinación de la eclosión y la obtención de organismo con edad entre 10-12 días. En cada unidad experimental – que consistieron en frascos transparentes de tapa con rosca y capacidad de 80 mL, conteniendo 30 g (peso húmedo) de material de suelo o material de suelo con residuo – fueron introducidos 10 individuos con edad entre 10-12 días. Los ensayos fueron mantenidos en BOD; en el inicio y a cada dos semanas fue adicionado levadura seca granulada para la alimentación. Semanalmente la

humedad de suelo fue ajustada con agua destilada en un volumen calculado a través de las diferencias en el peso del frasco. Al final de los 28 días, el contenido de cada unidad experimental fue transferido para un recipiente plástico cilíndrico (5,5 cm de altura x 6,5 cm de diámetro), donde fue adicionada agua y tres gotas de tinta, favoreciendo la visualización. Posterior a la agitación del material, los adultos vivos retirados del medio – por el método de la flotación – fueron contabilizados. Para la cuantificación de jóvenes, cada unidad experimental fue fotografiada con una cámara Nikon Coolpix S4300 (Lens-shift VR, Nikkor 6x Wide Optical Zoom VR, 16.0 Megapixels) para posterior conteo en el programa de computación Image Tool 3.0 *for Windows*.

### **2.7.3 Germinación de las semillas y crecimiento de las plantas**

Por tratarse de un ensayo adecuado para la determinación de la toxicidad de una gama de materiales, tanto en suelo natural como en artificial (Environment Canada, 2005), fueron montados – en casa de vegetación – experimentos en potes con 21 días de duración, sin renovación, contados a partir de la germinación de 50% de las semillas en el control. El delineamiento experimental fue enteramente casualizado con cinco repeticiones. El ensayo siguió el padrón OECD – Guideline 208 (2006).

Fueron usadas dos especies, una monocotiledónea y otra dicotiledónea, sometidas a las mismas concentraciones químicas anteriormente testadas para la comparación con el control. Fueron ellas el maíz (*Zea mays*), variedad Eldorado, y el frijol caupi (*Vigna unguiculata*), variedad BR17-Gurguéia sin inoculación. Fueron adicionados tres semillas por repetición. Al final del periodo, fue evaluado el número de plantas emergentes (porcentual de germinación), la altura de la parte aérea, las masas secas y frescas de las raíces y la parte aérea, a las que se les compararon sus medias con las del control, las determinaciones químicas del tejido vegetal, además del estudio cualitativo (actividad basada en la coloración), de los nódulos encontrados en la leguminosa. Durante la evaluación fue adicionado solo agua, de forma de mantener el suelo húmedo.

## **2.8 Análisis de los datos**

Fueron determinados los siguientes parámetros ecotoxicológicos:

-CENO, que representa la dosis máxima de un compuesto químico en la que no se observan efectos;

-CEO, que representa la menor dosis en que se observan los efectos.

-CLx (concentración efectiva en que X% de los organismos presentan un patrón de fuga, reducción de crecimiento o reproducción).

### **2.8.1 Ensayo de fuga**

Los resultados fueron analizados por el teste exacto de Fisher (ZAR, 1996) y por la obtención del porcentual de fuga, obtenido por la ecuación:

$$A = [(C-T)/N] \times 100$$

Siendo, C=suma de lombrices observadas en el control

T=suma de lombrices observadas en el suelo tratado

N = total de lombrices por repetición

Tales porcentuales permitieron la obtención de las CE de fuga, a través del procesamiento de los datos en el programa ProProbit 1.63 (SAKUMA, 1998).

### **2.8.2 Ensayos crónicos**

Los valores de reproducción, u otra respuesta fisiológica de los organismos, fueron usados para la obtención de las concentraciones efectivas que inhiben tal capacidad. En el

ensayo de las plantas, los valores de la masa fresca y seca de la parte aérea y raíz, de la altura de la parte aérea de los dos cultivos, fueron considerados en la obtención de CEx.

Fue realizado un análisis de variancia (ANOVA) con un análisis estadístico de homogeneidad (Cochran e Bartlett) y normalidad (Lilliefors) de los resultados. Con la distribución normal y homogénea de los datos, se siguió para la comparación múltiple, el test de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ), o por el test LSD ( $p \leq 0,05$ , actividad de los nódulos), para la obtención de los valores CEO y CENO, con las herramientas contenidas en el STATISTICA, versión 7.0 (STATSOFT Inc., 2004). Para determinaciones de las CEs que llevan a la inhibición de determinadas características fisiológicas, el mismo paquete estadístico fue utilizado, sin embargo la determinación resultó del uso de las ecuaciones de regresión no lineares específicas.

### **2.8.3 Ensayo agudos**

La evaluación de los ensayos de letalidad se basó en la obtención de las concentraciones letales (CLs) para los organismos testados a partir de la mortalidad encontrada. Para el ensayo con las plantas, el número de semillas germinadas permitió los cálculos. Fue utilizado el programa PriProbit 1.63 (SAKUMA, 1998) para el análisis de los resultados.

## **3. Resultados y Discusión**

### **3.1 Ensayos de Fuga**

Tanto en los ensayos de toxicidad intrínseca (SAT) como en los de toxicidad expresa (suelo natural) no fueron verificadas, en ambos residuos, mortalidades superiores a 10%. Además, la distribución de las lombrices en el control absoluto (dual test) fue, para el residuo del Secador, de 58%:42%, y para el residuo de la Centrifuga de 50%:50%, en SAT. De 46%:54% (Secador); 48%:50% (Centrifuga) en el suelo natural, obedeciendo a los criterios de validación del test (ISO, 2007).

Los porcentuales de fuga fueron estadísticamente significativos, con independencia de los residuos y materiales del suelo, a partir de la dosis de 0,5%, indicando el potencial tóxico de los residuos de perforación, o sea, la aplicación de pequeñas dosis de los residuos ya compromete las funciones de hábitat del suelo. Con el ambiente inhóspito los organismos evitan el local, habiendo alteraciones en la estructura de la comunidad edáfica y la pérdida de funciones de descomposición y biopedoturbación ejercidas por las lombrices, afectando tanto la cadena trófica como la oferta de servicios ecosistémicos en aquel local.

El comportamiento de fuga para este trabajo fue expresado en valores por debajo de los valores de referencia encontrados en la literatura. Esto puede estar relacionado con las diferencias intrínsecas del suelo y de la composición de los materiales testados. Por tratarse de una mezcla heterogénea, los residuos de la perforación poseen diversos elementos potencialmente estresantes, requiriendo un análisis diferenciado, una vez que hay efectos aditivos. O sea, no se puede descartar la acción y la presencia de otros componentes aunque no hayan sido analizados.

Las concentraciones efectivas que promueven la fuga de 20 y 50% de la población de lombrices en suelo artificial tropical fue de 16,35 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT y 53,77 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT, respectivamente, para el residuo de Secador, y de 35,61 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT y 75,79 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT, respectivamente, para el residuo de la Centrifuga. En suelo natural fueron de 14,79 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo y 37,95 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo, respectivamente, para el residuo de Secador, y de 34,05 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo y 122,88 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo, respectivamente, para el residuo de la Centrifuga

## 3.2 Ensayos crónicos

### 3.2.1 *Eisenia andrei*

En ninguno de los ensayos –SAT y suelo natural – fue verificada mortalidad superior a 10% en el tratamiento control al final de los 28 días de exposición de las lombrices. Tampoco hubo un coeficiente de variación (CV)>30%. Ninguna de las dosis testadas, en ambos residuos – independiente del material de suelo, se promovió mortalidad total. Siendo así, se evaluó también a variación de la masa corporal de los organismos que funcionaron como test.

En los ensayos en SAT no fueron observadas reducciones de masa corporal, excepto para la dosis de 3% del residuo de Secador que tuvo diferencias estadísticas con el control. En esta dosis la variabilidad de masa corporal de los animales fue influenciada por el porcentaje de mortalidad (60%). El bajo número de lombrices sobrevivientes, mostró una falsa impresión de la pérdida de masa corporal cuando en verdad los valores medios de las repeticiones fueron los más bajos. Para ningún residuo fue posible establecer CEO y CENO para la variación de masa corporal.

En los ensayos de suelo natural, fueron observados reducciones de la masa corporal a partir de la dosis de 2% del residuo de la Centrifuga, diferenciándose significativamente del control. Así, CEO fue igual a 2% y la CENO a 1,5%. La CEO equivale a concentraciones de sodio de 163,34 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo.

De los ensayos en SAT, las concentraciones letales solo pudieron ser estimadas para el residuo del Secador, donde la CL<sub>50</sub> fue 329,40 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT, la CE<sub>50cresc</sub> fue de 339,75 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT, mientras que la CE<sub>20cresc</sub> fue 135,90 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT.

Los ensayos en suelo natural no permitieron la detección de las concentraciones letales, independientemente del residuo considerado. Concentraciones efectivas solo pudieron obtenerse para el residuo de la Centrifuga, una vez que no hubo efectos en la reducción del crecimiento detectable para el Secador. Así, las CE<sub>20cresc</sub> y CE<sub>50cresc</sub> fueron de, respectivamente, 412,43 y 1030,67 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo. Este resultado indicó que las dosis superiores a la máxima estudiada, serían necesarias para promover la reducción del 50%.

La CENO y la CEO, para la reproducción en SAT – en ambos residuos – fueron de respectivamente, 1,5% y 2%. La reproducción, en suelo natural para el residuo de la Centrifuga fue inhibida en la mayor dosis (6%), lo que representa la CEO; la CENO fue la dosis de 3%. Cuando fueron mezclados al suelo natural, los residuos tuvieron efectos menos pronunciados en la inhibición de la reproducción de las lombrices.

Debido a la evaluación del número medio de jóvenes en SAT, se llegó a concentraciones efectivas para la inhibición de la reproducción de *Eisenia andrei*. Los valores de NaCl de 73,35 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (Secador) y 181,3 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (Centrifuga) reducen la reproducción de la población en un 50%. El residuo de la Centrifuga fue aquel que posee la mayor cantidad de NaCl. Aun así, para la reproducción, sus efectos se mostraron tardíos al ser comparados al residuo del secador, este comportamiento fue similar al observado por Machado (2012).

En los ensayos de suelo natural, no fue posible obtener las concentraciones efectivas que inhiben la reproducción para el residuo Secador. Lo que puede estar relacionado al hecho de que las ecuaciones de regresión no lineales propuestas para la obtención de las CEs están basadas en un padrón tradicional de curva contra respuesta, donde las mayores concentraciones causan los mayores efectos, lo que no se adecua a la distribución de los datos obtenidos en este estudio. La CE<sub>50</sub> del residuo Centrifuga equivale a valores de NaCl de 262,98 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo.

La reproducción fue afectada a las concentraciones menores que aquellas que afectaron el crecimiento y la mortalidad (GUZYTE et al., 2011). Indicando que, dentro de estas, la reproducción es el parámetro ecotoxicológico más sensible en la evaluación de los efectos tóxicos de la salinidad sobre la población de estas lombrices (OWOJORI et al., 2008).

### 3.2.2 *Enchytraeus crypticus*

Al final del periodo experimental de 21 días para SAT y 28 días para el suelo natural, no fue verificada mortalidad >20%, o un CV>50% para el control. En el SAT, no hubo una completa inhibición de la reproducción para ninguna de las dosis testadas., independiente del residuo utilizado. Para ninguno de los residuos, las concentraciones letales (CL<sub>20</sub> y CL<sub>50</sub>) pudieron ser determinadas.

Tanto el residuo del Secador, como el de la centrifuga generaron valores de CEO de 0,25% (11,25 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT), o sea, en la primera dosis testada hubo diferencias significativas, en relación al control, para el número medio de juveniles. Siendo así, los valores de CENO son inferiores a este. Aún con la inhibición, no fue posible generar las CEs para la reproducción de los enquitreidos.

De acuerdo con lo observado en SAT, para el suelo natural no hubo anulación reproductiva. Tampoco fue posible determinar las concentraciones letales y efectivas que promovieron, respectivamente, la mortalidad y la inhibición de la reproducción. No hubo detección de CEO y de CENO.

### 3.2.3 *Folsomia candida*

La mortalidad observada en el control durante los ensayos, independiente del tipo del suelo, no excedió el 20%, y la reproducción media fue superior a 100 juveniles, así como el coeficiente de variación no fue superior al 30%. Atendiendo entonces a los criterios de validación protocolados.

De forma semejante, los residuos empleados en el estudio – en sus diferentes dosis – no afectaron la integridad de los organismos incluidos provocando mortalidad. De esta forma, no fueron detectadas dosis letales para los ensayos de reproducción desarrollados en SAT.

En relación a la reproducción, ninguna de las concentraciones testadas, en ambos residuos, promovió inhibición en relación al control. Las únicas diferencias significativas ocurrieron en las dosis de 1% y 3% para el residuo de la Centrifuga, con inhibición de la reproducción. Sin embargo, tales diferencias no indican las concentraciones de efecto observado (CEO) y de efecto no observado (CENO). No fue posible determinar las concentraciones efectivas que reducen la reproducción, una vez que no hubo reducciones sucesivas o de 50%. La ausencia de los parámetros ecotoxicológicos se relaciona con la variabilidad reproductiva en los ensayos con colémbolos. Principalmente con el rango de conductividad eléctrica al que se llegó en la mezclas del residuo y SAT.

De acuerdo con la literatura, los colémbolos (*Folsomia candida*) son los organismos con menor sensibilidad al estrés salino, al compararlos con los enquitreidos y lombrices. Considerando los resultados obtenidos en este estudio y en Bianchi (2013), parece ser una cuestión variable y dependiente de la combinación de factores que constituyen la muestra, ya que fueron estos, unidos con los enquitreideos, los organismos más sensibles a la salinidad, referente al *endpoint* de la reproducción.

Para el suelo natural fueron observadas reducciones significativas de la reproducción a partir de la primera dosis testada del residuo del Secador. Este comportamiento similar ocurrió para el residuo de la Centrifuga, sin embargo, en este caso fue a partir de la dosis de 0,5%.

Las concentraciones letales para 20% de la población de *Folsomia candida* y las concentraciones efectivas que promueven inhibición de la reproducción en un 50% fueron, respectivamente, de 256,20 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo y 11,25 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo, para el residuo del Secador; y de 51,45 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo y 42,47 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de suelo, para el residuo de la Centrifuga.

### 3.3 Germinación de la semillas y crecimiento de la plantas

Los ensayos en SAT y en el suelo natural fueron validados, una vez que hubo 100% de la emergencia en el control absoluto para las dos especies vegetales estudiadas. Para los residuos testados en SAT, no hubo diferencias en la emergencia de frijol caupi. Al mismo tiempo, la emergencia de maíz fue afectada en las diferentes dosis del residuo Secador, donde se llegó a porcentajes de 67% (dosis de 0,5%).

En suelo natural la respuesta de la emergencia para el frijol caupi, fue similar para los dos residuos. O maíz (*Zea mays* L.) fue la plantas más afectada, teniendo como punto común los porcentajes de emergencia mínimos entre 67-73% en la dosis de 1,5% de los residuos Secador y Centrifuga, respectivamente.

Fueron analizados los parámetros vegetativos correspondientes a masa seca de la raíz (MSR), masa seca de la parte aérea (MSPA) y la altura de la parte aérea (APA), para cada cultivo y residuo, en SAT y en suelo natural. Fueron observados reducciones significativas de MSR para el frijol caupi a partir de la dosis de 1% del residuo del Secador con SAT, y en las dosis de 1; 1,5 y 6% de residuo de la Centrifuga. Solamente en la dosis de 3% del residuo de la Centrifuga hubo reducción significativa en relación al control de la MSR del maíz. Ninguna de las especies vegetales, independientemente del residuo evaluado, presentó reducciones de MSPA. Para ambos residuos en SAT, el comportamiento del frijol caupi en términos de reducciones de APA fue idéntico, con significancia a partir de la dosis de 2% de los residuos.

La mezcla de los residuos y el suelo natural, redujo la APA solo para el frijol caupi a la dosis de 6% del residuo del Secador, así como el residuo de la Centrifuga afecto MSPA del frijol caupi y APA del maíz en la dosis de 6%.

Cuando fueron colectadas las plantas de frijol caupi, se observó la asociación de las raíces con bacterias fijadoras del nitrógeno, aun habiendo cuando hubo plantación de semillas sin la inoculación. Esto llamó la atención tanto en la coloración de los nódulos asociados como para los síntomas de deficiencia del nitrógeno que fueron, visualmente más acentuados en los tratamientos del suelo artificial tropical.

Para el SAT, ocurrieron diferencias significativas a partir de la dosis de 3% del residuo del Secador para el número de nódulo y nitrógeno total en parte aérea. Así como el residuo de la Centrifuga se diferencia en número de nódulos solo a la mayor dosis (6%) y para el nitrógeno total en parte aérea a partir de la dosis de 3%. No hubo diferencias para el valor de nitrógeno total en la raíz. La masa seca de nódulos presentó un comportamiento similar al observado para el número de nódulo.

Para la secuencia de dosis estudiada en suelo natural, no fueron constatadas diferencias estadísticas entre las dosis y el control para el número y actividad de nódulos, independiente del residuo. Sin embargo, para la dosis de 6% del residuo de la Centrifuga, hubo diferencias significativa para el nitrógeno total en parte aérea. La masa seca de nódulos a partir de la primera dosis (0,25%) de ambos residuos fue significativamente menor que el control. Los menores valores de nitrógeno en la raíz fueron, para el residuo del Secador, en las dosis de 1% y 6% y para de la Centrifuga en la dosis de 0,25%.

El comportamiento del número de nódulos en los cultivos de SAT está de acuerdo con los resultados de Medeiros et al. (2008), Leite et al. (2009) y Prazeres et al. (2014), donde, analizando el efecto de la salinidad sobre la nodulación del frijol caupi, verificaron aumentos

en conductividad eléctrica y/o salinidad traen un efecto negativo a la modulación, indicando a sensibilidad de la simbiosis al estrés salino.

Para Xavier et al. (2007), plantas con los mayores valores de masa media y número de nódulos fijan más nitrógeno atmosférico y del suelo pudiendo, por esto, indicarse que estos parámetros reflejan mayores valores acumulados en la planta. Lo que está de acuerdo con lo observado por Silva et al. (2010) donde obtuvieron correlaciones positivas entre la acumulación de nitrógeno en parte aérea de frijol caupi y la nodulación, indicando proporcionalidad entre FBN (fijación biológica de nitrógeno) e nodulación.

#### **4. Conclusiones**

No se recomienda el uso de los residuos de perforación de pozos de petróleo en tierra como fertilizantes o como acondicionadores agrícolas, pues pueden haber efectos de daños a los invertebrados del suelo, aún en concentraciones consideradas seguras para las plantas. Los resultados indican que estos afectan negativamente los organismos edáficos de la meso y macro fauna tanto en corto (ensayos de fuga), como a largo plazo (ensayos de reproducción). Efectos tóxicos fueron detectados en la dosis de 0,25% para la reproducción de enquitreidos (en SAT) y colémbolos (suelo natural con residuo de Secador). En la dosis de 0,5% para la reproducción de colémbolos (suelo natural con residuo de la Centrífuga) y fuga de lombrices (ambos materiales de suelo y residuos). Ellos deben, sin embargo, continuar restringidos a las áreas destinadas a la adecuada disposición (desechos).

La mortalidad no fue el parámetro más sensible en la evaluación de la ecotoxicidad de los residuos de perforación.

El maíz se mostró más sensible que el frijol caupi al estrés salino y a la acción de los demás constituyentes de los residuos, en ambos materiales del suelo, durante la germinación y la emergencia.

De modo general, la sensibilidad del frijol caupi aumentó en su fase vegetativa, lo que afectó negativamente la masa seca de la raíz, la masa seca de parte aérea y la altura de parte aérea.

El estudio cualitativo de nódulos mostró un *endpoint* sensible y adecuado a la evaluación ecotoxicológica de residuos de perforación conteniendo sodio.

De acuerdo con los registros literarios, los residuos de perforación fueron más tóxicos, pues a menores concentraciones salinas, valores de conductividad eléctrica, o concentraciones efectivas afectaron negativamente los *endpoints* considerados en cada ensayo, debido a los efectos aditivos de los demás componentes de los residuos.

**Palabras-clave:** Toxicidad de las mezclas. Cloruro de sodio. Ecotoxicología terrestre.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resumo dos volumes gerados por fase de perfuração e equipamento no poço 7-MGP 98-D BA.....	15
<b>Tabela 2.</b> Resultado do ensaio de lixiviação – ABNT/NBR 10005:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes do Secador (mg L <sup>-1</sup> ). .....	16
<b>Tabela 3.</b> Resultado do ensaio de lixiviação – ABNT/NBR 10005:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes da Centrífuga (mg L <sup>-1</sup> ). .....	17
<b>Tabela 4.</b> Resultado do ensaio de solubilização – ABNT/NBR 10006:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes do Secador (mg L <sup>-1</sup> ). .....	18
<b>Tabela 5.</b> Resultado do ensaio de solubilização – ABNT/NBR 10006:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes da Centrífuga (mg L <sup>-1</sup> ). .....	19
<b>Tabela 6.</b> Concentrações pseudototais de metais nos resíduos do Secador e da Centrífuga (mg kg <sup>-1</sup> ).....	21
<b>Tabela 7.</b> Análise química dos resíduos de perfuração obtidos no Secador e na Centrífuga. .	21
<b>Tabela 8.</b> Composição granulométrica dos resíduos obtidos no Secador e na Centrífuga. ....	21
<b>Tabela 9.</b> Composição do solo artificial tropical utilizado. ....	22
<b>Tabela 10.</b> Caracterização química do solo natural, Argissolo Vermelho-Amarelo, na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ.....	23
<b>Tabela 11.</b> Composição granulométrica do solo natural, Argissolo Vermelho-Amarelo, na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ.....	24
<b>Tabela 12.</b> Concentração efetiva (CE <sub>x</sub> ) dos resíduos de perfuração oriundos do Secador e da Centrífuga que leva a fuga de 20% e 50% de <i>Eisenia andrei</i> em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	33
<b>Tabela 13.</b> Concentração efetiva (CE <sub>x</sub> ) dos resíduos de perfuração oriundos do Secador e da Centrífuga que leva a fuga de 20% e 50% de <i>Eisenia andrei</i> em solo natural. ....	33
<b>Tabela 14.</b> Concentrações efetivas (CE <sub>x</sub> ) e letais (CL <sub>x</sub> ) dos resíduos do Secador e da Centrífuga que levam a redução do crescimento e a mortalidade de 20% e 50% de <i>Eisenia andrei</i> , em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica. ....	37
<b>Tabela 15.</b> Concentrações efetivas (CE <sub>x</sub> ) e letais (CL <sub>x</sub> ) dos resíduos do Secador e da Centrífuga que levam a redução do crescimento e a mortalidade de 20% e 50% de <i>Eisenia andrei</i> , em solo natural. ....	38
<b>Tabela 16.</b> Concentrações efetivas (CE <sub>x</sub> ) dos resíduos de perfuração de poço de petróleo em terra no Secador e Centrífuga que levam a inibição da reprodução de <i>Eisenia andrei</i> em 20% e 50%, após 56 dias de exposição em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	41
<b>Tabela 17.</b> Concentrações efetivas (CE <sub>x</sub> ) dos resíduos de perfuração de poço de petróleo em terra no Secador e Centrífuga que levam a inibição da reprodução de <i>Eisenia andrei</i> em 20% e 50%, após 56 dias de exposição em solo natural.....	41

<b>Tabela 18.</b> Concentrações efetivas ( $CE_x$ ) e letais ( $CL_x$ ) dos resíduos do Secador e da Centrífuga que inibem 50% da reprodução e causam mortalidade de 20% de <i>Folsomia candida</i> , em solo natural. ....	48
<b>Tabela 19.</b> Síntese e comparação entre valores de $CL_{50}$ e $CE_{50}$ para os diferentes <i>endpoints</i> ecotoxicológicos de <i>Eisenia andrei</i> e <i>Folsomia candida</i> , quando determinados, expostos aos diferentes resíduos de perfuração de poços de petróleo em terra (Secador e Centrífuga) em SAT e solo natural coletado em Seropédica-RJ. ....	49
<b>Tabela 20.</b> Síntese das concentrações de efeito observado e não observado para os <i>endpoints</i> de crescimento e reprodução. ....	50
<b>Tabela 21.</b> Teor de nitrogênio e atividade dos nódulos associados às raízes de feijão caupi cultivado em diferentes concentrações dos resíduos de perfuração em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica. ....	57
<b>Tabela 22.</b> Teor de nitrogênio e atividade dos nódulos associados às raízes de feijão caupi cultivado em diferentes concentrações dos resíduos de perfuração em solo natural. ....	57

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> A - Cascalho de perfuração na calha de saída do material e B - acondicionamento das amostras.....	14
<b>Figura 2.</b> Mapa Exploratório – Reconhecimento de solos do Município de Pojuca, BA.....	23
<b>Figura 3.</b> Montagem dos ensaios de fuga com minhocas da espécie <i>Eisenia andrei</i> – unidades experimentais.....	25
<b>Figura 4.</b> Montagem dos ensaios de reprodução com minhocas da espécie <i>Eisenia andrei</i> nas unidades experimentais.....	26
<b>Figura 5.</b> Montagem dos ensaios de reprodução com enquitreídeos nas unidades experimentais.....	27
<b>Figura 6.</b> Percentual de fuga de <i>Eisenia andrei</i> em solo artificial tropical, com 5% de matéria orgânica, após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador.....	31
<b>Figura 7.</b> Percentual de fuga de <i>Eisenia andrei</i> em solo artificial tropical, com 5% de matéria orgânica, após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga.....	31
<b>Figura 8.</b> Percentual de fuga de <i>Eisenia andrei</i> em solo natural após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador.....	32
<b>Figura 9.</b> Percentual de fuga de <i>Eisenia andrei</i> em solo natural após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga.....	33
<b>Figura 10.</b> Variação de massa corporal de <i>Eisenia andrei</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	35
<b>Figura 11.</b> Variação de massa corporal de <i>Eisenia andrei</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	35
<b>Figura 12.</b> Variação de massa corporal de <i>Eisenia andrei</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.....	36
<b>Figura 13.</b> Variação de massa corporal de <i>Eisenia andrei</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo natural.....	37
<b>Figura 14.</b> Reprodução de <i>Eisenia andrei</i> , após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	39
<b>Figura 15.</b> Reprodução de <i>Eisenia andrei</i> , após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	39
<b>Figura 16.</b> Reprodução de <i>Eisenia andrei</i> , após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.....	40
<b>Figura 17.</b> Reprodução de <i>Eisenia andrei</i> , após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo natural.....	40
<b>Figura 18.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Enchytraeus crypticus</i> , após 21 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	42

<b>Figura 19.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Enchytraeus crypticus</i> , após 21 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	43
<b>Figura 20.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Enchytraeus crypticus</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.....	44
<b>Figura 21.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Enchytraeus crypticus</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo natural.....	44
<b>Figura 22.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Folsomia candida</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	45
<b>Figura 23.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Folsomia candida</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	46
<b>Figura 24.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Folsomia candida</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.....	46
<b>Figura 25.</b> Reprodução e mortalidade de <i>Folsomia candida</i> , após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo natural.....	47
<b>Figura 26.</b> Emergência de plantas de milho ( <i>Zea mays</i> ) e feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) nas diferentes doses dos resíduos do Secador e da Centrífuga, em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	51
<b>Figura 27.</b> Emergência de plantas de milho ( <i>Zea mays</i> ) e feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) nas diferentes doses dos resíduos do Secador e da Centrífuga, em solo natural.....	51
<b>Figura 28.</b> Massa seca de raiz, massa seca de parte aérea e altura de parte aérea das plantas de milho ( <i>Zea mays</i> ) e feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) após exposição às diferentes doses dos resíduos de perfuração em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.....	53
<b>Figura 29.</b> Massa seca de raiz, massa seca de parte aérea e altura de parte aérea das plantas de milho ( <i>Zea mays</i> ) e feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) após exposição às diferentes doses dos resíduos de perfuração em solo natural.....	54
<b>Figura 30.</b> Diagnose visual do feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) após exposição às diferentes dosagens dos resíduos de perfuração em solo artificial tropical.....	55
<b>Figura 31.</b> Diagnose visual do feijão caupi ( <i>Vigna unguiculata</i> ) após exposição às diferentes dosagens dos resíduos de perfuração em solo natural.....	56

## LISTA DE ABREVIações, SIGLAS OU SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
APA	Altura de Parte Aérea
CE	Concentração Efetiva
CENO	Maior Concentração de Efeito Não Observado
CEO	Menor Concentração de Efeito Observado
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CL	Concentração Letal
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DTPA	Ácido Dietilenotriaminopentaacético
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAPUR	Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HTP	Hidrocarbonetos Totais de Petróleo
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
MSPA	Massa Seca de Parte Aérea
MSR	Massa Seca de Raiz
NBR	Norma Brasileira
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
OECD	<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
PETROBRAS	Petróleo Brasileiro S.A.
pH	Potencial Hidrogeniônico
SAT	Solo Artificial Tropical
TME	<i>Terrestrial Model Ecosystems</i>
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>2</b>
2.1	Ecotoxicologia: Breve Histórico e Importância .....	2
2.2	Abordagens em Ecotoxicologia.....	3
2.3	Organismos Teste (Bioindicadores) .....	4
2.4	Atividade Petrolífera: Geração de Resíduos e Gerenciamento .....	7
2.5	Pontos Críticos do Resíduo .....	8
2.5.1	A salinidade e o sódio .....	8
2.5.2	O sódio no sistema solo-planta.....	9
2.5.3	Alterações metabólicas em vegetais.....	9
2.5.4	Interação com a biota do solo.....	11
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
3.1	Obtenção do Resíduo e Preparo de Amostras Compostas.....	14
3.2	Resíduos Testados .....	19
3.3	Recaracterização dos Resíduos de Perfuração.....	20
3.4	Definição de Tratamentos e Doses .....	21
3.5	Caracterização do Material de Solo.....	22
3.6	Ecotoxicologia Terrestre.....	24
3.6.1	Ensaio de fuga.....	24
3.6.2	Ensaio crônicos.....	25
3.6.3	Germinação de sementes e crescimento de plantas.....	27
3.7	Análise dos Dados .....	28
3.7.1	Ensaio de fuga .....	28
3.7.2	Ensaio crônicos.....	28
3.7.3	Ensaio agudos .....	29
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>30</b>
4.1	Ensaio de Fuga .....	30
4.2	Ensaio Crônicos .....	34
4.2.1	<i>Eisenia andrei</i> .....	34
4.2.2	<i>Enchytraeus crypticus</i> .....	42
4.2.3	<i>Folsomia candida</i> .....	44
4.2.4	Germinação de Sementes e Crescimento de Plantas.....	51
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>
<b>8</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, especificamente na região Nordeste, a geração de resíduos de perfuração *onshore* é equivalente a 100 mil m<sup>3</sup> ao ano, resultando em preocupação e desafio para petroleiras e órgãos ambientais (GANGHIS et al., 2009). Enquadrados, pela legislação nacional, em resíduos da Classe II A – não perigosos e não inertes – o material é heterogêneo, com quantidades significativas de hidrocarbonetos, metais pesados e sais solúveis em água; cujas características físicas e químicas dependem do tipo de fluido usado, da geologia local, do operador do equipamento, da técnica de perfuração utilizada e do método de recuperação do fluido (AL-ANSARY & AL-TABBAA, 2007).

Desta forma, alternativas viáveis e rentáveis para o gerenciamento desses resíduos são pesquisadas, sendo a reciclagem uma opção interessante econômica, social e ambientalmente. Além disso, tem sido a principal forma de reciclagem adotada em diversos países, principalmente pela aplicação ao solo como fertilizantes ou condicionadores agrícolas. (PIRES & MATTIAZZO, 2008).

No entanto, a viabilidade do uso deve ser avaliada e é neste momento que, além dos limites descritos na legislação e normas técnicas vigentes, ressalta-se a importância da abordagem ecotoxicológica. A qual permite determinar a toxicidade dos resíduos e concentrar informações relevantes à tomada de decisão. As ferramentas geradoras de tais informações são os ensaios – com organismos terrestres – de fuga, reprodução e mortalidade com colêmbolos, minhocas e enquitreídeos, e os de germinação de sementes e emergência de plantas com mono e dicotiledôneas, que caracterizam as funções de *habitat* do solo<sup>1</sup>.

Tais organismos, extremamente sensíveis às alterações ambientais, são utilizados na ecotoxicologia como indicadores por apresentarem respostas rápidas e reprodutibilidade em diversos locais, desde que usado um solo padrão. A ecotoxicologia se destaca na avaliação ambiental diante da complexidade das novas substâncias. Considerando que referências sobre misturas complexas, como os resíduos de perfuração, são inexistentes e que há pouca informação sobre os efeitos da salinidade em invertebrados do solo, esta tese constitui um instrumento para ampliação do entendimento – em termos biológicos – dos prejuízos ambientais que a aplicação destes resíduos, contendo cloreto de sódio, pode ocasionar. Auxiliando, ainda, na criação de um banco de dados para o preenchimento dessa lacuna no conhecimento.

Assim, através da avaliação ecotoxicológica espera-se determinar o nível de segurança ambiental dos resíduos, selecionando possibilidades para uso agrícola ou, simplesmente, recomendar sua disposição em local adequado. Bem como contribuir para a estruturação de banco de dados específico, que auxilie novos estudos.

---

<sup>1</sup> Capacidade dos solos/materiais de solo para servir como um *habitat* para microrganismos, plantas, animais edáficos e de suas interações (biocenoses).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Ecotoxicologia: Breve Histórico e Importância

O termo Ecotoxicologia foi sugerido, no final da década de 60, pelo toxicologista francês René Truhaut. Segundo Ramade (1977), tal ciência é utilizada como ferramenta no monitoramento ambiental e, portanto, possui objetivo próprio de estudo, finalidade e método (AZEVEDO & CHASIN, 2003). Divide-se em Ecotoxicologia Aquática e Terrestre, ou do Solo.

Este novo ramo científico pressupõe uma abordagem sistêmica, que difere da natureza antropocêntrica da toxicologia clássica. É multidisciplinar e visa, principalmente, combinar o estudo da ecologia (riqueza de espécies, abundância e distribuição), da toxicologia (efeitos tóxicos), da biogeoquímica (AZEVEDO & CHASIN, 2003; BARD, 2008; NEWMAN, 2008) e da fisiologia, dentre outros para estudar os efeitos de xenobióticos no ecossistema.

A finalidade central é ser capaz de prever os efeitos dos poluentes de tal forma que seja possível definir ações eficazes que remedeiem os efeitos deletérios resultantes de um acidente. Em ecossistemas já impactados pela poluição, os estudos ecotoxicológicos podem informar qual o melhor modo de agir para que o ecossistema recupere seus serviços e funções.

Mesmo sendo um conceito amplo, que considera todo o ecossistema, mais atenção foi dada, até então, aos efeitos em espécies individuais e pouca ao enfoque sistêmico. Para o enfoque sistêmico o conceito de nicho ecológico assume importância, à medida que os agentes tóxicos interagem com fatores de estresse naturais (temperatura, pH, umidade etc.) (MAGALHÃES & FERRÃO FILHO, 2008). Os autores explicam que uma situação estressante surge quando se altera qualquer fator ambiental ou quando um organismo está fora de seu nicho ecológico.

Entende-se que a inserção dos ensaios ecotoxicológicos como ferramenta de avaliação ambiental é importante. Isto porque as informações obtidas a partir das análises químicas são, geralmente, insuficientes para determinar danos ao ecossistema, além de não considerarem os efeitos sinérgicos (antagônicos ou aditivos) entre substâncias e entre essas e fatores ambientais como, por exemplo, o pH.

Internacionalmente a aplicação dos conceitos da Ecotoxicologia e a utilização de testes ecotoxicológicos para avaliação de contaminação de solos já são reconhecidas como uma ferramenta complementar à análise química (CROUAI & MOÏA, 2006). Esses testes se baseiam em avaliar a consequência da liberação de substâncias químicas no ambiente, sobre os organismos nele existentes (CHASIN & PEDROZO, 2004). Eles têm por finalidade compreender até que ponto substâncias químicas, isoladas ou em forma de mistura, são nocivas a sistemas vivos, e como e onde se manifestam seus efeitos (KNIE & LOPES, 2004), verificando através do monitoramento de efeitos letais, morfológicos, comportamentais, fisiológicos, citogenéticos e bioquímicos nos organismos expostos aos poluentes (NEUHAUSER et al., 1985).

Os testes possibilitam avaliar tanto a contaminação ambiental promovida pelas substâncias, quanto a resultante de seus efeitos sinérgicos e antagônicos, afinal somente sistemas biológicos detectam os efeitos tóxicos das substâncias. Tais testes consistem de uma série de normas e procedimentos padrão, que devem ser seguidos de forma a validar as respostas (MAGALHÃES & FERRÃO FILHO, 2008).

## 2.2 Abordagens em Ecotoxicologia

Sendo os resultados dos testes dependentes das características do solo que alteram a dinâmica de organismos e a biodisponibilidade do material avaliado, os testes ecotoxicológicos são, geralmente, realizados utilizando duas abordagens: a ecotoxicidade intrínseca da substância (MARCUCELLA & ABRAMSON, 1978; ANHOLT, 1997; GRUE et al., 2002) e a ecotoxicidade expressa no ambiente alvo. No primeiro caso, os testes são realizados com material identificado como solo artificial, descrito no protocolo n. 207 da OECD (1984), que se caracteriza mais como um ambiente físico do que químico para os organismos. No caso da ecotoxicidade expressa (CHAPMAN et al., 1992; van STRAALLEN, 2003; BURTON JR et al., 2005), é utilizado material de solo natural em testes padronizados ou em mesocosmos (*Terrestrial Model Ecosystems* – TMEs), que representam uma condição ecologicamente mais realista do comportamento do poluente no ecossistema de interesse. As duas abordagens são complementares, sendo que a ecotoxicidade intrínseca permite realizar um *screening* de doses e/ou misturas para o teste posterior da ecotoxicidade expressa.

As informações químicas, ecológicas e ecotoxicológicas representam linhas de evidência de danos ambientais que podem ser testadas e interpretadas em níveis hierárquicos de risco, através da abordagem de “Análise de Risco Ecológico” (WAGELMANS et al., 2009). Em geral, este tipo de avaliação possui três níveis hierárquicos: o nível um, onde as informações químicas são testadas ecotoxicologicamente em laboratório; o nível dois, onde se passa a escala de mesocosmo ou semi-campo e o nível três, que consiste de testes em campo. A ampliação da escala de trabalho garante a relevância ecológica, enquanto que a etapa de laboratório é essencial para se determinar os fatores interferentes na ecotoxicidade.

Assim, uma boa avaliação de risco ecológico do uso de resíduos, identificando pontos biologicamente importantes pelo estudo dos efeitos em vários níveis biológicos, é imprescindível (ARTIGAS et al., 2012). Mesmo não sendo uma exigência legal no Brasil, as análises de viabilidade – atualmente – seguem o viés da ecotoxicologia, sendo crescentes os ensaios com organismos terrestres, integrando avaliações químicas e biológicas na caracterização de substâncias. O que garante um melhor entendimento da ação ambiental dessa substância, bem como das relações estruturais e de funcionamento dos ecossistemas.

A aplicação de modernas metodologias de alto rendimento eleva a quantidade e qualidade dos dados para a avaliação de riscos; ainda, a aplicação de modelos melhorados – que consideram múltiplos estressores ou níveis biológicos – responde melhor em certos casos de avaliação de risco (ARTIGAS et al., 2012). Comumente, o estudo de resíduos sólidos surpreende pesquisadores ao enquadrar-se em avaliações de estresse múltiplo, afinal o foco de estudo – definido com base na caracterização química – acaba sendo o constituinte em maiores concentrações e potencial tóxico e, com os resultados dos ensaios descobre-se que constituintes coadjuvantes fazem toda a diferença.

Em relação a isso, Artigas et al. (2012) discutem que o estresse múltiplo inclui as alterações climáticas que afetam direta, ou indiretamente, o transporte e a exposição dos contaminantes; os limites físicos e químicos dos *habitats* de organismos que são definidos por temperatura, salinidade, luz e nutrientes. Ou seja, estressores ambientais afetam os organismos em conjunto com os contaminantes requerendo que esta nova condição seja adequadamente avaliada. Contaminantes em baixas concentrações promovem “estresses colaterais”, propiciando outros estressores a afetarem os organismos. O ponto principal, neste caso, é dispor de metodologias descritivas e preditivas para interpretar a combinação de estressores e desenvolver planos experimentais para ensaios que integrem estresses físicos, químicos e biológicos.

Deste modo, inúmeros passos são requeridos para que a abordagem ecotoxicológica, utilizando ensaios com organismos do solo, em estudos de disposição de resíduos identifique

os “constituintes-problema” da mistura, e seus efeitos isolados e conjuntos, cumprindo sua função prospectiva. Cada teste ecotoxicológico, assim como o organismo-teste, apresenta uma maior sensibilidade a um tipo de material testado, sendo este o resultado que auxilia no estabelecimento das doses a serem aplicadas ao solo, quando constatado benefício, ou que prescreve a necessidade de reduzir a toxidez para a disposição.

### **2.3 Organismos Teste (Bioindicadores)**

Desde a antiguidade, as respostas de organismos vivos a um dado estresse são utilizadas para avaliar a qualidade do meio em que vivem (MAGALHÃES & FERRÃO FILHO, 2008). Os ecossistemas respondem indireta ou diretamente aos efeitos de estressores naturais, antrópicos ou modificados antropicamente. A indicação de fatores ambientais bióticos ou abióticos através de sistemas biológicos é chamada de bioindicação (LIMA, 2012). Na impossibilidade de se monitorar as diferentes espécies no ecossistema, faz-se uso de um conjunto de bioindicadores para avaliar os efeitos ecotoxicológicos em um ecossistema (ANDRÉA, 2008).

Para Abbot & Guijt (1999), um indicador transmite informações sobre complexos processos, eventos ou tendências. Para Mitchell (1997) o indicador é uma ferramenta que permite obter informações sobre dada realidade, sintetizando informações complexas e servindo como instrumento de previsão. Já Beaudoux et al. (1993) afirmam que os indicadores possibilitam medir e comparar, sendo ferramentas auxiliares na tomada de decisões e não métodos.

De modo geral, os bioindicadores possuem estreita correlação entre suas funções vitais e os fatores ambientais, sendo empregados na avaliação de certa área. Tal definição inclui, conscientemente, a indicação de comportamentos naturais. Sendo assim, bioindicadores são definidos como organismos ou comunidades que respondem à alteração ambiental modificando suas funções vitais ou acumulando toxinas (LIMA, 2012), isto é, apesar de não morrerem, respondem a estas por meio de reações comportamentais ou metabólicas mensuráveis, que indicam e refletem o grau de interferência no ambiente onde vivem (ANDRÉA, 2008).

No caso da ecotoxicologia terrestre, toda a fauna edáfica está intimamente ligada à decomposição e ciclagem de nutrientes. Por serem estes organismos sensíveis aos diferentes impactos ambientais, além de bem correlacionados com as funções do solo, tornam-se fundamentais para a elucidação dos processos do ecossistema (DORAN & ZEISS, 2000). A comunidade de invertebrados do solo, por exemplo, compõem ferramenta adequada à avaliação do grau de perturbação do solo em função de atividades antrópicas (KIMBERLING et al., 2001; RUF, 1998), ou da intensificação do uso da terra. Desta forma, a análise da diversidade e abundância dos invertebrados do solo constitui a base para informações sobre a integridade dos ambientes em que se encontram (LUTINSKI & GARCIA, 2005), auxiliando na conservação da biodiversidade.

É preciso, no entanto, escolher um mínimo de propriedades e/ou variáveis de fácil avaliação, com aplicabilidade em diferentes escalas, capacidade de integração, adequação ao nível de análise da pesquisa, utilização no maior número possível de situações, sensibilidade às variações de manejo e clima e possibilidade de medições por métodos quantitativos e/ou qualitativos (DORAN et al., 1998; USDA, 2001).

Os invertebrados do solo são o grupo animal que apresenta a maior diversidade de espécies descritas. São cosmopolitas, o que é atribuído às características estruturais e fisiológicas que possibilitam sua adaptação a condições ambientais bastante distintas (SILVA, 2009). Estes animais são sensíveis e produzem inúmeras gerações em pouco tempo,

respondendo às perturbações em seu *habitat* e às mudanças na estrutura e função dos ecossistemas, sendo importantes na indicação da qualidade ambiental.

Dentre os organismos terrestres, destacam-se os seguintes:

**a) Oligochaeta**

Minhocas são organismos visíveis a olho nu (MEINICKE, 1983), saprófagos que se alimentam de detritos orgânicos em diferentes estágios de decomposição. Estando, assim, associadas em maior número a solos ricos em matéria orgânica ou que possuam ao menos uma camada superficial de húmus (BARNES, 1984). Para sobreviver necessitam ainda de adequado grau de umidade (MEINICKE, 1983).

De todo o material ingerido e preparado no seu intestino, menos de 10% é assimilado restando nas fezes muito material disponível, e em diferentes níveis de processamento. Logo, seus coprólitos são formados de agregados de terra e matéria orgânica digerida (KIEHL, 1985). Daí a coprofagia ser comum formando-se fezes cada vez menores, que, pela perda de água e aglutinação das partículas, originam agregados estáveis ao longo dos anos (EDWARDS & BOHLEN, 1996).

Por seus dejetos, excretas, secreções e cadáveres, as minhocas interferem diretamente nas características químicas do solo e, indiretamente, pelo incremento da atividade de microrganismos. Enquanto em trânsito intestinal o material digerido tem o número de bactérias e actinomicetos aumentado exponencialmente (EDWARDS et al., 1995).

Segundo Chan (2001), os oligochaetas edáficos podem ser divididos em cinco grupos ecológicos em função do ambiente:

- Espécies epigêicas - habitam o horizonte orgânico do solo ou áreas com alto teor de matéria orgânica e, geralmente, não constroem túneis. Tamanho reduzido (<15 cm). Ex.: *Eisenia fetida*;
- Espécies anécicas - se alimentam e incorporam resíduos orgânicos, constroem longos túneis verticais, e contribuem para aeração do solo e fluxo de água do solo. Tamanhos maiores (>15 cm);
- Espécies endogêicas polihúmicas - se alimentam de solo com alto teor de M.O., habitam o horizonte A e constroem túneis horizontais. Tamanho reduzido (<15 cm);
- Espécies endogêicas mesohúmicas - se alimentam de partículas orgânicas e minerais nos horizontes A e B. Tamanho médio (10-20 cm); e
- Espécies endogêicas oligohúmicas - se alimentam em camadas de menor teor de M.O., habitando os horizontes B e C, constroem longos túneis horizontais. Tamanhos maiores (>20 cm).

Em termos de contaminação no solo são diretamente afetadas, já que dependem da boa qualidade desse ambiente. Ingerem grande quantidade de solo, representam a maior parte de biomassa do solo e seu tecido de preenchimento (celoma) possui elevado potencial de acumulação de metais pesados (LIU et al., 2005). Além disso, é um importante elo na cadeia alimentar terrestre, servindo de recurso alimentar para uma grande variedade de animais (HINTON, 1999), bem como na cadeia aquática, sendo alimento de peixes e outros organismos.

A sua utilização em testes é reforçada, além do papel desempenhado na macrofauna, pela abundante presença em solos tropicais e temperados (NAHMAN et al., 2007), pelo fácil cultivo e reprodução em laboratório (EDWARDS & BOHLEN, 1996; NEUHAUSER et al., 1985). Afinal elas são procriadoras contínuas. Seus ovos, contidos em casulos, são depositados na superfície do solo ou em maior profundidade quando há seca. A

maioria das espécies produz casulos quando a temperatura, umidade, nutriente e outros fatores ambientais são adequados. A produção é maior em temperaturas elevadas, e em temperaturas muito baixas (aproximadamente 3°C) não se observa produção. Algumas espécies do gênero *Eisenia* e *Octolasion* entram em diapausa nos períodos secos, o que interrompe a produção de casulos (EDWARDS & BOHLEN, 1996).

#### **b) Enchytraeidae**

Família também inserida na classe Oligochaeta, entretanto, participando do grupo da mesofauna devido seu tamanho reduzido (2-40 mm de comprimento). São oligoquetas típicos do solo e, assim como os representantes da classe, dependem da qualidade do solo. Possuem quimiorreceptores sensíveis a substâncias químicas no ambiente, e vivem – preferencialmente – nos primeiros cinco centímetros de solo. Alimentam-se de microrganismos (80%) e, em menor quantidade, de matéria orgânica em decomposição (20%). Geralmente, sua densidade varia em função do teor de umidade do solo, diminuindo em ambientes extremos – muito seco ou encharcado; relação essa intensificada quando associada à temperatura e conteúdo de matéria orgânica (DIDENN, 1993; AMORIM et al., 2005b).

Em florestas tropicais encontram-se até 23 mil indivíduos m<sup>-2</sup> de 9-25 espécies diferentes, enquanto em pastagens ocorrem de 500 indivíduos a 7 mil indivíduos m<sup>-2</sup> divididos em 6-12 espécies diferentes (RÖMBKE, 2007). De acordo com Lock & Janssen (2003) e Römcke (2003) estes organismos vivem em contato direto com a solução do solo e, portanto, as vias dérmica, intestinal e respiratória seriam as principais vias de exposição.

São hermafroditas com fecundação cruzada, mas algumas espécies se reproduzem por partenogênese ou autofertilização. Outra forma de reprodução é a fragmentação, onde cada parte origina um novo indivíduo. Entretanto a forma de reprodução usual é a sexuada, com fertilização e deposição de casulos (JÄNSCH et al., 2005).

Os enchytraeídeos são organismos ecologicamente relevantes devido à atividade decompositora e de bioturbação em solos de todo o mundo o que, associada a características como o curto ciclo de vida, as fáceis manipulação e obtenção da cultura, tornam-os apropriados para estudos ecotoxicológicos (DIDENN, 1993; NOVAIS et al., 2009; CASTRO-FERREIRA et al., 2012).

#### **c) Collembola**

São pequenos artrópodes, ápteros, encontrados em todo o mundo (BELLINGER et al., 2010). Amplamente difundidos e abundantes, alcançam densidades de dezenas a centenas e milhares por metro quadrado nos primeiros centímetros da superfície do solo; são partenogênicos e integram os ecossistemas edáficos sendo vulneráveis à contaminação do solo (CULIK et al., 2002; FONTAIN & HOPKIN, 2005).

São constituintes da mesofauna do solo e peça chave na decomposição da matéria orgânica, sendo considerados por Zeppelini Filho & Bellini (2004) catalisadores do processo de ciclagem de nutrientes. Podem sobreviver na serrapilheira, em árvores, no litoral marinho e na água doce (BELLINGER et al., 2010).

Apesar do avanço de estudos, no Brasil e no mundo, que envolvam diversidade de colêmbolos no solo, a grande limitação ainda é a falta de taxonomistas disponíveis e de metodologias adequadas para captura destes organismos (SAUTTER & SANTOS, 1991; SAUTTER et al., 1998; CULIK & ZEPPELINI FILHO, 2003; PONGE et al., 2003; SOUZA et al., 2004; ZEPPELINI FILHO & BELLINI, 2004; CUTZ-POOL et al., 2007). Ainda assim, *F. candida* tem sido usado como um organismo-teste em ensaios padronizados há mais de 40 anos, pois são de fácil manutenção em colônias de laboratório com uma dieta de levedura granulada seca (FONTAIN & HOPKIN, 2005).

## 2.4 Atividade Petrolífera: Geração de Resíduos e Gerenciamento

A exploração do petróleo teve início nos Estados Unidos, no século XIX. Thomas (2001) afirma que na década passada o petróleo já era uma das principais fontes de energia no mundo e que seus derivados são cada vez mais utilizados. Com isso, o petróleo, além de produzir combustível, passou a ser imprescindível às facilidades e comodidades da vida moderna. A descoberta do Pré-Sal deixa o Brasil em posição de destaque no cenário mundial, ficando entre os maiores produtores de petróleo do mundo.

Embora a sociedade e os cientistas estejam conscientes da necessidade de mudança da matriz energética atual, prevê-se que ainda para as próximas décadas, o petróleo se mantenha como a principal fonte de energia (GOLDEMBERG & VILLANUEVA, 2003). Apesar de gerar vantagens sociais e econômicas, a produção do petróleo também gera riscos ambientais (TEIXEIRA & KAI, 2007).

A perfuração de um poço é feita continuamente e se encerra quando metas de produção pré-definidas são atingidas. É uma atividade de alto risco tecnológico, devido à possibilidade de ocorrência de acidentes industriais (THEOBALD & LIMA, 2005). Outro problema é a geração de resíduos, dentre os quais merece destaque o cascalho e seu potencial poluente, em função do fluido utilizado (DIAS et al., 2004).

Para Fam et al. (2003), os fluidos de perfuração são misturas de diferentes componentes, em que cada um deles acrescenta certas propriedades aos fluidos. Em perfurações rotatórias, as principais funções desempenhadas pelo fluido de perfuração são:

- Melhorar a taxa de penetração;
- Resfriar, limpar e lubrificar a broca;
- Controlar as pressões de formação;
- Dar estabilidade às paredes do poço;
- Transferir potência hidráulica a broca;
- Limpar o fundo do poço dos cascalhos gerados pela broca e transportá-los até a superfície;
- Manter os cascalhos suspensos durante as paradas de circulação.

Enquanto se processa a perfuração todo o material triturado pela broca vem à superfície misturada com o fluido de perfuração, isto é, durante a perfuração dos poços o fluido contendo substâncias tóxicas acaba liberando-as no cascalho (POZEBON et al., 2005), sendo uma das principais influências dos teores dessas substâncias nos resíduos de perfuração (MELTON et al., 2000). Diante desse quadro, estudos são realizados na tentativa de conhecer o comportamento dos contaminantes presentes nestes resíduos, e assim solucionar eventuais problemas pela disposição inadequada no solo.

No Brasil, apesar de Cavalcanti (1998) afirmar que a preocupação com a gestão e gerenciamento de resíduos sólidos é antiga, a discussão sobre a disposição de resíduos se iniciou apenas no final da década de 80, avançando lentamente com o passar dos anos. Dados literários citam que até o início dos anos 70 priorizava-se apenas a disposição do resíduo e, posteriormente, à recuperação e reciclagem dos materiais (BROLLO & SILVA, 2001; SENAI, 2003; ALVARO et al., 2010).

Recentemente foi publicada pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente a Resolução n.420/2009, que dispõe sobre “*critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas*”

(CONAMA, 2009). Quanto à avaliação do potencial de toxicidade das substâncias, o Art. 27 § 1º relata que fica a critério do órgão ambiental competente a definição da avaliação de risco ecológico utilizada para o gerenciamento do possível risco ambiental.

Infelizmente, para muitos, o gerenciamento de resíduos envolve apenas a aplicação de tecnologias para tratamento, porém em diversos países a filosofia difundida e empregada na gestão e gerenciamento de resíduos é a da busca pela minimização do uso de recursos na fonte, com práticas ambientalmente seguras; reuso; reciclagem; e a recuperação de materiais e do conteúdo energético dos resíduos, de modo que sejam menores os volumes para tratamento e disposição (EIGHMY & KOSSON, 1996; HJELMAR, 1996; SAKAI, 1996; VEHLLOW, 1996; ADAMS et al., 2000; BAI & SUTANTO, 2002; CABRAL, 2013). Assim as empresas buscam alternativas viáveis e rentáveis para gerenciar (dispor e/ou tratar) os resíduos gerados. Afinal, poluentes em potencial deixam de ser uma preocupação quando convenientemente tratados e adequadamente dispostos ou reciclados (SOUZA & LIMA, 2002).

## **2.5 Pontos Críticos do Resíduo**

Sabendo que durante a perfuração o material triturado pela broca é trazido à superfície junto com o fluido de perfuração e que, segundo Fam et al. (2003), os fluidos de perfuração são misturas de diferentes componentes, é importante caracterizá-los. O resíduo de perfuração contém quantidades significativas de componentes, com destaque para a baritina ( $\text{BaSO}_4$ ), o sal ( $\text{NaCl}$ ) e, em alguns casos, os hidrocarbonetos (isentos de poliaromáticos).

Os “compostos destaques” são encontrados em maiores concentrações e, apesar de não serem os únicos agentes causais de qualquer problema ambiental são os que recebem atenção quando se pensa em avaliar o reuso do material mineral e inorgânico oriundo das perfurações. Estudos anteriores como os de Magalhães (2011), Machado (2012), Sampaio Júnior (2012) indicaram que tais resíduos, quando inadequadamente dispostos nos solos elevaram as concentrações dos elementos bário e sódio, mas que o bário se apresentava em forma de baixa solubilidade ocasionando problemas apenas em altas concentrações e condições extremas de redução. Concluíram então que, dentre os elementos que constituem os resíduos, o maior limitante era o sódio.

### **2.5.1 A salinidade e o sódio**

A presença de elevadas concentrações de sais solúveis caracteriza a salinidade, sendo os principais íons relacionados o  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  e  $\text{NO}_3^-$  formando sais de cloretos, sulfatos, nitratos, carbonatos e bicarbonatos. Esses sais podem estar relacionados ao intemperismo do material de origem; à água do mar ou deposição de sedimentos marinhos (regiões costeiras); à variação do nível do lençol freático salinizado (ascensão capilar); à utilização de água de irrigação com elevados teores de sais; à aplicação/disposição de resíduos com elevados teores de sais (MEDEIROS et al., 2010; CARMONA et al., 2011).

Sendo o  $\text{NaCl}$ , um sal solúvel, constituinte do fluido de perfuração usado na indústria petrolífera torna-se importante avaliar a segurança ambiental dos resíduos oriundos dessa atividade. Pois a salinidade afeta propriedades físico-hídricas e químicas do solo; o crescimento e o desenvolvimento vegetal; e a biota do solo.

A maioria dos estudos existentes contempla os efeitos da salinidade sobre as propriedades edáficas e o crescimento vegetal, porém informações dos efeitos do Na em invertebrados do solo são esparsas (YUAN et al., 2007). Esses organismos são extremamente sensíveis às alterações ambientais, sendo utilizados na ecotoxicologia como indicadores da qualidade e/ou do distúrbio ambiental, pois apresentam respostas rápidas, consistentes e passíveis de comparação, bem como reprodução em diversos locais, desde que usado um solo padrão, geralmente, um solo artificial.

### 2.5.2 O sódio no sistema solo-planta

A salinidade do solo é um problema em regiões áridas e semiáridas havendo, ainda, impacto sobre a produção agrícola (VILLA et al., 2009). Em relação às plantas, os sais mais nocivos são os cloretos e os sulfatos de sódio e de magnésio (solúveis) (CARMONA et al., 2011).

Deve-se considerar também a lixiviação, já que esses sais podem atingir o lençol freático comprometendo a qualidade da água e o fato da salinidade em solos aumentar a biodisponibilidade de metais. Keshavarz et al. (2006), trabalhando em solos naturais da Ásia e Parkpian et al. (2002) – avaliando lodo de esgoto – encontraram valores para zinco extraível por DTPA maiores conforme o aumento da salinidade, apesar de não se saber ao certo como este aumento impacta a biota do solo (OWOJORI et al., 2008).

Sais em excesso afetam propriedades físicas e químicas do solo. O Na aumenta a espessura da dupla camada iônica difusa, expandindo e dispersando as argilas, o que reduz a porosidade, a permeabilidade e a aeração. Isto é, os sais afetam a agregação do solo pela interação eletroquímica existente entre cátions e argila, levando à dispersão e obstruindo poros, o que afeta a permeabilidade, a condutividade hidráulica e, indiretamente, a germinação de sementes, o crescimento radicular e vegetal, e a aeração. A salinidade pode afetar também a fertilidade, alterando a biodisponibilidade dos elementos, promovendo desbalanços nutricionais ou toxidez às plantas (FASSBENDER & BORNEMISZA, 1987; RENGASAMY & OLSSON; van RAIJ, 1991; NOBLE & ROGERS, 1993; SANTOS, 1995; RHOADES et al., 2000; IRVINE & REID, 2001; DEMUELENAERE, 2004; MEDEIROS et al., 2010; AMIRJANI, 2011).

Segundo Dias & Blanco (2010), pequenas concentrações salinas elevam o pH da água, afinal conforme se eleva a salinidade, o pH reduz. Em valores de condutividade elétrica maiores que  $5 \text{ dS m}^{-1}$  o pH das águas é neutro. Os autores sugerem que o mesmo ocorre com a solução do solo, dependendo das características edáficas. O excesso de sais solúveis eleva o potencial osmótico, danifica e causa morte em plantas, fazendo com que – mesmo em solos úmidos – a planta não absorva água (seca fisiológica), podendo até perdê-la para o meio adjacente (plasmólise) (GARCIA & VAQUEIRO, 2001; DIAS & BLANCO, 2010). Assim, a salinidade interfere no desenvolvimento das culturas, reduzindo tanto a capacidade produtiva das plantas quanto a qualidade final dos produtos vegetais (AMIRJANI, 2011).

A absorção de sais promove danos citoplasmáticos, lesiona bordaduras e ápices foliares, por onde a planta transpira, causando acúmulo dos sais translocados do solo, toxidez e redução dos rendimentos da cultura. Os problemas de toxidez agravam os de salinidade, ou permeabilidade. Os sintomas podem surgir em qualquer cultura quando as concentrações salinas internas são elevadas ou estiverem acima dos níveis de tolerância. Há, também, efeitos indiretos quando altas concentrações de sódio, ou outros cátions em solução, alteram características físicas do solo e/ou a disponibilidade dos elementos (ex.: carbonato de sódio, que altera o pH), interferindo no crescimento e desenvolvimento das culturas (DIAS & BLANCO, 2010).

Apesar da limitação hídrica no solo, as plantas respondem de forma diferente ao estresse, sendo tolerantes – capazes de absorver a água retida a maiores tensões – ou não. O mecanismo de tolerância altera a concentração interna de sais e permite a absorção de água pelas raízes, esse processo é conhecido como ajuste osmótico. Plantas incapazes de realizar o ajuste sofrem perda de turgor e estresse hídrico por osmose (DIAS & BLANCO, 2010).

### 2.5.3 Alterações metabólicas em vegetais

A presença de sais na solução do solo reduz a absorção de água; a permeabilidade e o crescimento radicular e aumenta o acúmulo salino no tecido vegetal, inibindo processos

metabólicos e fisiológicos (FURTADO, 1998; DIAS &BLANCO, 2010), tais comprometimentos metabólicos e fisiológicos causam a morte. As reações metabólicas de assimilação de CO<sub>2</sub>, síntese de proteínas, respiração, reações enzimáticas e conversão de fitormônios (SHANNON, 1997) são algumas das afetadas, alterando a disponibilidade energética de manutenção do crescimento (MUNNS & TERMAAD, 1986). Contudo, os mecanismos prejudiciais do estresse salino ainda são discutíveis devido à sua complexidade (DIAS &BLANCO, 2010).

Algumas causas da redução do crescimento vegetal são os efeitos tóxicos dos íons absorvidos e os efeitos adversos sobre a homeostase iônica, balanço hídrico, nutrição mineral, metabolismo do carbono fotossintético, e o gasto energético para ajuste osmótico (HENRY & JOHNSON, 1977; CHHABRA, 1996; ZHU, 2001; MUNNS, 2002; MACÊDO et al., 2005). A saturação do complexo de troca pelo Na cria condições desfavoráveis ao crescimento vegetal, além de promover distúrbios nutricionais (USSL Staff, 1954; OLIVEIRA, 2001). Resultados que corroboram a afirmativa foram observados em espécies de grama (ALSHAMMARY et al., 2004), tomateiro (ROMERO-ARANDA et al., 2001) e plantas de feijão (GOUJA et al., 1994). A semelhança desses resultados evidencia que a redução do crescimento vegetal é uma resposta à presença de sais, já que em elevadas concentrações salinas a expansão celular diminui pelo acúmulo na parede celular, o que reduz o turgor e, conseqüentemente, o crescimento (MACÊDO et al., 2005).

Nessa ótica, a salinização é um ponto crítico para a produção vegetal. Porém algumas plantas desenvolveram mecanismos de tolerância à salinidade, que segundo Tester & Davenport (2003) podem ser por: tolerância individual de células, por exemplo, compartimentação intracelular; ou controle de absorção e transporte interno de sais, acúmulo de Na no interior da planta.

A tolerância das plantas é, também, função do estado nutricional, uma vez que elevadas concentrações de NaCl na solução do solo depreciam a absorção radicular de nutrientes – especificamente – K e Ca, interferindo nas funções fisiológicas (ZHU, 2001; YOSHIDA, 2002). Assim, genótipos vegetais capazes de manterem baixas concentrações de Na e altas de K e Ca em seus tecidos são um ponto chave para tolerância à salinidade (DIAS &BLANCO, 2010). Outra vantagem adaptativa é a capacidade dos genótipos excluir Na da raiz, aumentando a relação K/Na e expressando a alta tolerância aos sais (YOSHIDA, 2002; ZHU, 2002). Além desses, outros íons podem se relacionar ao nível de tolerância das culturas à salinidade, mas um fato irrefutável é que plantas adequadamente nutridas são mais tolerantes (DIAS &BLANCO, 2010).

De acordo com a resposta ao estresse salino as plantas são classificadas em **glicófitas**, que são menos tolerantes à ação dos sais; e **halófitas**, que se ajustam osmoticamente às condições e sobrevivem em meio extremamente salinizado. O mecanismo de tolerância, ajuste osmótico, acumula sais nos vacúolos de células foliares, minimizando a concentração no citoplasma, e não interferindo em processos enzimáticos ou na hidratação das proteínas celulares (DIAS &BLANCO, 2010).

Dias & Blanco (2010) afirmam que as halófitas necessitam de, cerca de, 15 g L<sup>-1</sup> de NaCl, o equivalente a metade da concentração da água do mar, para completar seu ciclo fenológico. Essas plantas recriam o equilíbrio osmótico, e no ajuste osmótico não existe fluxo entre compartimentos na membrana que separa citoplasma e vacúolo, mesmo com o gradiente de concentração, sendo o ajuste obtido com substâncias compatibilizadas com as enzimas e os metabólitos ali presentes (DIAS &BLANCO, 2010). Essas substâncias são, em geral, compostos orgânicos nitrogenados ou açúcares como o sorbitol (LAUCHI & EPSTEIN, 1984). Culturas sensíveis excluem os sais na absorção de água, mas não realizam o ajuste osmótico sofrendo com a perda de turgor e estresse hídrico (DIAS &BLANCO, 2010).

#### 2.5.4 Interação com a biota do solo

Geralmente, a salinidade afeta o rendimento agrícola e a biota benéfica do solo, causando prejuízos financeiros. A salinidade interfere no crescimento e a sobrevivência de microrganismos (LIPPI et al., 2000; YUAN et al., 2007; IWAY et al., 2012), plantas (RAMOLIYA et al., 2004; KADUKOVA & KALOGERAKIS, 2007) e os animais do solo. Um fato, amplamente conhecido, é que a salinidade interfere em diversos ecossistemas na distribuição e abundância de minhocas (LEE, 1985). Conforme citado anteriormente, poucos trabalhos relatam os efeitos da salinidade sobre comunidades edáficas e, quando o fazem, os dados são coletados em experimentos de laboratório com solos artificiais e substâncias sintéticas (FISCHER & MOLNÁR, 1997; OWOJORI et al., 2008), dificultando a extrapolação dos resultados para condições de campo.

Como exemplos de estudos foi verificado que a toxidez do NaCl para *Eisenia fetida* é menor em solo natural compostado que em solo artificial (ROBIDOUX & DELISLE, 2001). Comparando os resultados obtidos em campo (OWOJORI & REINECKE, 2010) com os obtidos em laboratório (OWOJORI et al., 2009a) observa-se que a sobrevivência de *Aporrectodea caliginosa* foi afetada em níveis menores a campo ( $0,3 \text{ dS m}^{-1}$ ) que em laboratório (a partir de  $1,33 \text{ dS m}^{-1}$ ), sinalizando a importância do uso de solos naturais na avaliação dos efeitos da salinidade nos organismos. Por outro lado, ensaios laboratoriais produzem respostas consistentes se forem usados solos da área de estudo, contaminados ou não (OWOJORI et al., 2009a).

Os invertebrados do solo tem sensibilidade variável aos poluentes (LOCK & JANSSEN, 2001a, b; AMORIM et al., 2005a), dependendo das funções de alimentação e ambiental, o que não permite a extrapolação para outros organismos que desempenhem papéis distintos no solo. Assim, o efeito da salinidade deve ser avaliado em organismos que ocupem diferentes níveis da cadeia alimentar (diferentes alimentações, *habitats*, posições taxonômicas) (OWOJORI et al., 2009b).

Os efeitos da salinidade no tamanho, atividade e estrutura da comunidade microbiológica em solos afetados por sais foram investigados por Yuan et al. (2007), na China. Onze solos apresentando gradiente de condutividade elétrica foram selecionados ( $0,32\text{-}23,05 \text{ mS cm}^{-1}$ ) e as análises determinaram relação exponencial negativa significativa entre condutividade elétrica e C da biomassa microbiana; o percentual de C orgânico presente no solo sob a forma de C da biomassa; N da biomassa microbiana; N da biomassa microbiana na proporção N total; respiração basal do solo, dentre outras variáveis. Os resultados mostraram a depreciação da comunidade promovida pela salinidade, ou seja, o aumento da salinidade propiciou uma comunidade microbiana estressada, metabolicamente deficiente e defasada. Assim, a salinidade foi um fator estressante para os microrganismos do solo.

Para avaliar as propriedades do solo e a atividade microbiana em solos naturalmente afetados por sais, no nordeste da Tailândia, Iway et al. (2012) coletaram solos de nove locais distintos que apresentavam condutividade elétrica da pasta saturada variáveis e observaram relações exponencialmente negativas e significativas entre a condutividade elétrica da pasta saturada e os indicadores de atividade microbiana, sugerindo a interferência da salinidade na atividade microbiológica do solo.

Atualmente as informações sobre efeitos da salinidade em espécies de minhocas e diversos substratos vêm crescendo, apesar de não existir – ainda – um protocolo de qualidade do solo visando à proteção dos invertebrados contra íons salinos (OWOJORI et al., 2008). Existem relatos de que concentrações de NaCl maiores que 0,5%, em base úmida, são prejudiciais para minhocas em lamas ativadas (HARTENSTEIN et al., 1981), enquanto Fischer & Molnar (1997) verificaram que a partir de 100 mM de NaCl, em adubos orgânicos e turfa, a mortalidade de minhocas foi afetada; já a reprodução foi inibida na mesma

concentração. O crescimento foi reduzido em concentrações em torno de 60 mM de NaCl. Já Bright & Addison (2002), avaliando um número mínimo de minhocas, em solo artificial obtiveram concentrações efetivas (CE<sub>50</sub>s) de 4681 (crescimento) e 1884 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (reprodução); derivando os valores os autores obtiveram uma concentração letal (CL<sub>20</sub>) de 5534 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl.

Analisando os efeitos combinados da salinidade e do zinco, ou cobre em minhocas *Eisenia fetida*, Owojori et al. (2008; 2009a) relataram nos estudos com zinco, que nas doses de NaCl testadas (1- controle, 2- 1000, 3- 2000, 4- 4000<sup>2</sup>, 5- 6000 e 6- 8000 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl por massa seca de solo) não houve mortalidade para o controle ou os tratamentos três e quatro, porém houve mortalidade total para o tratamento seis; assim, a CL<sub>50</sub>, após 28 dias de experimento, foi de 5436 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl. No entanto, não houve produção de casulos a partir do tratamento quatro. O CE<sub>50</sub> para reprodução foi de 2020 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl, enquanto o CE<sub>50</sub> para crescimento foi de 4985 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl. Logo, houve efeitos adversos sobre a mortalidade, o crescimento e a reprodução desta espécie de minhocas, sendo a reprodução o parâmetro mais sensível.

Tais resultados evidenciam que as minhocas são afetadas em concentrações ditas seguras para plantas, de acordo com as faixas de condutividade elétrica propostas por Sumner (1995) e Schoeneberger et al. (2002). Contudo, para proteger os organismos edáficos são necessários estudos abrangentes que contemplem diversos níveis tróficos, representando assim uma maior diversidade da biota do solo. Ainda neste estudo, Owojori et al. (2008; 2009a) realizaram testes conjuntos com NaCl e ZnCl<sub>2</sub> (cloreto de zinco), onde o efeito combinado (salinidade + zinco) foi agravado, quando comparado à exposição das minhocas a apenas uma das substâncias, demonstrando que o sinergismo entre NaCl e ZnCl<sub>2</sub> é prejudicial aos organismos. Nos estudos combinados com cobre – Owojori et al. (2009a) não detectaram mortalidade em ambos os testes (substâncias individuais e combinadas), mas variações de peso e produção de casulos foram observadas em NaCl e Cu; quando combinadas, as substâncias agravaram os efeitos sobre estas variáveis. Os efeitos da salinidade, pelo aumento nas concentrações de NaCl, sobre a toxicidade do Cu são aditivos, mas – especialmente – dependente das concentrações de ambas.

Estudando o comportamento de fuga de duas minhocas ecofisiologicamente diferentes (*Eisenia fetida* e *Aporrectodea caliginosa*) em solos salinos – natural e artificial – Owojori & Reinecke (2009) observaram que em ambos os solos, nenhuma das espécies morreu ou fugiu das unidades experimentais ao longo dos testes. O solo artificial recebeu as seguintes doses de NaCl: controle, 500, 1000, 2000 e 4000 mg kg<sup>-1</sup>, que correspondem à CEs de 0,12; 0,26; 0,43; 0,77 e 1,21 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente. O solo naturalmente salino teve a CE ajustada para 0,08; 0,30; 0,52; 1,03 e 1,33 dS m<sup>-1</sup>. Os resultados indicaram que no solo artificial a CE<sub>50</sub> para fuga de *A. caliginosa* foi de 667 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl, menor que para *E. fetida* (1164 mg kg<sup>-1</sup>), no solo natural a CE<sub>50</sub> para fuga de *A. caliginosa* foi de 0,26 dS m<sup>-1</sup>, ainda menor que os 0,56 dS m<sup>-1</sup> para *E. fetida*. Ou seja, *A. caliginosa* mostrou uma maior fuga à salinidade que a *E. fetida*, independente do tipo de solo usado. Quando contrastados com dados literários, os valores de CE<sub>50</sub> para fuga foram iguais ou menores aos de reprodução, considerada a variável mais sensível no ciclo de vida das minhocas. Os resultados permitem o uso de testes de fuga como método de triagem para os demais ensaios, por indicarem os primeiros efeitos do estresse salino sobre as funções de *habitat* dos solos.

Em contrapartida Owojori et al. (2009b), em estudo comparativo dos efeitos da salinidade no ciclo de vida de quatro espécies que habitam o solo (*Folsomia candida*,

---

<sup>2</sup> Doses de NaCl de um a quatro foram usadas nos ensaios combinados com cobre.

*Enchytraeus doerjesi*, *Eisenia fetida* e *Aporrectodea caliginosa*), relataram que o solo naturalmente salino, com CE variando de 0,08-1,62 dS m<sup>-1</sup> e no qual os organismos foram mantidos por 28 dias, não causou mortalidade significativa de *E. doerjesi* e *F. candida*, mas afetou a capacidade reprodutiva a partir de 1,03 dS m<sup>-1</sup>; a nulidade reprodutiva de *E. doerjesi* foi observada em CE de 1,31 dS m<sup>-1</sup>, enquanto para *F. candida* em 1,62 dS m<sup>-1</sup>. *E. fetida* e *A. caliginosa* tiveram a sobrevivência afetada acima de 0,92 e 1,31 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente, já a mortalidade total se deu em valores de CE de 1,31 e 1,62 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente. As minhocas produziram casulos apenas nos controles; o crescimento de *A. caliginosa* foi comprometido na CE de 0,52 dS m<sup>-1</sup>, já o de *E. fetida* em 1,03 dS m<sup>-1</sup>. Os resultados indicam que as minhocas são indicadoras de estresse salino, mas outros indivíduos devem ser estudados, garantindo a robustez dos dados.

Os efeitos (em curto prazo) de estressores naturais (cheias e secas) e antropogênicos (cobre e salinidade) em minhocas – *Aporrectodea caliginosa* – em condições de campo (microcosmos ao ar livre) foram avaliados por Owojori & Reinecke (2010). O experimento foi executado em agosto/setembro (inverno) e novembro/dezembro (final da primavera) para garantir a exposição às condições ambientais distintas, sendo os microcosmos preenchidos com solo com CE variando de 0,08-1,05 dS m<sup>-1</sup>. Em ambas as estações, os efeitos combinados da salinidade e do Cu, ou o efeito individual do Cu não alteraram significativamente a sobrevivência de minhocas aos 14 e 28 dias, ou a massa corporal. Houve efeito individual da salinidade na sobrevivência nas avaliações ao 14º e 28º dias, em ambas as épocas (inverno e primavera), porém no inverno a alteração foi observada em CE de 1,05 dS m<sup>-1</sup> e na primavera foram detectados efeitos na sobrevivência a partir de 0,3 dS m<sup>-1</sup>.

Em relação às alterações de massa corpórea, a salinidade – no inverno – influenciou-as significativamente no 14º dia (controle e 1,05 dS m<sup>-1</sup>). Na primavera o efeito combinado da salinidade e do Cu foi significativo no 14º dia para a CE de 0,3 dS m<sup>-1</sup>, entretanto esta diferença não foi mantida no 28º dia. A salinidade alterou, individualmente, a massa de minhocas nos dias 14 e 28 em CE a partir de 0,3 dS m<sup>-1</sup>. Não houve atividade reprodutiva em qualquer tratamento, na primavera. Poucos casulos foram encontrados, durante o inverno, no 28º dia e apenas nos microcosmos com menores valores iniciais de CE (0,08 dS m<sup>-1</sup>). Os resultados indicam que, em zonas temperadas do sul, o estresse salino ocorre na primavera (seca) e não no inverno (cheias). As diferenças entre os efeitos da salinidade – nas duas épocas de estudo – evidenciaram que as variações ambientais sazonais influenciam, sim, a toxicidade das substâncias químicas para os organismos, devendo-se considerá-las em avaliações ambientais não só de salinidade, mas de outras substâncias (OWOJORI & REINECKE, 2010).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção do Resíduo e Preparo de Amostras Compostas

A coleta dos resíduos foi realizada por equipamento de recuperação do fluido de perfuração (Secador, Centrífuga I e Centrífuga II) e ocorreu de modo a se obter amostras simples representativas de cada equipamento (Figura 1). O resíduo é oriundo do poço 7-MGP-98-D-BA, no campo de Miranga, na Bacia do Recôncavo, município de Pojuca, estado da Bahia, cuja finalidade era a produção de óleo. A amostragem foi feita na calha de saída de cada um dos equipamentos com a utilização de uma pá.

Uma vez coletado, o resíduo foi acondicionado em sacos plásticos identificados, que foram postos em sacolas de nylon e cobertos com lona para evitar a exposição ao sol e a chuva. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas para a área de preparo de amostras do Departamento de Solos, da UFRRJ em Seropédica – RJ, onde foram preparadas e misturadas, formando assim, uma amostra composta para cada equipamento.



**Figura 1.A** - Cascalho de perfuração na calha de saída do material e **B** - acondicionamento das amostras.

O poço 7-MGP 98-D BA resultou em um número total de 40 amostras simples para o Secador (Modelo Vert G) e 40 amostras simples para a Centrífuga I. Para a Centrífuga II (que é utilizada para reduzir a densidade do fluido de perfuração), foram coletadas 17 amostras simples. Neste poço, foi gerado um total de 349,91 m<sup>3</sup> de cascalho, detalhado por fase e por equipamento na Tabela 1.

As informações referentes às amostras simples e geração de amostras compostas do Secador e da Centrífuga I, para o poço 7-MGP-98D-BA, constam no Anexo A, enquanto as informações referentes às amostras simples e geração das amostras compostas da Centrífuga II, para o poço 7-MGP-98D-BA, constam no Anexo B. As amostras simples do poço originaram amostras compostas, seguindo o critério das diferentes fases de perfuração e sequência litológica e, também, dos diferentes equipamentos de recuperação de fluido, além de situações inerentes à perfuração, tais como diminuição da densidade do fluido. As amostras foram homogeneizadas e, após o seu quarteamento, coletou-se a amostra composta. Foram geradas sete amostras compostas para o Secador *Vert-G*, sete para a Centrífuga I, e duas para a Centrífuga II, totalizando 16 amostras que foram enviadas ao laboratório credenciado (*Analytical Solutions*, no Rio de Janeiro) para caracterização.

**Tabela 1.**Resumo dos volumes gerados por fase de perfuração e equipamento no poço 7-MGP 98-D BA.

Fase I 0 – 570 metros				
Equipamento/Modelo	Volume gerado (m <sup>3</sup> )	Volume total (m <sup>3</sup> )	% Total	% Óleo
Secador (Vert G)	126,08	137,92	91,41	4,2
Centrífuga I	10,65		7,72	15,9
Centrífuga II	1,27		0,87	-
Fase II 570 – 1.600 metros				
Equipamento/Modelo	Volume gerado (m <sup>3</sup> )	Volume total (m <sup>3</sup> )	% Total	% Óleo
Secador (Vert G)	107,65	130,68	82,37	4,8
Centrífuga I	22,02		16,85	9,1
Centrífuga II	1,01		0,78	-
Fase III 1.600 – 2.853 metros				
Equipamento/Modelo	Volume gerado (m <sup>3</sup> )	Volume total (m <sup>3</sup> )	% Total	% Óleo
Secador (Vert G)	64,32	81,23	79,18	3,6
Centrífuga I	6,79		8,36	-
Centrífuga II	10,12		12,46	8,8
Total de cascalho gerado = 349,91 m <sup>3</sup>				

O resíduo de perfuração foi caracterizado, a partir de amostras compostas, segundo a Norma Técnica NBR 10004 (Resíduos sólidos – Classificação), tendo como prescrições a NBR 10005 – Procedimento para obtenção do extrato lixiviado de resíduos sólidos (ensaios de lixiviação) (Tabela 2 e Tabela 3), onde foram classificados como **Resíduos Classe II: Não Perigosos**. E a NBR 10006 – Procedimento para obtenção do extrato solubilizado de resíduos sólidos (ensaios de solubilização) (Tabela 4 e Tabela 5), se enquadrando à classe de **Resíduo Sólido Não Perigoso, Não Inerte (Classe IIA)**(ABNT, 2004).

**Tabela 2.** Resultado do ensaio de lixiviação – ABNT/NBR 10005:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes do Secador (mg L<sup>-1</sup>).

Lixiviado	VMP	1ª Secador 1S	2ª Secador 2S	6ª Secador 6S	7ª Secador 7S
Inorgânico					
Arsênio	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bário	70,0	1.145	1.314	1.397	2.496
Cádmio	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Chumbo	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cromo total	5,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoreto	150,0	0,24	0,29	N.D.	0,31
Mercúrio	0,1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Prata	5,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Selênio	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pesticidas					
Aldrin	0,003				
Dieldrin	0,003				
Clordano (isômeros)	0,02				
DDT	0,2				
DDD	0,2				
DDE	0,2				
2,4-D	3,0				
Endrin	0,06	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heptacloro	0,003				
Heptacloro epóxido	0,003				
Lindano	0,2				
Metoxicloro	2,0				
Pentaclorofenol	0,9				
Toxafeno	0,5				
2,4,5-T	0,2				
2,4,5-TP	1,0				
Outros Orgânicos					
Benzeno	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	0,07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cloreto de vinila	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Clorobenzeno	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Clorofórmio	6,0	0,0070	0,0220	0,0060	0,0060
Cresol total	200,0	0,0004	0,0014	0,0078	0,0045
o-cresol	200,0	0,0004	0,0005	0,0016	0,0012
m-cresol	200,0	N.D.	0,0003	0,0029	0,0019
p-cresol	200,0	N.D.	0,0006	0,0033	0,0013
1,4-diclorobenzeno	7,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2-dicloroetano	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1-dicloroetileno	3,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexaclorobutadieno	0,13	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexacloroetano	0,1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Metiletilcetona	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Piridina	3,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Tetracloroeto de carbono	200,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Tetracloroetileno	2,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Tricloroetileno	5,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,5-triclorofenol	0,2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,6-triclorofenol	4,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = Não Detectado

**Tabela 3.** Resultado do ensaio de lixiviação – ABNT/NBR 10005:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes da Centrífuga ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

Lixiviado	VMP	Centrífuga I			1ª Centrífuga II 1C <sub>2</sub>
		1ª Centrífuga 1C <sub>1</sub>	5ª Centrífuga 5C <sub>1</sub>	6ª Centrífuga 6C <sub>1</sub>	
<b>Inorgânico</b>					
Arsênio	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bário	70,0	2.052	1.067	1.232	3.419
Cádmio	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Chumbo	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	0,031
Cromo total	5,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoreto	150,0	0,27	N.D.	N.D.	0,48
Mercúrio	0,1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Prata	5,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Selênio	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<b>Pesticidas</b>					
Aldrin	0,003				
Dieldrin	0,003				
Clordano (isômeros)	0,02				
DDT	0,2				
DDD	0,2				
DDE	0,2				
2,4-D	3,0				
Endrin	0,06				
Heptacloro	0,003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heptacloro epóxido	0,003				
Lindano	0,2				
Metoxicloro	2,0				
Pentaclorofenol	0,9				
Toxafeno	0,5				
2,4,5-T	0,2				
2,4,5-TP	1,0				
<b>Outros Orgânicos</b>					
Benzeno	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	0,07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cloreto de vinila	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Clorobenzeno	100	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Clorofórmio	6,0	0,0100	0,0190	0,0050	0,0070
Cresol total	200,0	0,0032	0,0139	0,0089	0,0053
o-cresol	200,0	0,0011	0,0035	0,0019	0,0015
m-cresol	200,0	0,0014	0,0062	0,0039	0,0024
p-cresol	200,0	0,0007	0,0042	0,0031	0,0013
1,4-diclorobenzeno	7,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,2-dicloroetano	1,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1,1-dicloroetileno	3,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexaclorobutadieno	0,13	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexacloroetano	0,1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Metiletilcetona	0,5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Piridina	3,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Tetracloroeto de carbono	200,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Tetracloroetileno	2,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Tricloroetileno	5,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,5-triclorofenol	0,2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,6-triclorofenol	4,0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = Não Detectado

**Tabela 4.** Resultado do ensaio de solubilização – ABNT/NBR 10006:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes do Secador (mg L<sup>-1</sup>).

Lixiviado	VMP	1ª Secador 1S	2ª Secador 2S	6ª Secador 6S	7ª Secador 7S
Inorgânico					
Arsênio	0,010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Alumínio	0,20	0,131	0,307	0,750	0,256
Bário	0,7	0,174	0,234	0,200	0,181
Cádmio	0,005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Chumbo	0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cianeto	0,07	N.D.	N.D.	0,028	0,016
Cloreto	250,0	375,04	1600,80	1091,80	1071,11
Cobre	2,0	0,011	0,040	0,071	0,103
Cromo total	0,05	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ferro	0,3	0,050	0,082	0,507	N.D.
Fluoreto	1,5	1.811	1.172	1.978	1.552
Manganês	0,1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mercurio	0,001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Nitrato (expr. em N)	10,0	N.D.	0,80	N.D.	0,75
Prata	0,05	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Selênio	0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Sódio	200,0	259,18	1689,66	1114,65	985,87
Sulfato (expr. em SO <sub>4</sub> )	250,0	96,68	136,55	91,90	30,21
Surfactantes	0,5	0,955	N.D.	0,051	0,466
Zinco	5,0	0,015	0,085	0,020	0,015
Pesticidas					
Aldrin	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dieldrin	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Clordano (isômeros)	0,0002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DDT	0,002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DDD	--	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DDE	--	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4-D	0,03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Endrin	0,0006	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heptacloro	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heptacloro epóxido	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Lindano	0,002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fenóis totais	0,01	0,0014	0,0164	0,0058	0,0466
Metoxicloro	0,02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Toxafeno	0,005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,5-T	0,002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,5-TP	0,030	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexaclorobenzeno	0,001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = Não Detectado

A caracterização das amostras, feita pelo laboratório credenciado, usou como referência as metodologias baseadas na SW 846 (USEPA 1986, *Test Method for Evaluating Solid Waste; Physical/Chemical Methods*, Washington, DC). Já a determinação dos teores de pseudototais de metais pesados (Alumínio, Antimônio, Arsênio, Bário, Boro, Cádmio, Chumbo, Cobalto, Cobre, Cromo, Ferro, Manganês, Mercúrio, Molibdênio, Níquel, Prata, Selênio, Vanádio e Zinco), além de Nitrato e Sódio, foi feita de acordo com o descrito pela USEPA 6010 e USEPA 7000.

**Tabela 5.** Resultado do ensaio de solubilização – ABNT/NBR 10006:2004, nas amostras compostas de cascalho de perfuração provenientes da Centrífuga (mg L<sup>-1</sup>).

Lixiviado	VMP	Centrífuga I			1ª Centrífuga II 1C <sub>2</sub>
		1ª Centrífuga 1C <sub>1</sub>	5ª Centrífuga 5C <sub>1</sub>	6ª Centrífuga 6C <sub>1</sub>	
Inorgânico					
Arsênio	0,010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Alumínio	0,20	1.365	0,971	1.042	1.090
Bário	0,7	0,221	0,206	0,116	0,263
Cádmio	0,005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Chumbo	0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cianeto	0,07	0,011	0,009	0,013	N.D.
Cloreto	250,0	367,56	438,65	368,08	889,93
Cobre	2,0	0,060	0,015	0,021	0,046
Cromo total	0,05	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ferro	0,3	0,059	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoreto	1,5	0,186	0,164	0,289	0,669
Manganês	0,1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mercurio	0,001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Nitrato (expr. em N)	10,0	N.D.	N.D.	N.D.	0,55
Prata	0,05	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Selênio	0,01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Sódio	200,0	289,67	352,26	303,76	826,48
Sulfato (expr. em SO <sub>4</sub> )	250,0	23,95	10,35	10,85	10,22
Surfactantes	0,5	N.D.	0,108	N.D.	N.D.
Zinco	5,0	0,017	0,018	0,015	0,018
Pesticidas					
Aldrin	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dieldrin	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Clordano (isômeros)	0,0002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DDT	0,002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DDD	--	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DDE	--	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4-D	0,03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Endrin	0,0006	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heptacloro	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Heptacloro epóxido	0,00003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Lindano	0,002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fenóis totais	0,01	0,0424	0,0240	0,0432	0,0373
Metoxicloro	0,02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Toxafeno	0,005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,5-T	0,002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2,4,5-TP	0,030	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexaclorobenzeno	0,001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = Não Detectado

Os resultados encontrados foram comparados com o proposto pela CETESB – Referência de Qualidade (2005) e CONAMA 420 (2009). Já a determinação dos hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) e dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) foi feita no laboratório da *Analytical Solutions*, seguindo a metodologia descrita pela USEPA 8015B e 8015C. Os resultados foram analisados segundo os parâmetros da CETESB (2001) – para HTP e CETESB (2005) para HPA, que são fundamentados na Lista Holandesa de valores orientadores de qualidade do solo e água subterrânea (1994).

### 3.2 Resíduos Testados

Os resíduos testados foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Química e Poluição do Solo da UFRRJ, gerenciado pelo Dr. Nelson Moura (co-orientador da tese). O material foi obtido de projeto em parceria entre UFRRJ-FAPUR-PETROBRAS, e constituiu objeto de estudo de várias pesquisas no laboratório citado. Em função da pouca quantidade de amostras compostas dos resíduos, para o desenvolvimento deste trabalho misturaram-se as

seguintes amostras: 1S, 2S, 6S e 7S, para obtenção do resíduo identificado como Secador, e as amostras 1C<sub>1</sub>, 5C<sub>1</sub>, 6C<sub>1</sub> e 1C<sub>2</sub>, para obtenção do resíduo identificado como Centrífuga.

### 3.3 Recaracterização dos Resíduos de Perfuração

Em função da mistura das amostras compostas restantes, dos equipamentos Secador e Centrífugas I e II, foi feita nova caracterização química do material (Tabela 6). Assim, as amostras simples de cada equipamento foram trituradas em almofariz de ardósia e tamisadas em peneira com malha de 0,5 mm. As amostras e a contraprova – que foi a amostra certificada de Lodo Industrial (*Standard Reference Material*<sup>®</sup> 2782 – Industrial Sludge; NIST, 1998) – foram pesadas em triplicata. Usou-se 0,5 g em cada repetição, que foi depositado no fundo de tubos de teflon com auxílio de um funil acoplado a um canudo plástico para *milk shake* (10 mm x 21 cm) para evitar acúmulo nas paredes do tubo, o que prejudica a eficiência da digestão.

Após este procedimento, o material recebeu a solução de digestão água-régia na proporção 3:1 (ISO 11466, 1995), logo foram adicionados 9 mL de HCl e 3 mL de HNO<sub>3</sub>, e foi deixado em contato até o dia seguinte para proporcionar tempo de reação suficiente, depois do qual se fez a digestão. Os tubos de teflon com tampas rosqueáveis foram hermeticamente fechados. Em um aparelho micro-ondas apropriado à análise de digestão assistida em sistema fechado (USEPA, 1996; 2007) – que traz vantagens como menor contaminação das amostras e tempo de análise (MELO & SILVA, 2008) – os tubos foram colocados no carrossel e balanceados, para a maior eficiência do procedimento. Foi utilizada programação de forma a atingir em 5 minutos a temperatura de 180°C, que foi mantida então por 20 minutos. Após esse período, os tubos foram deixados em repouso para esfriar e facilitar a remoção do carrossel, pois quando aquecidos os tubos de teflon se expandem.

Os tubos foram abertos em capela de ventilação forçada e o material foi avolumado até 25 mL com água ultrapura obtida por um sistema de purificação Milli-Qe, posteriormente, filtrado em papel de filtro. O líquido filtrado foi então lido em equipamento de absorção atômica *Spectra AA55B Varian*, para os elementos: Pb, Cu, Cd, Zn, Ba, Ca, Fe, Mn e Ni; e no fotômetro de chama para o Na e K. Os procedimentos foram feitos nos laboratórios de Química e Poluição do Solo (pesagem e filtração), Análise de Solos, Plantas e Resíduos (digestão) e Absorção Atômica (leitura dos filtrados). A leitura da amostra certificada (*Standard Reference Material*<sup>®</sup> 2782 – Industrial Sludge; NIST, 1998) validou a digestão ao retornar valores de recuperação próximos aos preconizados em sua certificação.

Complementando a caracterização química dos resíduos foram realizadas – no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia – as análises de nutrientes (rotina de fertilidade) e no Laboratório de Física do Solo, da mesma instituição, a caracterização física (granulometria, Tabela 8), conforme EMBRAPA (1997). Tanto no resíduo do Secador, quanto no da Centrífuga foram encontrados baixos teores de cátions trocáveis, nitrogênio e carbono, além de teores de alumínio e acidez potencial nulos (Tabela 7), os quais sedevem a elevada alcalinidade do resíduo. Já a elevada alcalinidade e os altos teores de sódio (Tabela 6) restringem o uso em larga escala do resíduo como condicionador de solo ou para fins agrícolas.

**Tabela 6.** Concentrações pseudototais de metais nos resíduos do Secador e da Centrífuga ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Elemento	Secador	Centrífuga
Chumbo	9,33	31,50
Cádmio	N.D.	N.D.
Cobre	42,12	27,70
Zinco	81,99	143,89
Bário	1293,17	846,67
Cálcio	19328,77	25492,43
Ferro	38048,50	26257,50
Manganês	285,57	345,00
Níquel	38,27	20,33
Potássio	10000	3925
Sódio	4500	8167

N.D. = Não detectado

**Tabela 7.** Análise química dos resíduos de perfuração obtidos no Secador e na Centrífuga.

Resíduo	$\text{pH}_{\text{água}}$	Cátions Trocáveis			$\text{Al}^{+3}$	H + Al	P	C	N
		$\text{Ca}^{+2}$	$\text{Mg}^{+2}$	$\text{K}^{+}$					
		$\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$	$\text{mg dm}^{-3}$		$\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$	$\text{mg dm}^{-3}$		$\text{g kg}^{-1}$	
Secador	8,34	4,30	0,89	428,03	0	0	35,42	26,2	1,0
Centrífuga	9,50	8,97	0,27	270,54	0	0	48,75	29,1	0,6

**Tabela 8.** Composição granulométrica dos resíduos obtidos no Secador e na Centrífuga.

Resíduo	Areia	Silte	Argila
	(>0,05 mm)	(0,002-0,05 mm)	(<0,002 mm)
	$\text{g kg}^{-1}$		
Secador	214,2	626,5	159,2
Centrífuga	461,5	465,8	72,7

### 3.4 Definição de Tratamentos e Doses

As doses foram definidas com base em estudos ecotoxicológicos anteriores, que utilizaram os mesmos tipos de resíduos. Nestes estudos, Machado (2012), utilizando apenas as amostras compostas puras (sem misturá-las) encontrou – para cada resposta analisada – valores específicos que foram associados aos teores de sódio do resíduo e, ainda, expressos em  $\text{Mg ha}^{-1}$ . Assim fixaram-se as doses trabalhadas, considerando valores abaixo e acima dos que, anteriormente, provocaram as reações de fuga, mortalidade ou redução de crescimento, e inibição da reprodução. As doses testadas nos ensaios padronizados foram – para ambos os resíduos – equivalentes aos percentuais de 0,25<sup>3</sup>; 0,5; 1; 1,5; 2; 3 e 6% do resíduo, além do controle, que neste estudo foram os materiais identificados como solo artificial tropical e solo natural sem adição dos resíduos.

Cada percentual correspondeu a uma concentração distinta de sódio, de acordo com as características do resíduo – em função do equipamento de recuperação do fluido. O Secador

<sup>3</sup> A dose de 0,25% corresponde a 2,5g do resíduo do Secador ou da Centrífuga, ou seja, para 1kg de mistura tem-se 2,5g do resíduo e 997,5g do material de solo.

por ser o primeiro equipamento de recuperação, retira a maior parte do fluido impregnado na rocha moída gerando um resíduo com características predominantes do tipo de rocha perfurada e menor teor de fluido. A Centrífuga, o segundo equipamento de recuperação, retira partículas menores que se encontram no fluido gerando resíduo com maior quantidade de fluido e, conseqüentemente, de seus constituintes. Sendo assim, o resíduo do Secador apresenta menor concentração de sódio quando comparado ao resíduo da Centrífuga, o que é corroborado pelos dados apresentados na Tabela 6.

### 3.5 Caracterização do Material de Solo

Para o desenvolvimento dos ensaios consideraram-se duas etapas distintas: a avaliação da ecotoxicidade intrínseca do resíduo e a avaliação da ecotoxicidade expressa no ambiente. Desta forma foi utilizado material que será identificado como solo artificial tropical e material de solo natural nos experimentos.

Na primeira etapa a padronização, visando mensurar os efeitos de substâncias químicas sobre os invertebrados edáficos, estabeleceu substratos ou solos artificiais. A proposta garante a reprodutibilidade dos ensaios, o que é interessante por vários pontos de vista (AVELLAR et al., 2010). O solo artificial, descrito no protocolo n.207 da OECD (1984), é composto de 10% de turfa de esfagno, 20% de caulim e 70% de areia fina totalmente misturados.

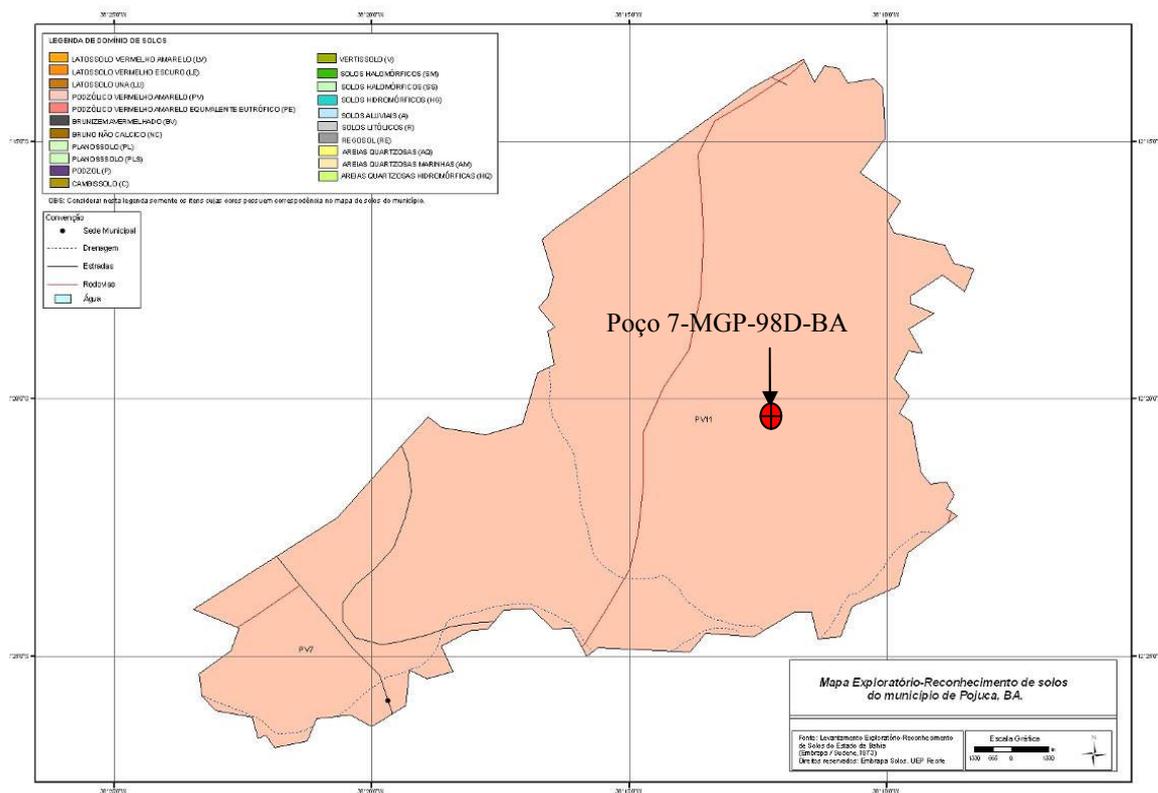
Em função da necessidade de substituição da turfa de esfagno por outro material, foi adaptado o substrato original, sendo assim identificado como solo artificial tropical (SAT), onde a fonte de matéria orgânica foi a fibra de coco. Esta nova composição é baseada nos trabalhos de Garcia (2004), e referenciada pela NBR ISO 15537 (ABNT, 2007). Neste estudo houve modificações no percentual de matéria orgânica (Tabela 9) que passou a ser de 5%, de forma a aproximar este material de solo da realidade dos solos brasileiros. O pH do substrato foi ajustado para o valor de  $6,0 \pm 0,5$ , com adição de  $\text{CaCO}_3$  quando necessário.

A areia, obtida na Embrapa Agrobiologia, foi passada em peneira para que mais de 50% das partículas estivessem com tamanho entre 0,05-0,2 mm, e submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar a  $105^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ , por 24 horas. A fibra de coco adquirida foi o substrato agrícola Golden Mix granulado T-80, da Amafibra, que por ser um material lavado, inerte, livre de agrotóxicos é adequado ao emprego em ensaios ecotoxicológicos. A fibra também foi seca em estufa de circulação forçada de ar a  $60^\circ\text{C}$ , sendo revolvida até completa secagem. Já o caulim usado foi o Caulim Branco 325, da Inducal, vendido em sacos de 25 kg de elevada pureza mineralógica.

**Tabela 9.** Composição do solo artificial tropical utilizado.

Fibra de coco	5%
Caulim	22,5%
Areia	72,5%

Por ocasião da coleta do resíduo, a classe de solo representativa da região foi identificada, em nível de ordem, e amostras foram analisadas quanto às características físicas e químicas do solo. Assim, na área próxima à locação, no município de Pojuca na Bahia, o solo foi identificado como Argissolo, que representa 84% dos solos encontrados nessa região (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa Exploratório – Reconhecimento de solos do Município de Pojuca, BA.  
 Fonte: Embrapa Solos UEP Recife, 2006

Em função da semelhança de atributos dos solos, foram coletadas no campo experimental da Embrapa Agrobiologia (Terraço), em Seropédica – RJ, amostras de terra referentes à camada superficial (20 cm) de Argissolo Vermelho-Amarelo, cujas caracterizações química e física estão descritas nas Tabela 10 e Tabela 11, respectivamente. As análises foram realizadas, respectivamente, no Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia e no Laboratório de Análise de Solos, Plantas e Resíduos da UFRRJ.

Previamente aos ensaios, as amostras de solo foram tamisadas em peneira com malha de 4 mm, acondicionadas em sacos plásticos bem vedados e levadas ao freezer. O solo passou por três ciclos de congelamento e descongelamento, de 48 horas cada, visando garantir a eliminação de organismos representantes de macro e mesofauna. Só então, o material foi preparado para o início dos ensaios, sendo misturadas as proporções de resíduos correspondentes a cada dose.

**Tabela 10.** Caracterização química do solo natural, Argissolo Vermelho-Amarelo, na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ.

Na	Ca	Mg	H+Al	Al	S	T	V	pH <sub>água</sub>	C-org	P	K	CE
cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>								%	g kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>	dS m <sup>-1</sup>	
0,03	1,82	0,81	3,07	0,05	2,73	5,80	47	5,40	6,5	2,15	29	0,025

CE = condutividade elétrica

**Tabela 11.** Composição granulométrica do solo natural, Argissolo Vermelho-Amarelo, na profundidade de 0-20 cm, coletado em Seropédica – RJ.

Argila Natural (g kg <sup>-1</sup> )	240
Argila Total (g kg <sup>-1</sup> )	370
Areia Total (g kg <sup>-1</sup> )	570
Areia Grossa (g kg <sup>-1</sup> )	390
Areia Fina (g kg <sup>-1</sup> )	180
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	70
Grau de Floculação (g kg <sup>-1</sup> )	350
SiBCS detalhada	argiloarenosa
SiBCS simplificada	argilosa

SiBCS = Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2013)

### 3.6 Ecotoxicologia Terrestre

Os ensaios, desenvolvidos no Laboratório de Fauna do Solo da Embrapa Agrobiologia em Seropédica – RJ, foram mantidos em condições específicas de temperatura (20°C ± 2°C), simulando fotoperíodo de 16:8h (luz:escuro), com umidade relativa do ar de 80% e umidade do material de 60% da capacidade de campo. O desenho experimental adotado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. Os ensaios de letalidade foram concomitantes com os ensaios de reprodução.

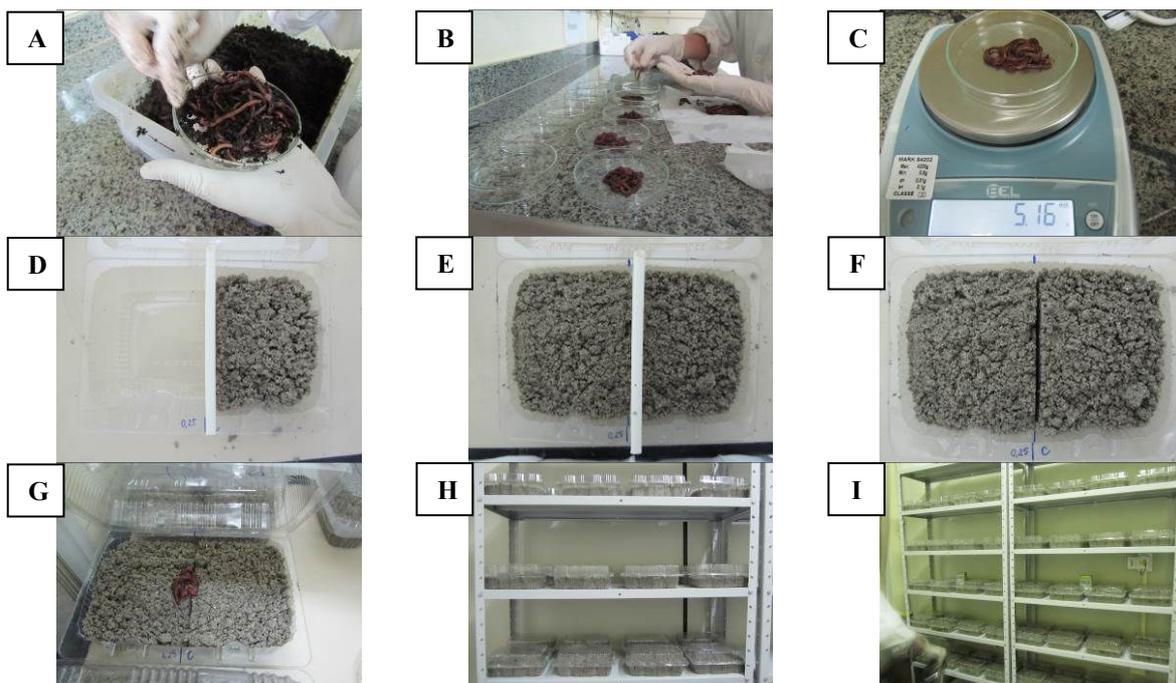
#### 3.6.1 Ensaios de fuga

Foram realizados os testes de fuga, com minhocas da espécie *Eisenia andrei*, baseados na norma ISO 17512-1 (2007) e na NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011). De modo a permitir a execução e atender às exigências do protocolo foi feita, em laboratório, cultura de minhocas de mesma espécie.

Os organismos adultos foram mantidos em esterco bovino orgânico curtido até que produzissem ovos que foram isolados para eclosão e obtenção dos juvenis sincronizados, ou seja, de indivíduos de mesma idade e estágio fisiológico, que serviram de organismos-teste ao atingirem a idade de dois meses, sendo utilizados até os 12 meses para ensaios padronizados.

As unidades experimentais foram constituídas de caixas plásticas (20 cm x 12 cm x 5 cm) que foram divididas em duas seções de igual tamanho por uma espátula plástica. Uma das seções foi preenchida com 500 g do solo artificial tropical (SAT) ou solo natural, e a outra com a mesma quantidade da mistura de SAT e resíduo, ou solo natural e resíduo. Finalizado o preenchimento, a espátula foi removida e 10 minhocas sincronizadas, com massa individual de 300-600 mg, foram colocadas sobre a linha divisória (Figura 3, esquema ampliado consta no Anexo C). O ensaio foi conduzido em ambiente climatizado por 48 horas. Após esse período, as caixas foram, novamente, divididas em duas seções, para registrar o número de minhocas em cada uma delas.

Este teste assume uma distribuição equitativa quando as duas seções da unidade experimental são preenchidas com o mesmo tipo de solo (HUND-RINKE & WIECHERING, 2001). Por isso deve-se incluir o tratamento controle com tais características (*dual test*) determinando desvios na distribuição cuja causa não seja a adição de resíduo. A norma assume que uma fuga de minhocas maior que 80% para o solo controle indica limitação da função de *habitat* e, conseqüentemente, que a substância testada pode impactar o ambiente. Assume também que se uma atração de 80% para o solo teste for observada, a presença da substância química não pode ser excluída, devendo o resultado ser analisado como um efeito.



**Figura 3.** Montagem dos ensaios de fuga com minhocas da espécie *Eisenia andrei*– unidades experimentais.

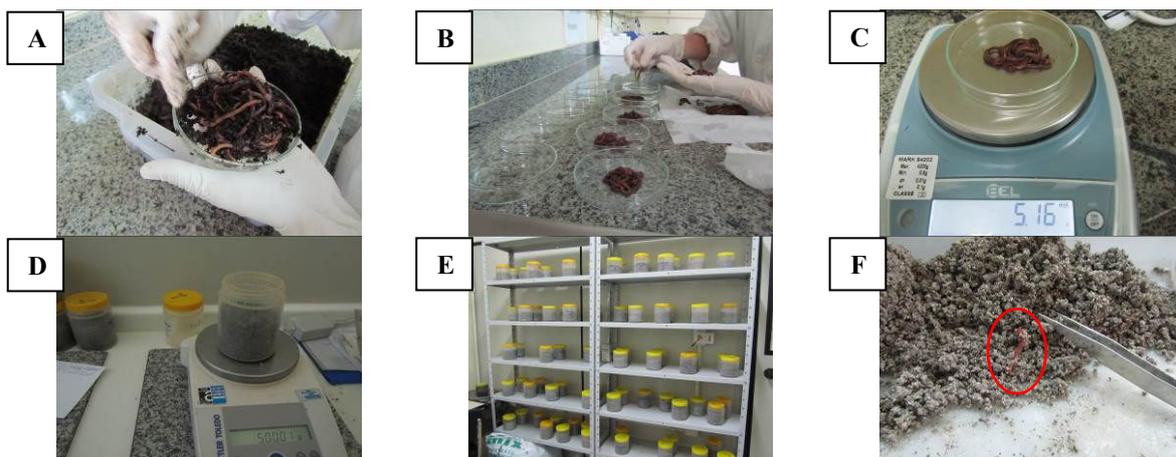
**A** – Obtenção de adultas cliteladas da colônia. **B** – Preparação para pesagem de 10 organismos/repetição, após lavagem. **C** – Pesagem. **D, E e F** – Preenchimento das unidades experimentais. **G** – Introdução dos organismos. **H e I** – Disposição das unidades experimentais na sala climatizada.

### 3.6.2 Ensaios crônicos

#### a. *Eisenia andrei*

Para os testes de reprodução com *Eisenia andrei* observaram-se as orientações da norma ISO 11268-2 (1993). Nesse ensaio, foram utilizados 10 indivíduos sincronizados, com clitelo<sup>4</sup> desenvolvido, idade superior a dois meses e massa individual variando entre 300-600 mg, por repetição. Alimentação (papa de aveia) foi fornecida no início do ensaio e a cada 15 dias. A unidade experimental consistiu de recipientes plásticos opacos com capacidade de 500 mL (potes do tipo usado para armazenar mel) com 500 g de material de solo (controle) ou mistura do material de solo e resíduo (Figura 4, esquema ampliado consta no Anexo D). Até o 28º dia do ensaio estes organismos adultos permaneceram nas unidades experimentais. Após esse período foram retirados restando apenas os casulos que permaneceram até o 56º dia do ensaio, quando foram contabilizados os juvenis. Quando a mortalidade não foi detectada avaliaram-se alterações de massa corporal a partir da comparação das médias de peso das minhocas vivas aos 28 dias com as médias iniciais das 10 minhocas incluídas, em cada réplica, no primeiro dia. Diariamente os pots eram abertos para renovação do ar (oxigenação).

<sup>4</sup> O clitelo é a porção diferenciada na extremidade frontal do corpo da minhoca que tem o papel essencial no processo reprodutivo. O casulo onde serão depositados os óvulos é formado pelas glândulas presentes no clitelo, além do muco para a cópula. Na maioria das milhares de espécies de minhocas, a seção em que aparece o clitelo se diferencia por uma dilatação do corpo. Seu aparecimento é a evidência da maturidade sexual das minhocas.



**Figura 4.** Montagem dos ensaios de reprodução com minhocas da espécie *Eisenia andreinae* unidades experimentais.

**A** – Obtenção de adultas cliteladas da colônia. **B** – Preparação para pesagem de 10 organismos/repetição, após lavagem. **C** – Pesagem. **D** – Preenchimento das unidades experimentais. **E** – Disposição das unidades experimentais na sala climatizada. **F** – Contagem de juvenis ao final do ensaio.

#### **b. *Enchytraeus crypticus***

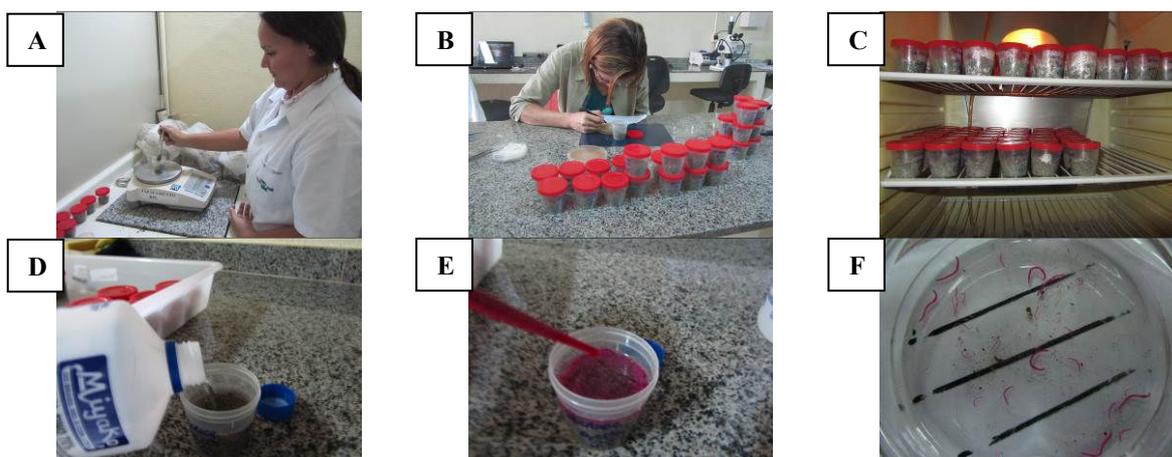
No teste de reprodução de *Enchytraeus crypticus* foram adotados os procedimentos descritos na norma ISO 16387 (2003) e na NBR ISO 16387 (2012), onde 10 indivíduos com clitelo desenvolvido foram colocados em unidades experimentais que consistiram de frascos com tampa rosqueável e capacidade de 80 mL, com o equivalente a 20 g de solo seco por repetição (Figura 5, esquema ampliado consta no Anexo E). Em B.O.D. a duração do experimento foi de três semanas para o SAT (21 dias)<sup>5</sup> e quatro semanas para o solo natural (28 dias). A alimentação (farinha de aveia) foi fornecida ao início do ensaio e a cada duas semanas em pequeníssimas quantidades, semanalmente, a umidade do solo foi ajustada com água destilada em volume calculado através das diferenças na pesagem do frasco. Ao final do ensaio adicionaram-se em cada frasco álcool 70%, em volume suficiente para a cobertura do material, e cinco gotas do corante rosa de bengala 1% em etanol, o material ficou em repouso por 24 horas para garantir que todos os organismos fossem corados. Após isso, cada réplica foi lavada em peneira de 100 mm e os enquitreídeos – corados e visíveis a olho nu – foram transferidos para placa de Petri e contados em lupa.

#### **c. *Folsomia candida***

O teste de inibição da reprodução de *Folsomia candida*, seguiu o descrito na norma ISO 11267 (1998) e na NBR ISO 11267 (ABNT, 2011), e consistiu em expor indivíduos juvenis à mistura de resíduos e comparar a sua taxa de reprodução com a de organismos colocados em solo-referência. Para o ensaio houve a sincronização dos organismos da colônia para obtenção dos juvenis, que consistiu na renovação do meio de cultura para estimular a postura de ovos, que foram isolados e observados continuamente para determinação da eclosão e obtenção de organismos com idade entre 10-12 dias. Em cada unidade experimental – que consistiram de frascos transparentes de tampa rosqueável e capacidade de 80 mL

<sup>5</sup> De acordo com recomendações constantes na própria norma brasileira (ABNT, 2012), quando o organismo-teste usado for o *Enchytraeus crypticus* o período de ensaio pode ser mais curto que 6 semanas. Nos ensaios em solo natural a duração seguiu o descrito na norma e foi de 28 dias. Já no ensaio em SAT a duração foi de 21 dias, conforme os estudos de Niva et al. (2011) e Stacechen et al. (2013) para evitar excessiva reprodução que dificulta a avaliação da letalidade dos adultos. (Fato este observado em ensaio anterior em SAT e com duração de 28 dias, que precisou ser descartado.)

contendo 30 g (peso úmido) de material de solo ou material de solo com resíduo – foram introduzidos 10 indivíduos, com idade de 10-12 dias. Os ensaios foram mantidos em B.O.D.; no início, e a cada 15 dias foi adicionada levedura granulada seca para alimentação. Semanalmente, a umidade do solo foi ajustada com água destilada em volume calculado através das diferenças na pesagem do frasco. Ao final dos 28 dias o conteúdo de cada unidade experimental foi passado para um recipiente plástico cilíndrico (5,5 cm de altura x 6,5 cm de diâmetro), onde foi adicionada água e três gotas de tinta, favorecendo a visualização. Após agitação do material os adultos vivos retirados do meio – pelo método da flotação – foram contabilizados. Para contagem de juvenis cada unidade experimental foi fotografada com a câmera Nikon Coolpix S4300 (Lens-shift VR, Nikkor 6x Wide Optical Zoom VR, 16.0 Megapixels) para quantificação no programa de computação Image Tool 3.0 for Windows.



**Figura 5.** Montagem dos ensaios de reprodução com enquitreídeos nas unidades experimentais.

**A** – Preenchimento das unidades experimentais. **B** - Obtenção de adultos clitelados da colônia e introdução dos organismos. **C** – Disposição das unidades experimentais na BOD. **D e E** – Organismos sendo conservados corados ao final do ensaio. **F** – Organismos prontos para avaliação final em lupa

### 3.6.3 Germinação de sementes e crescimento de plantas

Por ser o ensaio adequado para determinar a toxicidade de uma gama de materiais tanto em solo natural quanto artificial (Environment Canada, 2005), foram montados –em casa de vegetação –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 o inteiramente casualizado com cinco repetições. O ensaio seguiu o padrão OECD – Guideline 208: *Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test* (2006).

Foram usadas duas espécies, sendo uma mono e outra dicotiledônea, submetidas às mesmas concentrações químicas anteriormente testadas para comparação com o controle (testemunha). Foram elas o milho (*Zea mays*), da variedade Eldorado, e o feijão caupi (*Vigna unguiculata*) cultivar BR17-Gurguéia sem inoculação. Adicionaram-se três sementes por repetição. Ao final do período, foi avaliado o número de plantas emergentes (percentual de germinação), a altura da parte aérea, as massas secas e frescas de raízes e parte aérea, que tiveram suas médias comparadas com o controle, bem como a análise química do tecido vegetal, além do estudo qualitativo (atividade baseada na coloração) dos nódulos encontrados na leguminosa. Durante o teste apenas água foi adicionada de forma a manter o solo úmido.

A análise química do tecido vegetal foi feita pela combustão seca e Análise Elementar (CHNS/O da Leco), que se baseia na oxidação das amostras a temperaturas elevadas. Para isso, o tecido vegetal – diferenciado em parte aérea e raízes – foi seco em estufa de circulação forçada a 60°C até atingir massa constante, para posterior moagem. As amostras foram então

pesadas (aproximadamente 0,20 g) e colocadas em cápsulas de estanho. Após combustão total, os gases isolados em coluna cromatográfica foram detectados por um sensor, quegerou um sinal elétrico convertido em teores percentuais dos elementos (SATO, 2013).

Para o estudo qualitativo da nodulação foram destacados os nódulos das raízes facilitando a contagem; a classificação quanto à atividade, elencados em ativos e inativos respectivamente, pela presença ou ausência de colorações vinho/vermelha; e a determinação da massa seca de nódulos, após serem secos em estufa a 60°C até massa constante. Apesar de não existir protocolo em ecotoxicologia que trate dessa avaliação, a mesma é ecologicamente relevante pela atuação das bactérias fixadoras no ciclo biogeoquímico do nitrogênio.

### 3.7 Análise dos Dados

Foram determinados os seguintes parâmetros ecotoxicológicos:

- CENO (maior concentração de efeito não observado), que representa a dose máxima de um composto químico em que não se observaram efeitos;
- CEO (menor concentração de efeito observado), que representa a menor dose em que se observaram efeitos;
- CL<sub>x</sub> (concentração letal onde X% dos indivíduos morrem);e
- CE<sub>x</sub> (concentração efetiva em que X% dos organismos apresentaram padrão de fuga, redução de crescimento ou reprodução).

#### 3.7.1 Ensaio de fuga

Os resultados foram analisados pelo teste exato de Fisher (ZAR, 1996), que permite comparar a distribuição dos animais, em relação a uma distribuição esperada, assumindo-se a não existência de comportamento de fuga de um determinado tipo de solo. E pela obtenção do percentual de fuga, onde o valor de *A* positivo indica a fuga, enquanto o valor negativo indica a atração ou preferência pelo xenobiótico avaliado. O percentual é obtido pela equação:

$$A = [(C-T)/N] \times 100$$

Sendo, C = soma de minhocas observadas no controle

T = soma de minhocas observadas no solo tratado

N= total de minhocas por repetição

Tais percentuais permitiram a obtenção das CEs<sub>fuga</sub>, para o processamento destes dados foi usado o programa PriProbit 1.63 (SAKUMA, 1998).

#### 3.7.2 Ensaios crônicos

Os valores de reprodução, ou outra resposta fisiológica dos organismos, foram usados para obtenção das concentrações efetivas que inibem tal capacidade. No ensaio de plantas, os valores de massa fresca e seca de parte aérea e raiz, e de altura de parte aérea das duas culturas, foram considerados na obtenção da CE<sub>x</sub>.

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) com análise estatística da homogeneidade (Cochran e Bartlett) e normalidade (Lilliefors) dos resultados. Com a distribuição normal e homogênea dos dados, seguiu-se para a comparação múltipla pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ), ou teste LSD ( $p \leq 0,05$ , atividade de nódulos), para obtenção dos valores de CEO e CENO com as ferramentas contidas no programa STATISTICA, versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004). Para determinação das CEs que levam a inibição de determinada característica fisiológica o mesmo pacote estatístico foi utilizado, porém a determinação se deu pelo uso de equações de regressão não lineares específicas.

### **3.7.3 Ensaaios agudos**

A avaliação dos testes de letalidade baseou-se na obtenção das concentrações letais (CLs) para os organismos testados a partir da mortalidade encontrada. Para o ensaio com plantas o número de sementes germinadas permitiu os cálculos. Foi usado o programa Probit 1.63 (SAKUMA, 1998) para análise dos resultados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ensaios de Fuga

Tanto nos ensaios de toxicidade intrínseca (SAT) quanto nos de toxicidade expressa (solo natural) não foram verificadas, após as 48 horas de duração, para ambos os resíduos, mortalidades superiores a 10%. Além disso, a distribuição das minhocas no controle absoluto (*dual test*) foi – para o resíduo do Secador – de 58%:42%, e para o resíduo da Centrífuga de 50%:50%, em SAT. E de 46%:54% (Secador); 48%:50% (Centrífuga) no solo natural, obedecendo aos critérios de validação do teste (ISO, 2007).

A norma ISO prevê que, em se tratando de um solo teste e um solo controle com mesmas características principais diferindo apenas pela presença do contaminante, deve-se avaliar o efeito de fuga pela análise estatística. No entanto, baseado em estudos de Owojori & Reinecke (2009), não se desconsiderou que uma fuga para o controle de 80% indica o comprometimento das funções de *habitat*, podendo-se comparar as respostas que cada abordagem oferece.

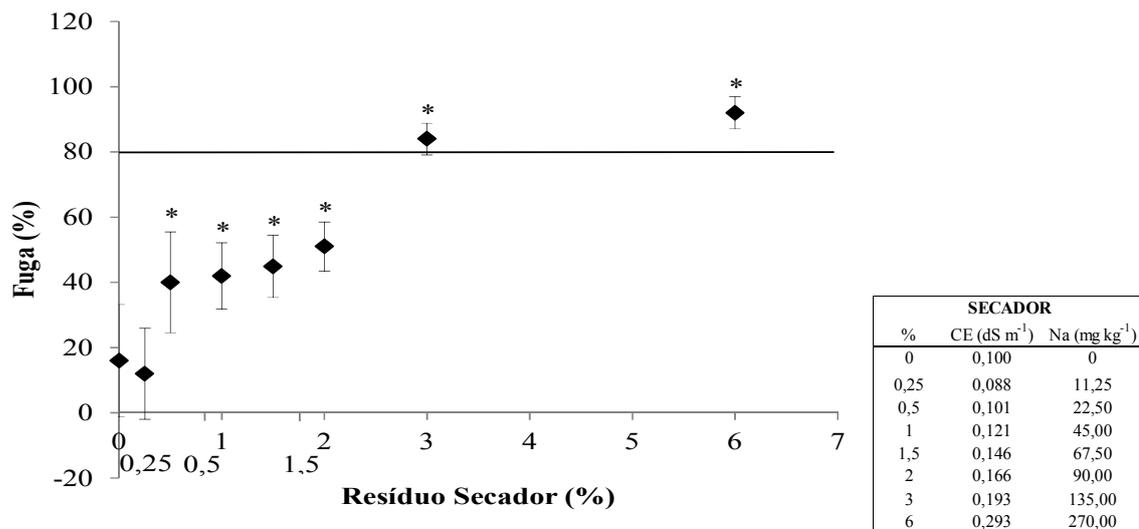
Os percentuais de fuga encontrados para cada dose, em ambos os resíduos, são detalhados na Figura 6 e na Figura 7 para o SAT, e na Figura 8 e na Figura 9 para solo natural. O comportamento de fuga, independente do tratamento e do material de solo empregado, foi semelhante.

Os percentuais de fuga foram estatisticamente significativos, independente dos resíduos e materiais de solo, a partir da dose de 0,5%, indicando potencial tóxico dos resíduos de perfuração, isto é, a aplicação de pequenas doses dos resíduos já leva ao comprometimento das funções de *habitat* do solo. Com o ambiente inóspito os organismos evitam o local havendo alteração na estrutura da comunidade edáfica e a perda das funções de decomposição e biopedoturbação exercidas pelas minhocas, afetando tanto a cadeia trófica quanto a oferta de serviços ecossistêmicos naquele local.

No SAT o resíduo do Secador atingiu níveis de fuga superiores a 80% somente na dose de 3%, enquanto o da Centrífuga na dose de 2%; apenas este último resíduo promoveu 100% de fuga na maior dosagem. Em solo natural, o resíduo do Secador atingiu estes níveis em três momentos: nas doses de 1,5%, 3% e 6%, todas com 100% de fuga, e o resíduo da Centrífuga apenas na dose 6%, com 90% de fuga.

De acordo com Owojori & Reinecke (2009), o critério de efeito acima de 80% de fuga para *Eisenia fetida* é obtido em valores de concentração salina de 2000 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl em solo artificial, e CE 1,03 dS m<sup>-1</sup> em solo natural salino. Quando os dados foram analisados pelo teste *t* esses valores decresceram para 500 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl e 0,52 dS m<sup>-1</sup>. Bianchi (2013) avaliando a toxicidade de dois resíduos da mineração de bauxita (In Natura e Filtrado – para redução de sódio), em SAT com 5% de matéria orgânica, obteve valor de fuga significativo e maior que 80% em doses similares aos dos autores supracitados. No entanto, o comportamento de fuga, para este trabalho, foi expresso em valores bem abaixo das citações anteriores, independente do solo utilizado nos ensaios.

Estatisticamente, concentrações de sódio a partir de 22,50 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (0,10 dS m<sup>-1</sup>) para o resíduo do Secador e 40,84 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (0,15 dS m<sup>-1</sup>) para o resíduo da Centrífuga promovem alterações no *habitat* que levam a fuga dos organismos para o solo controle. Considerando apenas o critério de efeito de 80% de fuga, tais valores crescem para 135 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (0,19 dS m<sup>-1</sup>) e 122,5 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (0,23 dS m<sup>-1</sup>), respectivamente (Figura 6 e Figura 7).



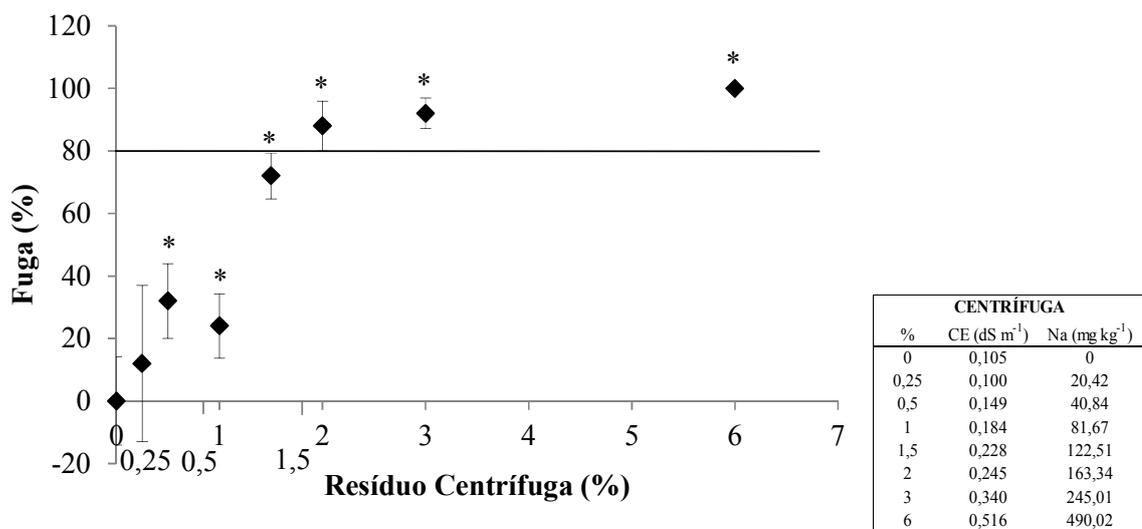
**Figura 6.** Percentual de fuga de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical, com 5% de matéria orgânica, após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Estatisticamente significativo pelo teste Exato de Fisher ( $p \leq 0,05$ ).

Linha pontilhada indica onde houve fuga de minhocas para o solo controle em até 80%.

O quadro relaciona doses em percentual, teor de sódio e condutividade elétrica aferida no início do ensaio.



**Figura 7.** Percentual de fuga de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical, com 5% de matéria orgânica, após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Estatisticamente significativo pelo teste Exato de Fisher ( $p \leq 0,05$ ).

Linha pontilhada indica onde houve fuga de minhocas para o solo controle em até 80%.

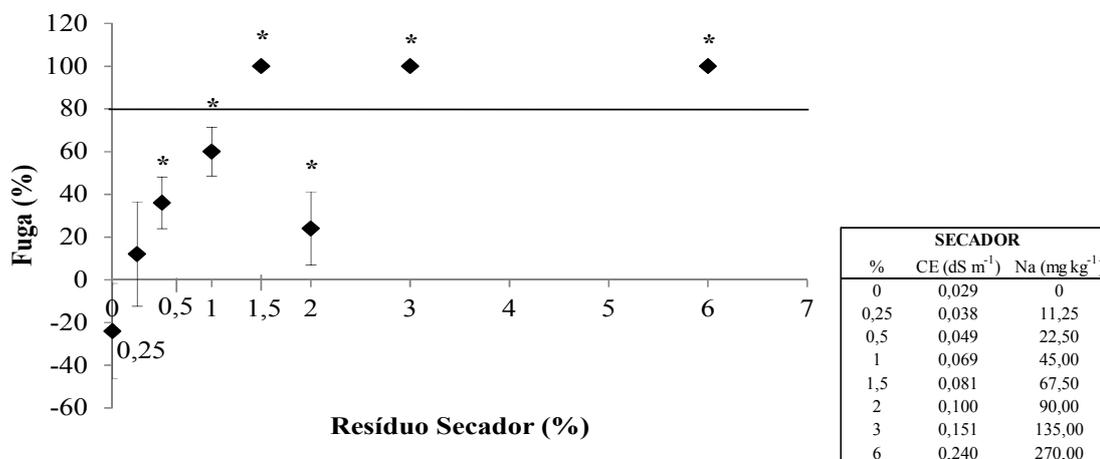
O quadro relaciona doses em percentual, teor de sódio e condutividade elétrica aferida no início do ensaio.

Em solo natural, em valores de condutividade elétrica de 0,05 (22,50 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> desolo) e 0,06 dS m<sup>-1</sup> (40,84 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> desolo), para os resíduos do Secador e da Centrífuga, respectivamente, já houve fuga. Pelo critério dos 80%, condutividades de 0,08 dS m<sup>-1</sup> (67,50 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo) para o resíduo do Secador e 0,40 dS m<sup>-1</sup> (490 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> desolo) para o da Centrífuga, já são suficientes para causar efeito (Figura 8 e Figura 9).

Os dados foram corroborados por Machado (2012), que avaliando resíduos de mesma natureza e o próprio cloreto de sódio, em solo natural, encontrou fuga significativa e maior que 80% em doses de 127,70 mg kg<sup>-1</sup> NaCl. Quando analisados os resíduos do Secador (127,70; 1277 e 2554 mg kg<sup>-1</sup> NaCl) e da Centrifuga (37,30; 373,40 e 746,80 mg kg<sup>-1</sup> NaCl) a fuga foi estatisticamente significativa em todas as doses, porém o critério dos 80% foi alcançado com doses de 1277 mg kg<sup>-1</sup> NaCl e 746,80 mg kg<sup>-1</sup> NaCl, respectivamente.

Isso pode estar relacionado às diferenças intrínsecas ao solo e da composição dos materiais testados, já que Owojori & Reinecke (2009) utilizaram solo artificial com 10% de matéria orgânica e cloreto de sódio puro. Enquanto Bianchi (2013), que utilizou o mesmo tipo de SAT deste trabalho, avaliou resíduos cujos pontos críticos – de acordo com a caracterização química e quando comparado aos resíduos de perfuração – eram apenas a salinidade e alcalinidade.

Por tratar-se de uma mistura heterogênea, os resíduos de perfuração possuem diversos elementos potencialmente estressores (conforme Tabela 6), requerendo uma análise diferenciada, uma vez que há efeitos aditivos. Ou seja, não se pode descartar a ação e a presença de outros componentes, mesmo que não tenham sido analisados. Owojori et al. (2008; 2009a), analisaram os efeitos combinados da salinidade (NaCl puro) e zinco (cloreto de zinco) ou cobre (oxicloreto de cobre) em *Eisenia fetida* e detectaram que em combinação os efeitos foram agravados quando comparados à exposição das minhocas a apenas uma das substâncias; ainda que os efeitos da salinidade sobre a toxicidade do cobre foram aditivos e dependentes da concentração de ambas as substâncias.



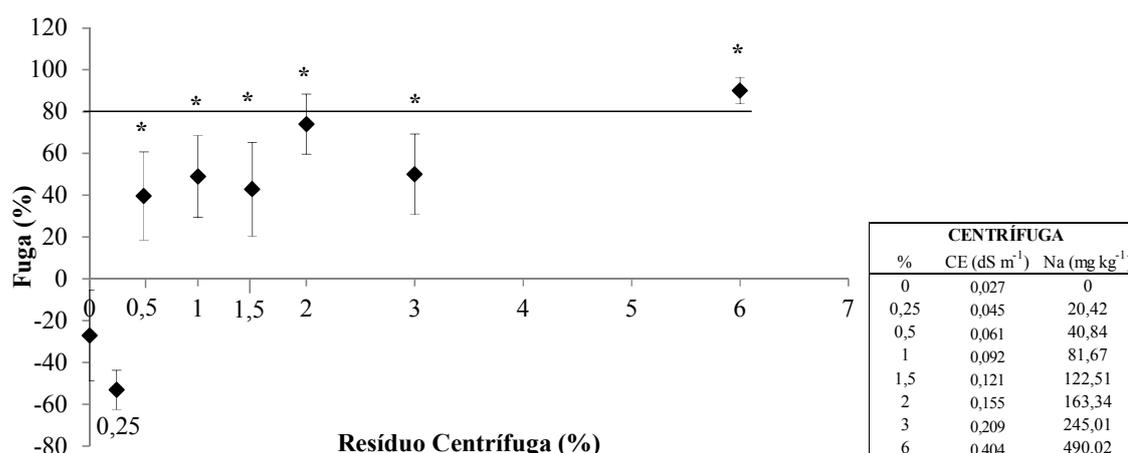
**Figura 8.** Percentual de fuga de *Eisenia andrei* em solo natural após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Estatisticamente significativo pelo teste Exato de Fisher ( $p \leq 0,05$ ).

Linha pontilhada indica onde houve fuga de minhocas para o solo controle em até 80%.

O quadro relaciona a dose em percentual, teor de sódio e condutividade elétrica aferida no início do ensaio.



**Figura 9.** Percentual de fuga de *Eisenia andrei* em solo natural após 48h de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Estatisticamente significativo pelo teste Exato de Fisher ( $p \leq 0,05$ ).

Linha pontilhada indica onde houve fuga de minhocas para o solo controle em até 80%.

O quadro relaciona a dose em percentual, teor de sódio e condutividade elétrica aferida no início do ensaio.

A partir dos resultados foi estimada a concentração responsável por promover a fuga (repelência) de 20 e 50% da população de minhocas. Concentrações essas expressas na Tabela 12(SAT) e Tabela 13 (solo natural).

**Tabela 12.** Concentração efetiva ( $CE_x$ ) dos resíduos de perfuração oriundos do Secador e da Centrífuga que leva a fuga de 20% e 50% de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Dose	Secador		Centrífuga	
	$CE_{20 \text{ fuga}}$	$CE_{50 \text{ fuga}}$	$CE_{20 \text{ fuga}}$	$CE_{50 \text{ fuga}}$
Percentual	0,36 (0,08-0,64)	1,19 (0,69-1,97)	0,44 (0,14-0,70)	0,93 (0,53-1,43)
Condutividade Elétrica (dS m <sup>-1</sup> )	0,09 (0,05-0,11)	0,14 (0,11-0,17)	0,13 (0,08-0,16)	0,18 (0,15-0,22)
Sódio (mg kg <sup>-1</sup> )	16,35 (3,84-29,01)	53,77 (30,89-88,70)	35,61 (11,32-57,10)	75,89 (43,60-117,14)

Valores entre parênteses indicam intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

**Tabela 13.** Concentração efetiva ( $CE_x$ ) dos resíduos de perfuração oriundos do Secador e da Centrífuga que leva a fuga de 20% e 50% de *Eisenia andrei* em solo natural.

Dose	Secador		Centrífuga	
	$CE_{20 \text{ fuga}}$	$CE_{50 \text{ fuga}}$	$CE_{20 \text{ fuga}}$	$CE_{50 \text{ fuga}}$
Percentual	0,33	0,84	0,42 (0,006-0,89)	1,38 (0,48-3,88)
Condutividade Elétrica (dS m <sup>-1</sup> )	0,04	0,07 (0,02-0,32)	0,05	0,12 (0,06-0,28)
Sódio (mg kg <sup>-1</sup> )	14,70	37,95	34,05 (0,52-72,40)	112,88 (39,36-316,94)

Valores entre parênteses indicam intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Tomando-se apenas os valores de  $CE_{20 \text{ fuga}}$  obtidos para o SAT, o resíduo do Secador foi, levemente, mais repelente que o da Centrífuga, apesar disso conforme a dosagem se eleva os papéis se invertem sendo a ação repelente do resíduo da Centrífuga mais pronunciada, conforme  $CE_{50 \text{ fuga}}$  – equivalente a uma concentração de 75,89 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (Tabela 12). Quando em solo natural a resposta de  $CE_{20 \text{ fuga}}$  é similar, sendo o resíduo do

Secador mais repelente, entretanto, com o incremento de doses uma resposta inversa aparece, continuando a ser o resíduo mais repelente o do Secador (Tabela 13).

Machado (2012) não determinou as concentrações efetivas que promoveram fuga de percentuais da população, porém Owojori & Reinecke (2009) e Bianchi (2013) observaram, respectivamente, valores para  $CE_{50 \text{ fuga}}$  de 1164 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl; 2093 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (In Natura) e 1949 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (Filtrado). Ainda Bianchi (2013) obteve valores de condutividade elétrica para 20% e 50% de fuga, respectivamente, de 0,35 e 0,42 dS m<sup>-1</sup> para In Natura e de 0,44 e 0,47 dS m<sup>-1</sup> para Filtrado.

Novamente os valores deste estudo encontram-se abaixo dos referenciados, sendo de 0,09 e 0,14 dS m<sup>-1</sup> para 20 e 50% de fuga, respectivamente, para o resíduo do Secador; e 0,13 e 0,18 dS m<sup>-1</sup> para o da Centrífuga em SAT; em solo natural de 0,04 e 0,07 dS m<sup>-1</sup> para 20 e 50% de fuga, respectivamente, para o resíduo do Secador; e 0,05 e 0,12 dS m<sup>-1</sup> para 20 e 50% de fuga, respectivamente, para o da Centrífuga. Infere-se então que os resíduos de perfuração apresentam maior toxicidade quando comparados aos demais registrados na literatura, afinal pequenas dosagens causam os mesmos efeitos, o que se deve a sua natureza complexa em que vários componentes atuam sinérgica ou antagonicamente potencializando os efeitos tóxicos.

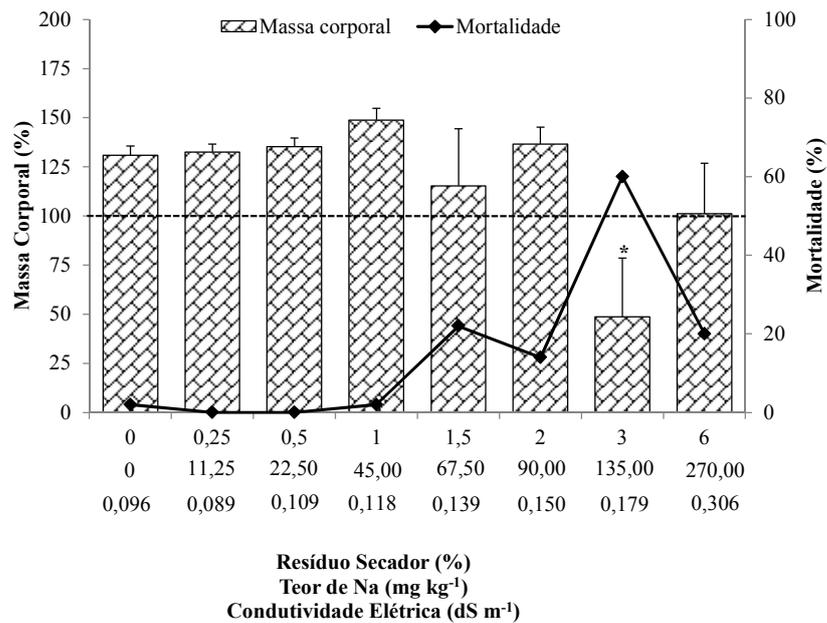
Ainda, a dose que leva a uma fuga estatisticamente significativa, independente do solo e dos resíduos, é a mesma. Comparativamente, concentrações de NaCl e condutividade elétrica menores atendem ao critério do percentual de fuga (80%) para o resíduo do Secador em solo natural, e o inverso para o resíduo da Centrífuga. As concentrações efetivas que causam 20% de fuga, em percentual e teor de sódio, são próximas para os dois materiais de solo e resíduos. Mas as  $CE_{50 \text{ fuga}}$  se diferem, sendo maiores no SAT para o Secador, e em solo natural para a Centrífuga; as condutividades associadas às CEs são menores no solo natural para ambos os resíduos. Já as concentrações de NaCl que promovem 50% de fuga são menores para o resíduo do Secador e maiores para o da Centrífuga em solo natural. Os efeitos observados em menores escalas de condutividade elétrica podem ser explicados pela condutividade inicial do solo controle, que para o solo natural foi de 0,03 dS m<sup>-1</sup>, enquanto para o SAT foi de 0,10 dS m<sup>-1</sup>.

## 4.2 Ensaios Crônicos

### 4.2.1 *Eisenia andrei*

Em nenhum dos ensaios – solo artificial tropical e natural – foi verificada mortalidade superior a 10% no tratamento controle ao final dos 28 dias de exposição das minhocas, tampouco houve um coeficiente de variação (CV) >30%. Nenhuma das doses testadas, para ambos os resíduos – independente do material de solo, promoveu mortalidade total. Sendo assim, se avaliou também a variação de massa corporal dos organismos teste.

Nos ensaios em SAT não foram observadas reduções de massa corporal (Figura 10 e Figura 11), exceto para a dose de 3% do resíduo do Secador que diferiu estatisticamente do controle sem, no entanto, representar a CEO. Nesta dose a variabilidade da massa corporal dos animais foi extremamente influenciada pelo percentual de mortalidade, que atingiu 60%. O baixo número de minhocas sobreviventes deu a falsa impressão de perda de massa corporal quando na verdade os valores médios das repetições é que foram mais baixos. Para nenhum resíduo foi possível estabelecer CEO e CENO para variação de massa corporal.

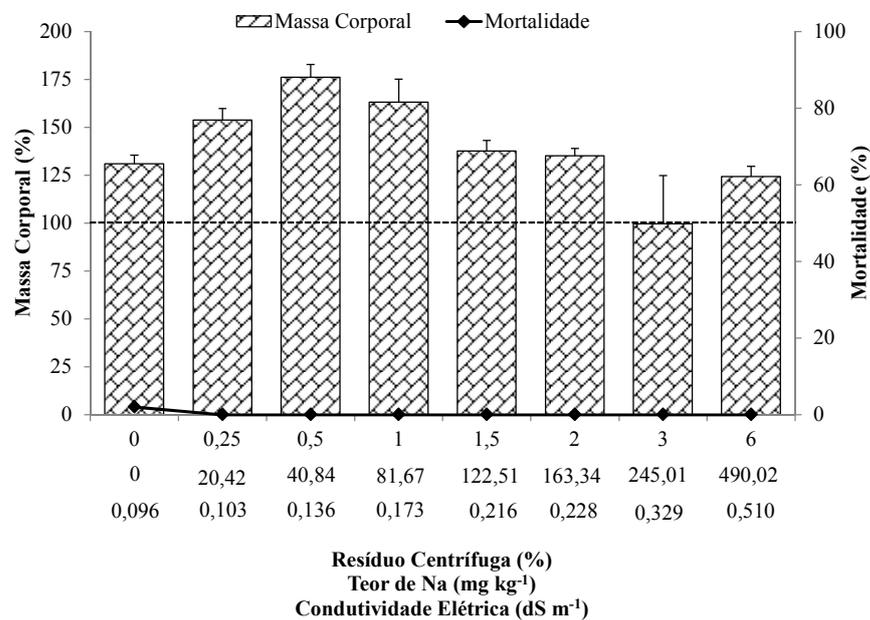


**Figura 10.** Variação de massa corporal de *Eisenia andrei*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

Linha pontilhada representa massa corporal inicial, considerada 100%.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 11.** Variação de massa corporal de *Eisenia andrei*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrifuga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

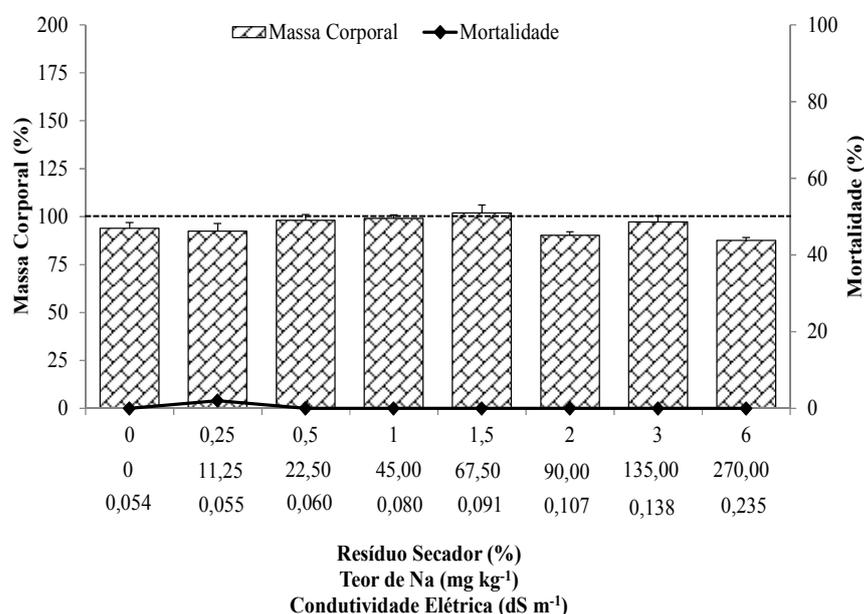
Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

Linha pontilhada representa massa corporal inicial, considerada 100%.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Já para os ensaios em solo natural, reduções de massa corporal só foram observadas a partir da dose de 2% do resíduo da Centrifuga, diferindo significativamente do controle

(Figura 13). Assim, a CEO é igual a 2% e a CENO a 1,5%. A CEO equivale a concentrações de sódio de 163,34 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo.



**Figura 12.** Variação de massa corporal de *Eisenia andrei*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

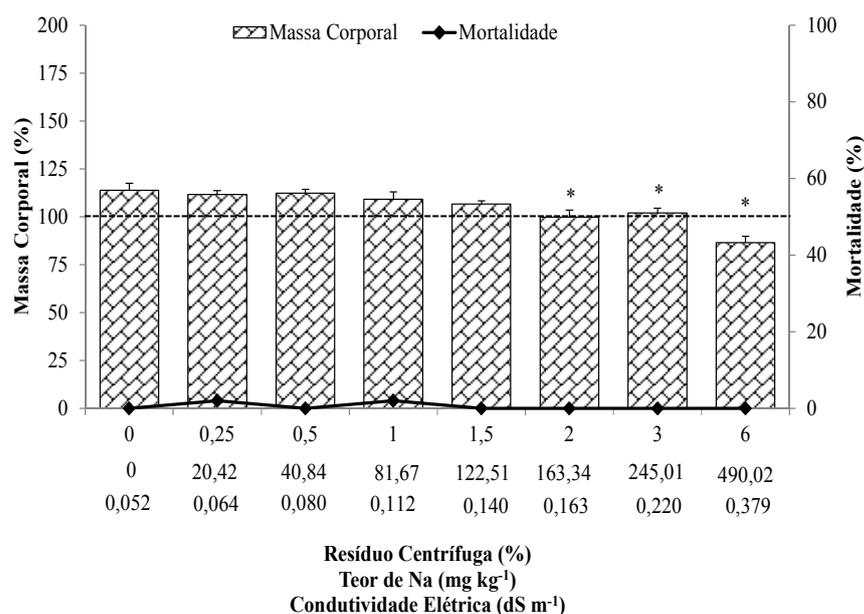
Linha pontilhada representa massa corporal inicial, considerada 100%.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Machado (2012), avaliando resíduos de perfuração de poços de petróleo, verificou perda de massa corporal a partir da segunda dose do resíduo do Secador (383,10 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl) e da primeira para o da Centrífuga (37,30 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl), mas não estabeleceu as concentrações efetivas. Também não detectou concentrações letais, pois não houve mortalidade.

Já Bianchi (2013) encontrou CL<sub>50</sub> de 3119 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (In Natura) e de 3619 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (Filtrado), valores estes abaixo dos observados por Owojori & Reinecke (2009) e por Guzyte et al. (2011) que foram de 5436 mg kg<sup>-1</sup> e 5623 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl, respectivamente. Tais valores equivalem a condutividades elétricas de 0,57 dS m<sup>-1</sup> (In Natura) e 0,82 dS m<sup>-1</sup> (Filtrado).

Dos ensaios em SAT as concentrações letais só puderam ser estimadas para o resíduo do Secador, uma vez que a série de dados do resíduo da Centrífuga não promoveu mortalidade, o que está de acordo com os estudos de Machado (2012). Conforme mostrado na Tabela 14, pela inconstância dos dados tanto CL<sub>50</sub> quanto CE<sub>50</sub> cresc do resíduo do Secador, estão superestimados para um percentual acima da maior dose testada. O que pode estar relacionado com a mortalidade extrema de minhocas ocorrida na dose de 3% do resíduo do Secador em SAT que, conforme observado na coleta de dados do experimento, se deu por oxigenação inadequada do ambiente ou outro fator que não apenas a presença do resíduo. Já que em doses anteriores e posteriores os efeitos de mortalidade foram menores, e a redução de peso corporal inexistente; nenhum dos parâmetros ecotoxicológicos de crescimento pode ser determinado para o resíduo da Centrífuga.



**Figura 13.** Variação de massa corporal de *Eisenia andrei*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

Linha pontilhada representa massa corporal inicial, considerada 100%.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

A  $CL_{50}$  foi de 7,32% do resíduo, 0,36  $dS m^{-1}$  ou 329,40  $mg$  de  $NaCl kg^{-1}$  de SAT, ou seja, os efeitos de mortalidade das minhocas ocorreram bem abaixo daqueles que constituem o banco de dados sobre os efeitos da salinidade. A  $CE_{50\text{ cresc}}$  foi de 7,55% equivalendo a uma condutividade elétrica de 0,14  $dS m^{-1}$  e 339,75  $mg$  de  $NaCl kg^{-1}$  de SAT enquanto a  $CE_{20\text{ cresc}}$  foi de 3,02%, equivalendo 0,05  $dS m^{-1}$  e 135,90  $mg$  de  $NaCl kg^{-1}$  de SAT.

**Tabela 14.** Concentrações efetivas ( $CE_x$ ) e letais ( $CL_x$ ) dos resíduos do Secador e da Centrífuga que levam a redução do crescimento e a mortalidade de 20% e 50% de *Eisenia andrei*, em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

	Percentual	Condutividade Elétrica ( $dS m^{-1}$ )	Sódio ( $mg kg^{-1}$ )
Secador			
$CE_{20\text{ cresc}}$	3,02 (0,68-5,36)	0,05 (0,04-0,07)	135,90
$CE_{50\text{ cresc}}$	7,55 (1,72-13,39)	0,14 (0,11-0,16)	339,75
$CL_{20}$	2,15	0,17	96,75
$CL_{50}$	7,32	0,36	329,40
Centrífuga			
$CE_{20\text{ cresc}}$	ND	ND	ND
$CE_{50\text{ cresc}}$	ND	ND	ND
$CL_{20}$	ND	ND	ND
$CL_{50}$	ND	ND	ND

ND = não definido.

Valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Pelo descrito na Tabela 15, os ensaios em solo natural não permitiram a detecção das concentrações letais, independente do resíduo considerado. Concentrações efetivas só puderam ser obtidas para o resíduo da Centrífuga, uma vez que não houve efeito de redução do crescimento detectável para o Secador. Assim, as  $CE_{20\text{ cresc}}$  e  $CE_{50\text{ cresc}}$  foram de,

respectivamente, 5,05 e 12,62% do resíduo. Em termos de condutividade elétrica os valores foram de 0,29 e 0,72 dS m<sup>-1</sup>; concentração salina de 412,43 e 1030,67 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo para 20 e 50% de redução, respectivamente. Este resultado indicou que doses além da máxima estudada seriam necessárias para promover a redução de 50%.

Valores de referência sobre a CE<sub>50 cresc</sub> são encontrados, todavia os obtidos durante o desenvolvimento do trabalho sempre estão abaixo dos limites descritos: 4681 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (BRIGHT & ADDISON, 2002), 4985 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (OWOJORI et al., 2008), 3586 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (OWOJORI et al., 2009a), 2512 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (GUZYTE et al., 2011), 3715 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (In Natura) e 3794 mg kg<sup>-1</sup> de NaCl (Filtrado) (BIANCHI, 2013).

**Tabela 15.** Concentrações efetivas (CE<sub>x</sub>) e letais (CL<sub>x</sub>) dos resíduos do Secador e da Centrífuga que levam a redução do crescimento e a mortalidade de 20% e 50% de *Eisenia andrei*, em solo natural.

	Percentual	Condutividade Elétrica (dS m <sup>-1</sup> )	Sódio (mg kg <sup>-1</sup> )
Secador			
CE <sub>20 cresc</sub>	ND	ND	ND
CE <sub>50 cresc</sub>	ND	ND	ND
CL <sub>20</sub>	ND	ND	ND
CL <sub>50</sub>	ND	ND	ND
Centrífuga			
CE <sub>20 cresc</sub>	5,05 (3,89-6,20)	0,29 (0,22-0,35)	412,43
CE <sub>50 cresc</sub>	12,62 (9,73-15,51)	0,72 (0,56-0,87)	1030,67
CL <sub>20</sub>	ND	ND	ND
CL <sub>50</sub>	ND	ND	ND

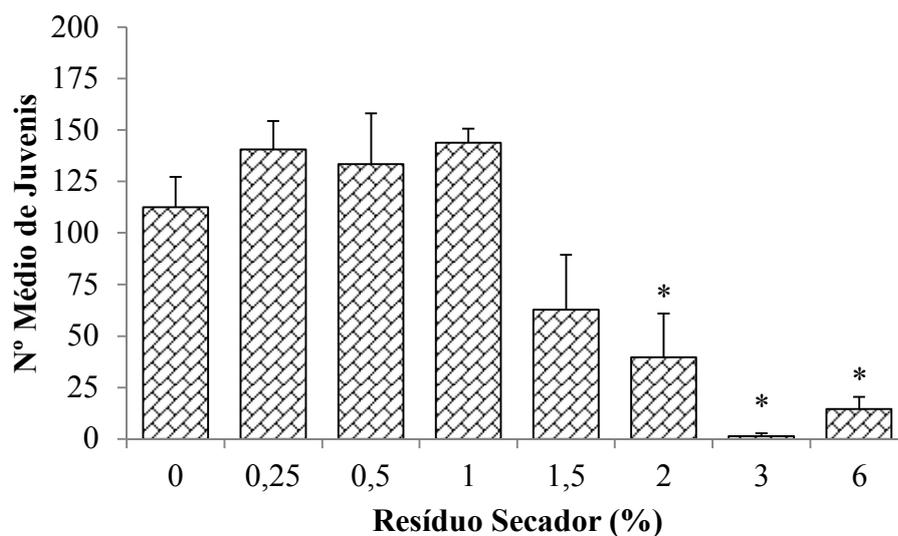
ND = não definido.

Valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Os dados de reprodução em SAT, explicitados na Figura 14 e na Figura 15, indicam os valores de CENO e CEO – para ambos os resíduos – que foram de, respectivamente, 1,5% e 2%. A partir das doses 1,5% e 2% para o resíduo do Secador e da Centrífuga, respectivamente, há redução do número médio de juvenis, porém este quase chega à nulidade em dosagens distintas (3% para o Secador e 6% para a Centrífuga) sendo, ainda, um reflexo da baixa sobrevivência dos organismos na dose 3% do Secador.

A reprodução, em solo natural para o resíduo do Secador (Figura 16), só foi inibida significativamente em relação ao controle para a dose de 3%, porém não representa a CEO. Para o resíduo da Centrífuga (Figura 17) a inibição significativa da reprodução ocorreu para a maior dose (6%), que representa a CEO; a CENO foi a dose de 3%. Quando misturados ao solo natural os resíduos tiveram efeitos menos pronunciados na inibição da reprodução.

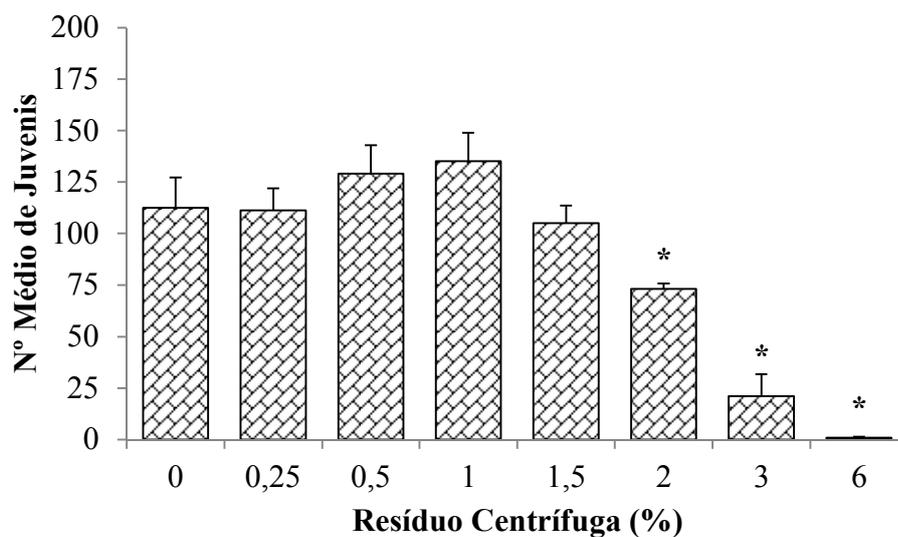
Pela avaliação do número médio de juvenis em SAT, chegou-se as concentrações efetivas para inibição da reprodução de *Eisenia andrei*. De acordo com o descrito na Tabela 16, teores de NaCl de 73,35 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (Secador) e 181,31 mg de NaCl kg<sup>-1</sup> de SAT (Centrífuga) reduzem a reprodução da população em 50%, o que equivale a valores de condutividade elétrica de 0,15 e 0,31 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente.



**Figura 14.** Reprodução de *Eisenia andrei*, após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

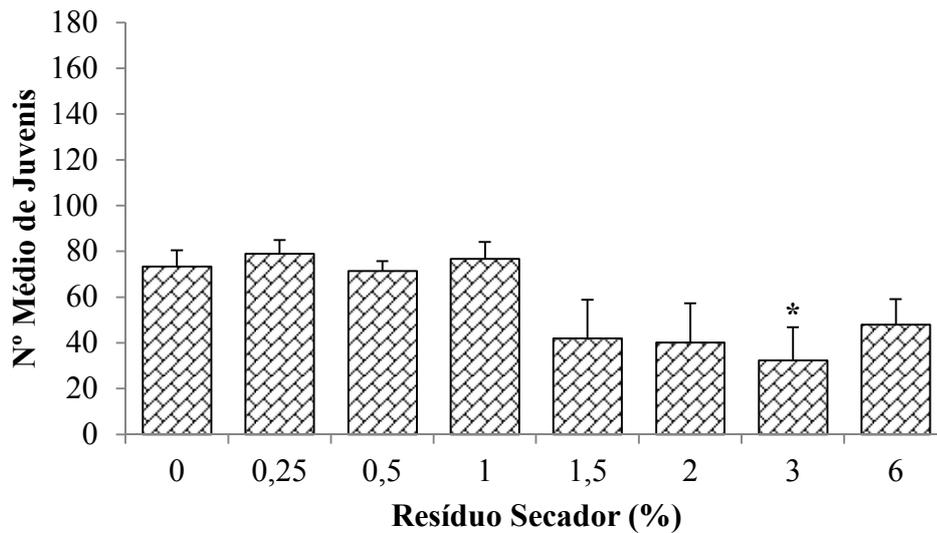
\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 15.** Reprodução de *Eisenia andrei*, após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrifuga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

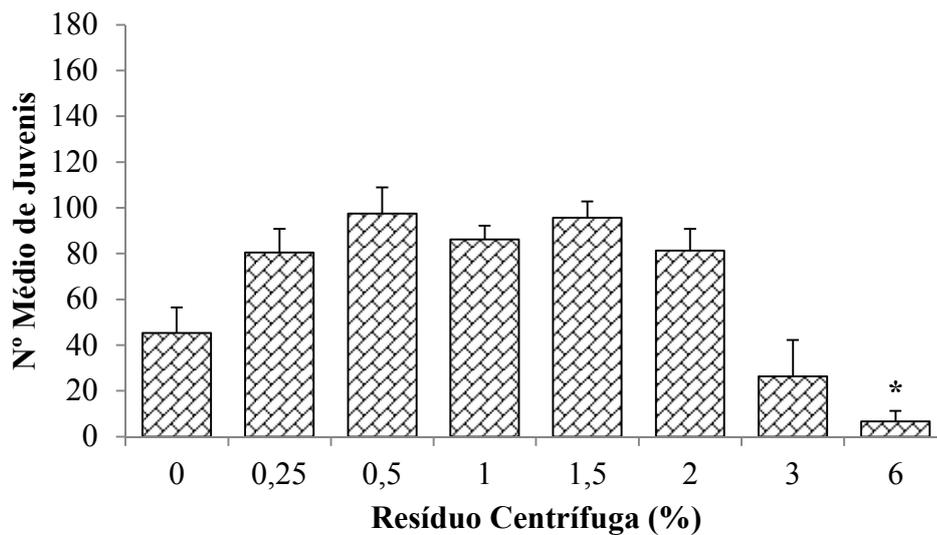
\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 16.** Reprodução de *Eisenia andrei*, após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 17.** Reprodução de *Eisenia andrei*, após 56 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

O resíduo da Centrífuga é aquele que possui maior quantidade de cloreto de sódio. Apesar disso, para reprodução seus efeitos se mostraram tardios quando comparado ao resíduo do Secador, comportamento similar foi observado por Machado (2012).

**Tabela 16.** Concentrações efetivas ( $CE_x$ ) dos resíduos de perfuração de poço de petróleo em terra no Secador e Centrífuga que levam a inibição da reprodução de *Eisenia andrei* em 20% e 50%, após 56 dias de exposição em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

	Percentual	Condutividade Elétrica ( $dS\ m^{-1}$ )	Sódio ( $mg\ kg^{-1}$ )
Secador			
$CE_{20}$	1,35 (1,10-1,60)	0,14 (0,09-0,20)	60,75
$CE_{50}$	1,63 (1,35-1,91)	0,15 (0,10-0,20)	73,35
Centrífuga			
$CE_{20}$	1,78 (1,53-2,02)	0,29 (0,14-0,43)	145,37
$CE_{50}$	2,22 (1,92-2,53)	0,31 (0,14-0,48)	181,31

Valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Analisando os dados da Tabela 17 fica claro que, nos ensaios em solo natural, não foi possível obter as concentrações efetivas que inibem a reprodução para o resíduo Secador. O que pode estar relacionado ao fato das equações de regressão não linear propostas para obtenção das CEs serem baseadas em um padrão tradicional de curva-resposta, onde as maiores concentrações causam os maiores efeitos, o que não se adequa à distribuição dos dados obtidos neste estudo. A  $CE_{50}$  para o resíduo Centrífuga representa teores de NaCl de 262,98 mg de NaCl  $kg^{-1}$  de solo.

**Tabela 17.** Concentrações efetivas ( $CE_x$ ) dos resíduos de perfuração de poço de petróleo em terra no Secador e Centrífuga que levam a inibição da reprodução de *Eisenia andrei* em 20% e 50%, após 56 dias de exposição em solo natural.

	Percentual	Condutividade Elétrica ( $dS\ m^{-1}$ )	Sódio ( $mg\ kg^{-1}$ )
Secador			
$CE_{20}$	ND	ND	ND
$CE_{50}$	ND	ND	ND
Centrífuga			
$CE_{20}$	2,60 (2,00-3,20)	0,19	212,34
$CE_{50}$	3,22 (2,23-4,21)	0,24	262,98

Valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Segundo Bright & Addison (2002), concentrações de NaCl de 1884 mg  $kg^{-1}$  de NaCl inibem a reprodução em 50%, enquanto Owojori & Reinecke (2009) encontraram inibição quando a concentração de NaCl – em solo artificial – atingiu 2020 mg  $kg^{-1}$  de NaCl, e em solo natural quando a condutividade elétrica foi igual a 0,29  $dS\ m^{-1}$ . Já Guzyteet al. (2011) em valores de 1288 mg  $kg^{-1}$  de NaCl. Kerr & Stewart (2003) afirmam que em concentrações acima de 3000 mg  $kg^{-1}$  de NaCl não ocorre reprodução.

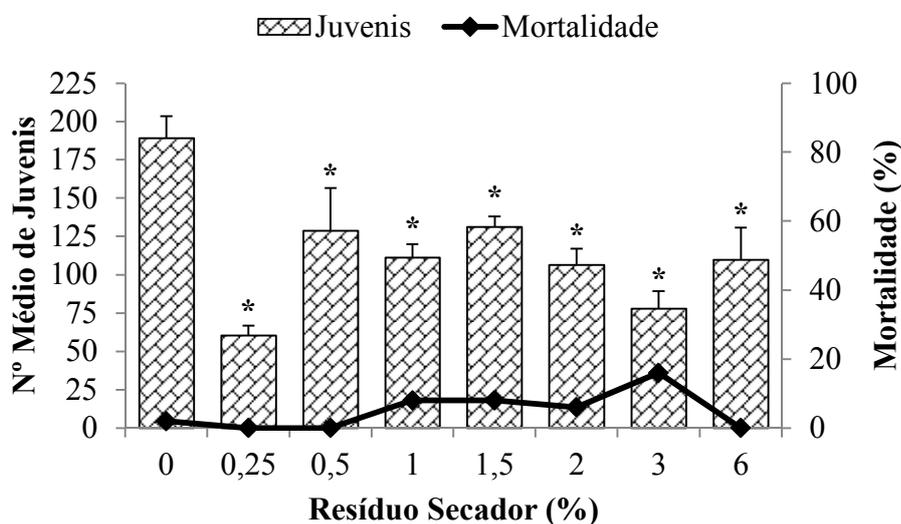
Apesar de, nesta avaliação, menores concentrações promoverem a inibição da reprodução, os resultados ainda são comparáveis aos encontrados na literatura, no que diz respeito ao efeito da salinidade na produção de juvenis. Afinal, a reprodução é afetada em concentrações menores do que aquelas que afetam crescimento e mortalidade (GUZYTEET al., 2011). O que indica que, dentre estes, a reprodução é o parâmetro ecotoxicológico mais sensível na avaliação dos efeitos tóxicos da salinidade sobre a população dessas minhocas (OWOJORI et al., 2008).

#### 4.2.2 *Enchytraeus crypticus*

Ao final do período experimental de 21 dias para SATe 28 dias para solo natural não foram verificadas mortalidade > 20%, ou um CV > 50% para o controle. As respostas de mortalidade e reprodução, para ambos os resíduos, podem ser observadas na Figura 18 e na Figura 19 (SAT), e Figura 20 e Figura 21 (solo natural).

No SAT não houve a completa inibição da reprodução para nenhuma das doses testadas, independente do resíduo utilizado. Para nenhum dos resíduos as concentrações letais (CL<sub>20</sub> e CL<sub>50</sub>) puderam ser determinadas, já que a análise de Probit (regressão) não consegue estimar as dosagens sem que a matriz de dados tenha sofrido efeitos extremos.

Tanto o resíduo do Secador, quanto o da Centrífuga geraram valores de CEO de 0,25%, ou seja, logo na primeira dose testada houve diferenças significativas, em relação ao controle, para o número médio de juvenis. Sendo assim, os valores de CENO são inferiores a esse, relacionando-se com a maior concentração que não difere do controle.

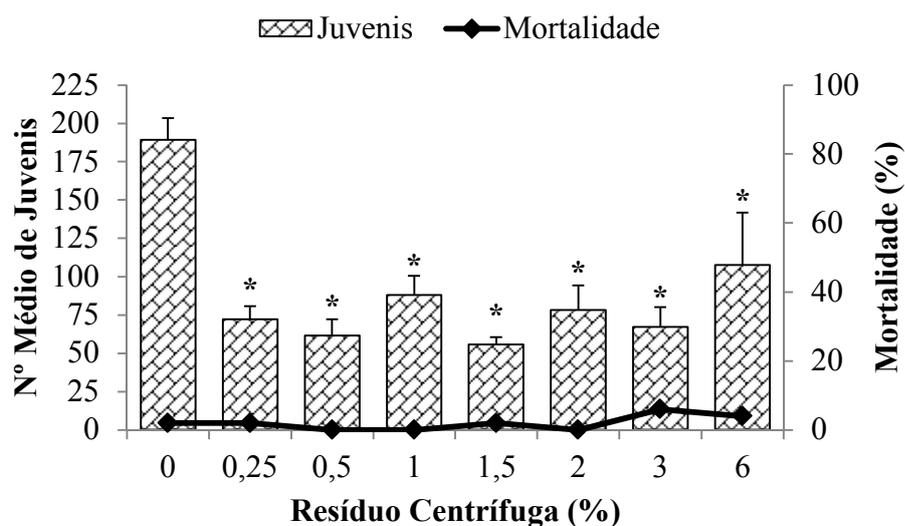


**Figura 18.** Reprodução e mortalidade de *Enchytraeus crypticus*, após 21 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Comparado ao controle, os decréscimos no número médio dos juvenis foram, na sequência das doses testadas, de 68%, 32%, 41%, 31%, 44%, 59% e 42% para o resíduo do Secador, e de 62%, 67%, 53%, 71%, 59%, 64,5% e 43% para o resíduo da Centrífuga. Apesar das reduções não foi possível gerar as CEs para a reprodução dos enquitreídeos, uma vez que as equações de regressão não linear adotadas para determinação não se adequam aos dados, isto é, as curvas explicadas pelas equações não correspondem ao comportamento observado. Entretanto não se pode ignorar que a partir da primeira dose (0,25%) para os dois resíduos já há efeito de inibição, indicando o potencial tóxico. Geralmente, as doses mais baixas são consideradas não significativas, o que não se aplica neste caso, já que baixas dosagens foram suficientes para afetar a reprodução.



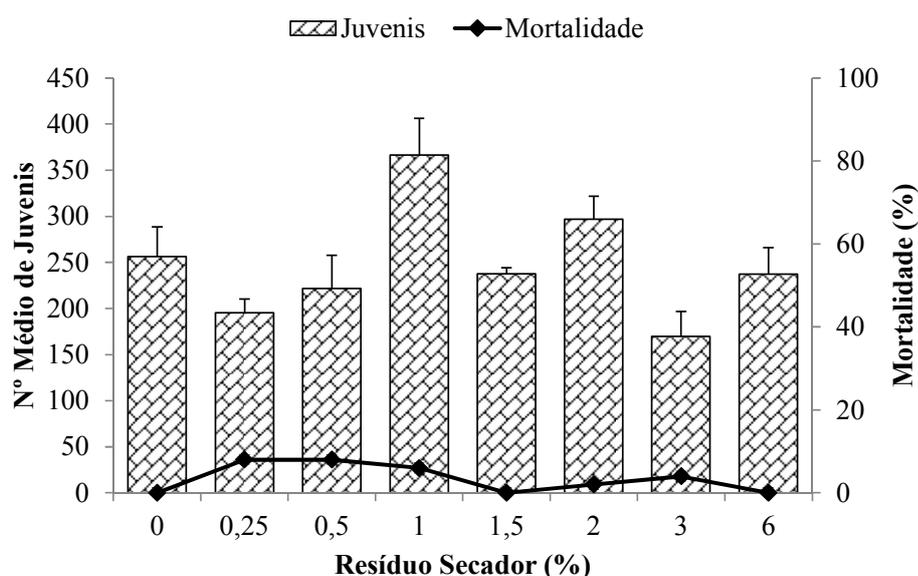
**Figura 19.** Reprodução e mortalidade de *Enchytraeus crypticus*, após 21 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Conforme observado no SAT, para o solo natural não houve nulidade reprodutiva. Também não foi possível determinar as concentrações letais e efetivas que promoveram, respectivamente, mortalidade e inibição da reprodução. O que pode ser mais uma vez justificado pela inadequação dos dados aos modelos de regressão propostos. Não houve detecção da CEO e da CENO. Para o resíduo do Secador o teste de Dunnett acusou diferenças significativas em relação ao controle para a dose de 1%, representando um aumento da reprodução (Figura 20). Avaliando somente os valores médios reprodutivos houve redução de 20% ou mais (níveis de 50% não foram atingidos) em relação ao controle, para ambos os resíduos, no entanto tal efeito não foi contínuo, ocorrendo para o resíduo do Secador nas doses 0,25 e 3% e para o da Centrífuga na dose de 6%.

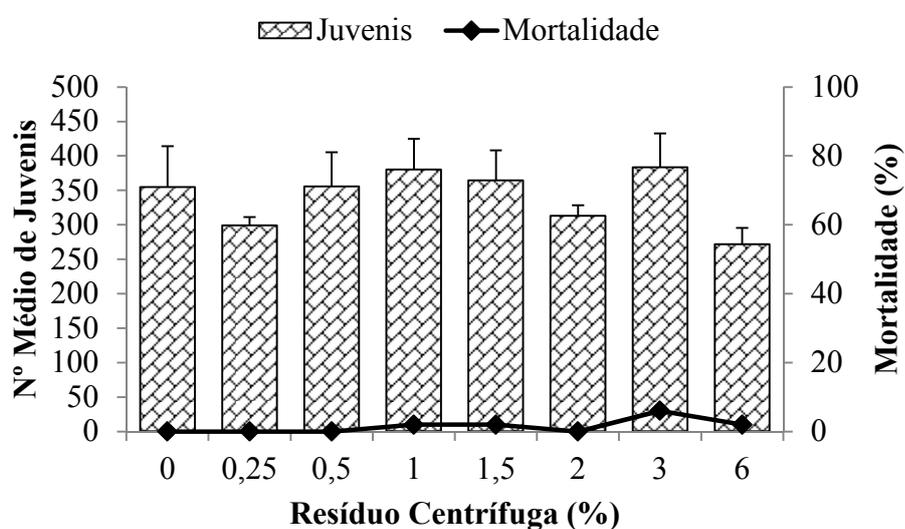
De fato, Castro-Ferreira et al. (2012) afirmam que dos *endpoints* passíveis de obtenção quando se trabalha com enquitreídeos a reprodução é mais sensível que a mortalidade. O que é confirmado pelo fato de Owojori et al. (2009b) terem relatado ausência de mortalidade para enquitreídeos – mesmo em valores elevados de condutividade elétrica ( $1,62 \text{ dS m}^{-1}$ ). Bem como redução da reprodução em condutividade elétrica de  $1,03 \text{ dS m}^{-1}$ , chegando a zero em valores de  $1,62 \text{ dS m}^{-1}$ . O que esclarece não só porque reduções significativas na reprodução foram obtidas em valores de condutividade elétrica de  $0,17 \text{ dS m}^{-1}$  (Secador em SAT) e  $0,23 \text{ dS m}^{-1}$  (Centrífuga em SAT) – abaixo dos relatados na literatura (mas que confirma a sensibilidade) possivelmente pelo efeito conjunto do sódio, dos demais constituintes do resíduo e da condutividade elétrica – mas também porque a sobrevivência não foi afetada significativamente.



**Figura 20.** Reprodução e mortalidade de *Enchytraeus crypticus*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 21.** Reprodução e mortalidade de *Enchytraeus crypticus*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrifuga em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

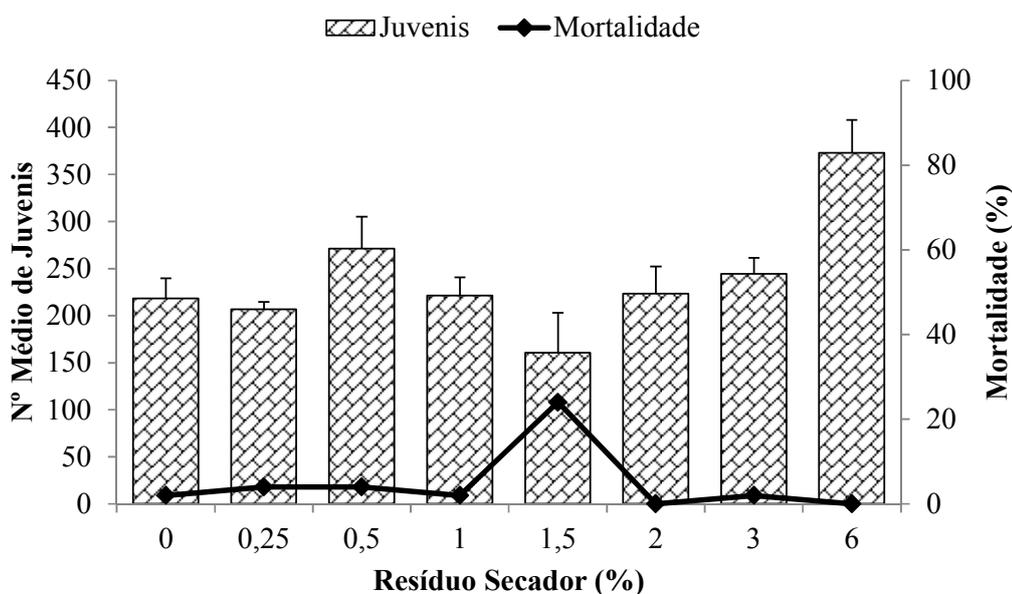
#### 4.2.3 *Folsomia candida*

A mortalidade observada no controle durante os ensaios, independente do tipo de solo, não excedeu 20% e a reprodução média foi superior a 100; ainda o coeficiente de variação não foi superior a 30%. Atendendo então, aos critérios de validação protocolados.

Similarmente, os resíduos empregados no estudo – em suas diferentes dosagens – não afetaram a integridade dos organismos inseridos levando a mortalidade. Desta forma não foram detectadas doses letais para os ensaios de reprodução desenvolvidos em SAT.

Em relação à reprodução nenhuma das concentrações testadas, de ambos os resíduos, promoveu inibição em relação ao controle (Figura 22 e Figura 23). As únicas diferenças significativas ocorreram para o resíduo do Secador na concentração de 6% devido ao estímulo da reprodução, isto é, o número médio de juvenis foi maior que observado no controle. E nas concentrações de 1% e 3%, para o da Centrífuga, com inibição da reprodução em valores que diferem estatisticamente do controle – correspondendo a reduções maiores que 20%.

No entanto, tais diferenças não indicam as concentrações de efeito observado (CEO) e de efeito não observado (CENO). Nem foi possível determinar as concentrações efetivas que reduzem a reprodução, uma vez que não houve reduções sucessivas ou de 50%. A ausência dos parâmetros ecotoxicológicos se relaciona com a variabilidade reprodutiva comum em ensaios com colêmbolos. E, principalmente, com a faixa de condutividade elétrica atingida nas misturas de resíduo e SAT.

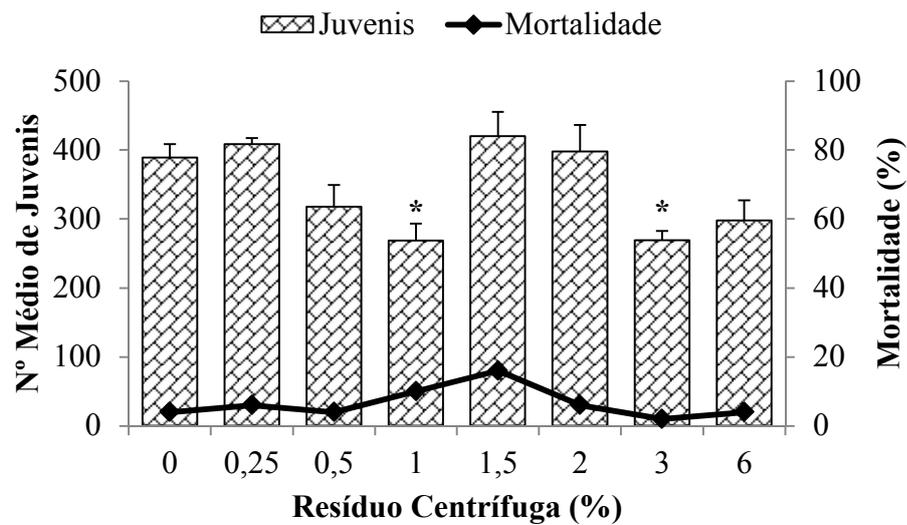


**Figura 22.** Reprodução e mortalidade de *Folsomia candida*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Crouau & Cazes (2003) notaram que diferenças de um dia na idade dos colêmbolos causaram variabilidade reprodutiva, sendo o coeficiente de variação para colêmbolos com onze dias de idade quase 50% maior que naqueles com dez dias de idade. Owojori et al. (2009b) relataram que a produção de juvenis em colêmbolos foi afetada em valores de condutividade elevados ( $\geq 1,03 \text{ dS m}^{-1}$ ), sendo nula a reprodução quando a condutividade atingiu  $1,62 \text{ dS m}^{-1}$ . Já a mortalidade não foi afetada em ampla faixa de condutividade  $0,08$  a  $1,62 \text{ dS m}^{-1}$ .

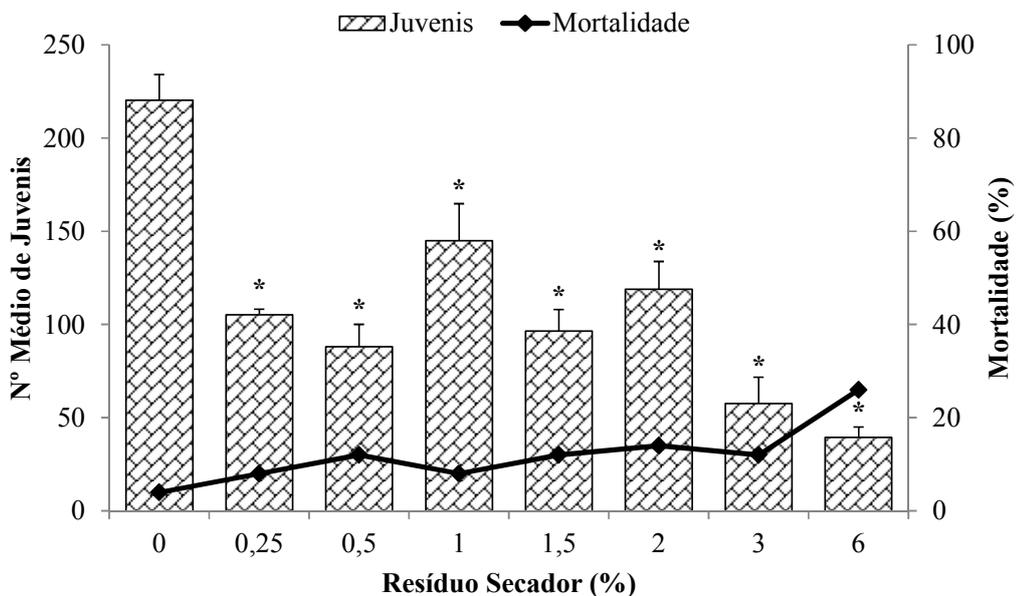


**Figura 23.** Reprodução e mortalidade de *Folsomia candida*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífluga em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

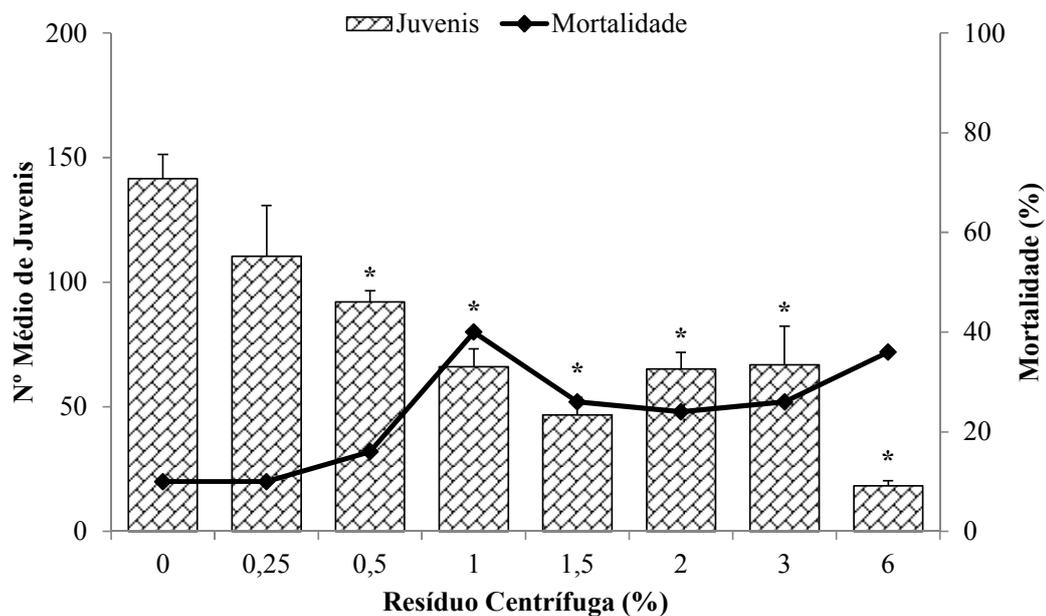
Para o solo natural foram observadas reduções significativas da reprodução a partir da primeira dose testada do resíduo do Secador (Figura 24). Comportamento similar ocorreu para o resíduo da Centrífluga, porém a dose a partir da qual se detectaram diferenças foi a de 0,5% (Figura 25).



**Figura 24.** Reprodução e mortalidade de *Folsomia candida*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo do Secador em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 25.** Reprodução e mortalidade de *Folsomia candida*, após 28 dias de exposição às diferentes doses do resíduo da Centrífuga em solo natural.

Valores médios de cinco repetições e erro padrão em barras.

\* Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Nos ensaios conduzidos em SAT, a maior concentração testada do resíduo Secador atingiu, do início ao fim do ensaio, condutividades de  $0,30$  a  $0,36 \text{ dS m}^{-1}$ , e do resíduo Centrífuga de  $0,46$  a  $0,52 \text{ dS m}^{-1}$ , valores esses inferiores aos descritos como prejudiciais. Ainda, de acordo com a literatura, os colêmbolos (*Folsomia candida*) são os organismos com menor sensibilidade ao estresse salino, quando comparados a enquitreídeos e minhocas. O que, considerando os resultados obtidos neste estudo e no de Bianchi (2013), parece ser uma questão variável e dependente da combinação de fatores que constituem a amostra já que foram esses, juntamente com os enquitreídeos, os organismos mais sensíveis à salinidade no que diz respeito ao *endpoint* de reprodução.

Segundo afirmação de Domene et al. (2011), os colêmbolos reproduzem menos em solo artificial (cerca de 400 juvenis) havendo, em metade dos casos, diferenças significativas entre a reprodução nestes e no solo natural (18 solos naturais, nos quais a reprodução variou de 242-1210 juvenis). O que é contrário ao observado neste estudo, afinal quando comparados os materiais de solo utilizados a reprodução em SAT foi maior, considerando inclusive aquela obtida nas diferentes doses.

O que pode se relacionar a afirmação de Filser et al. (2014) de que as características do substrato não só influenciam a biodisponibilidade das substâncias, mas também o comportamento das organismos-teste. Greenslade & Vaughan (2003) estabelecem que em pH próximo a  $8,03$  já não ocorre reprodução em *Folsomia candida*, sendo encontrados apenas quatro adultos. Neste estudo para a maior dose, de ambos os resíduos, o pH variou do 1º-28º dia de  $8,26$ - $8,19$  (Secador) e de  $8,25$ - $8,22$  (Centrífuga), sendo encontrados, especificamente, 7 adultos e 40 juvenis – em média – no resíduo do Secador e 6 adultos e 18 juvenis – em média – no resíduo da Centrífuga. Apesar de estarem acima da referência de Greenslade & Vaughan (2003) tais valores encontram-se abaixo do mínimo esperado para solos não contaminados (acima de 50 indivíduos).

Na Tabela 18 constam as concentrações letais para 20% da população de *Folsomia candida* e as concentrações efetivas que promoveram inibição da reprodução em 50%. Isolando os resíduos tem-se uma CL<sub>20</sub> de 5,70% e uma CE<sub>50</sub> de 0,25% quando foi misturado ao solo natural o resíduo do Secador; CL<sub>20</sub> de 0,63% e CE<sub>50</sub> de 1,16% quando a mistura foi com resíduo da Centrífuga. De fato os dados da Tabela 18 e aqueles expressos na Figura 24 são complementares, uma vez que o resíduo do Secador teve sua CEO em 0,25%, com CENO abaixo deste valor – que foi o mesmo percentual de resíduo responsável por inibir a reprodução. Já a concentração letal foi determinada entre as doses de 3 e 6%, a partir de onde ocorre mortalidade superior a 20%. A CEO do resíduo da Centrífuga foi de 0,5%, com CENO de 0,25%; pequenos acréscimos a partir da dose de 1% foram responsáveis por inibir a reprodução. O mesmo raciocínio de complementariedade cabe para a CL<sub>20</sub> determinada como o percentual de 0,63% que, se observada a Figura 25, localiza-se exatamente entre a dose onde mortalidades superiores a 20% começaram a ocorrer.

**Tabela 18.** Concentrações efetivas (CE<sub>x</sub>) e letais (CL<sub>x</sub>) dos resíduos do Secador e da Centrífuga que inibem 50% da reprodução e causam mortalidade de 20% de *Folsomia candida*, em solo natural.

	Percentual	Sódio (mg kg <sup>-1</sup> )
Secador		
<b>CE<sub>50</sub></b>	0,25 (0,07-0,42)	11,25
<b>CL<sub>20</sub></b>	5,70	256,50
Centrífuga		
<b>CE<sub>50</sub></b>	1,16 (0,43-1,88)	94,73
<b>CL<sub>20</sub></b>	0,63	51,45

Valores entre parênteses indicam intervalo de confiança de 95%, quando obtidos.

Os resultados mostram diferenças na biodisponibilidade dos constituintes dos resíduos nos solos avaliados. Como não houve associação entre os resultados não foi possível prever – ou extrapolar – a ecotoxicidade e a biodisponibilidade dos resíduos no solo natural a partir dos estudos em solo artificial. O que também foi observado por Santos et al. (2012) ao avaliarem a fuga de colêmbolos em SAT e solo natural contaminado com petróleo.

**Tabela 19.** Síntese e comparação entre valores de CL<sub>50</sub> e CE<sub>50</sub> para os diferentes *endpoints* ecotoxicológicos de *Eisenia andrei* e *Folsomia candida*, quando determinados, expostos aos diferentes resíduos de perfuração de poços de petróleo em terra (Secador e Centrífuga) em SAT e solo natural coletado em Seropédica-RJ.

Material de Solo / Resíduo	CL <sub>50</sub> (intervalo de confiança)	CE <sub>50</sub> (intervalo de confiança)		
	Letalidade	Fuga mg de NaCl kg <sup>-1</sup>	Crescimento	Reprodução
<b>SAT / Secador</b> <i>Eisenia andrei</i>	329,40	53,77 (30,89-88,70)	339,75	73,35
<b>SAT / Centrífuga</b> <i>Eisenia andrei</i>	ND	75,89 (43,60-117,14)	ND	181,31
<b>Solo Natural / Secador</b> <i>Eisenia andrei</i>	ND	37,95	ND	ND
<i>Folsomia candida</i>	ND	ND	ND	11,25
<b>Solo Natural / Centrífuga</b> <i>Eisenia andrei</i>	ND	112,88 (39,36-316,94)	1030,67	262,98
<i>Folsomia candida</i>	ND	ND	ND	94,73

ND = não determinado.

Baseado em Owojori & Reinecke (2009).

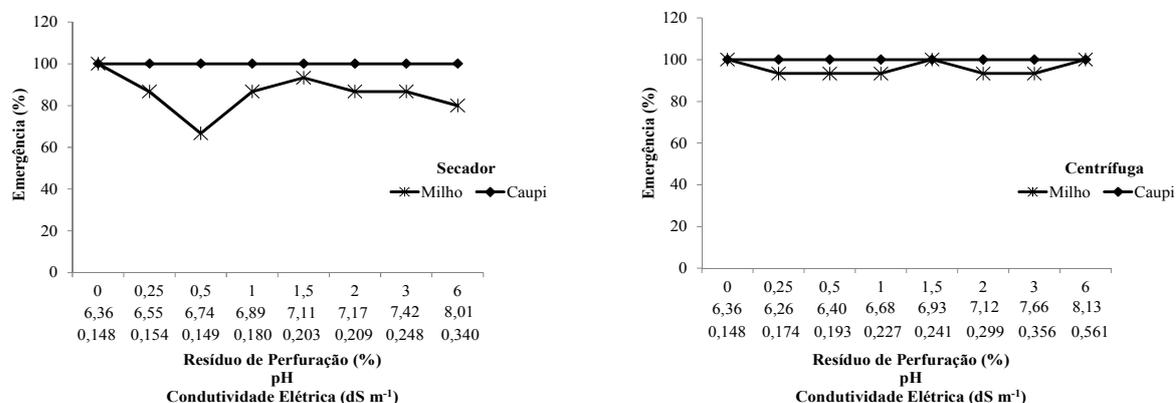
**Tabela 20.** Síntese das concentrações de efeito observado e não observado para os *endpoints* de crescimento e reprodução.

Material de Solo / Resíduo		CEO		CENO	
		Dose (%)	NaCl (mg kg <sup>-1</sup> )	Dose (%)	NaCl (mg kg <sup>-1</sup> )
<b>SAT / Secador</b>					
<i>Eisenia andrei</i>	Crescimento	ND	ND	ND	ND
	Reprodução	2	90,00	1,5	67,50
<i>Enchytraeus crypticus</i>		0,25	11,25	< 0,25	< 11,25
<i>Folsomia candida</i>		ND	ND	ND	ND
<b>SAT / Centrífuga</b>					
<i>Eisenia andrei</i>	Crescimento	ND	ND	ND	ND
	Reprodução	2	163,34	1,5	122,51
<i>Enchytraeus crypticus</i>		0,25	20,42	< 0,25	< 20,42
<i>Folsomia candida</i>		ND	ND	ND	ND
<b>Solo Natural / Secador</b>					
<i>Eisenia andrei</i>	Crescimento	ND	ND	ND	ND
	Reprodução	ND	ND	ND	ND
<i>Enchytraeus crypticus</i>		ND	ND	ND	ND
<i>Folsomia candida</i>		0,25	11,25	< 0,25	< 11,25
<b>Solo Natural / Centrífuga</b>					
<i>Eisenia andrei</i>	Crescimento	2	163,34	1,5	122,51
	Reprodução	6	490,02	3	245,01
<i>Enchytraeus crypticus</i>		ND	ND	ND	ND
<i>Folsomia candida</i>		0,5	40,84	0,25	20,42

ND = não determinado.

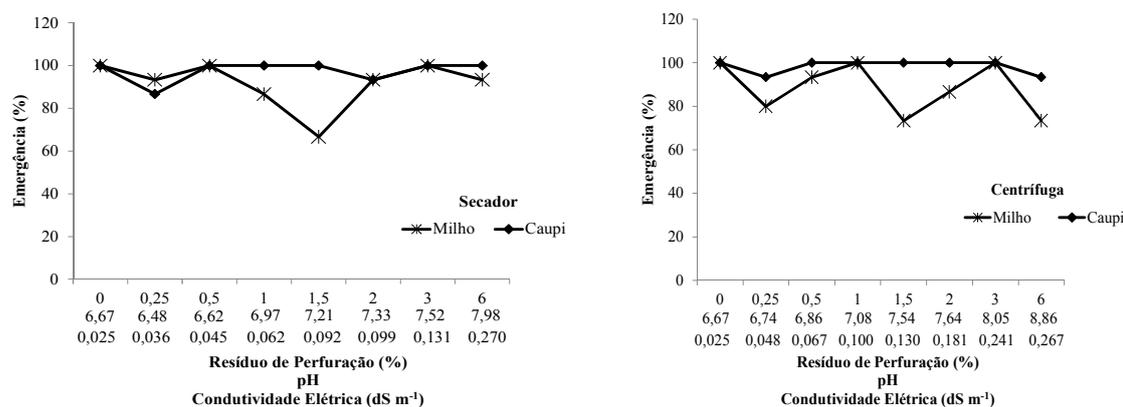
#### 4.2.4 Germinação de Sementes e Crescimento de Plantas

Os ensaios em SAT foram validados, uma vez que houve 100% de emergência no controle absoluto para as duas espécies vegetais estudadas (Figura 26). O mesmo ocorreu com os ensaios em solo natural (Figura 27).



**Figura 26.**Emergência de plantas de milho (*Zea mays*) e feijão caupi (*Vigna unguiculata*) nas diferentes doses dos resíduos do Secador e da Centrífuga, em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Valores médios de cinco repetições.



**Figura 27.**Emergência de plantas de milho (*Zea mays*) e feijão caupi (*Vigna unguiculata*) nas diferentes doses dos resíduos do Secador e da Centrífuga, em solo natural.

Valores médios de cinco repetições.

Para os resíduos testados em SAT, não houve diferenças para germinação e emergência de feijão caupi. Entretanto, a emergência de milho foi afetada nas diferentes doses do resíduo Secador, onde atingiu percentuais de emergência de até 67%. Em solo natural a resposta da emergência para o feijão caupi, para os dois resíduos, foi similar apesar de pequenas flutuações verificadas. O milho (*Zea mays* L.) foi planta mais afetada tendo como ponto comum percentuais de emergência mínimos entre 67-73% na dosagem de 1,5% dos resíduos Secador e Centrífuga, respectivamente.

Ayers & Westcot (1999) caracterizaram o milho (*Zea mays* L.) como uma cultura moderadamente sensível ao estresse salino, com condutividade elétrica do solo limite de  $1,7 \text{ dS m}^{-1}$ . Sendo maior a tolerância no pendoamento e menor durante a fase vegetativa (BEZERRA et al., 2010). Apesar de salinos, as proporções dos resíduos misturadas aos solos artificial e natural não elevaram a condutividade elétrica do solo a tal limiar. No entanto, a

germinação e emergência foram afetadas em níveis baixos de salinidade, especialmente em solo natural.

Esse resultado pode estar relacionado ao comportamento do resíduo, que é uma mistura heterogênea contendo outros agentes estressores que podem afetar individual, ou conjuntamente o comportamento dos organismos-teste avaliados. Contam também as diferenças químicas e mineralógicas entre os materiais de solo estudados: um deles o solo artificial tropical inerte e que permite avaliar os efeitos apenas do contaminante; eo solo natural cujas características físicas, químicas e biológicas interagem com os resíduos atenuando ou não seus efeitos.

Afinal a biodisponibilidade e mobilidade dos xenobióticos no solo dependem das propriedades físicas e químicas da substância, de características do solo (textura, teor de matéria orgânica, conteúdo e tipo de argilominerais e óxidos de Fe, Al e Mn), do tempo de interação, dos organismos-teste, e de outras condições físicas e químicas que prevalecem no solo (saturação, aeração, pH e Eh) (LEVY et al., 1992; ALEXANDER, 2000; REID et al., 2000, van GESTEL, 2012).

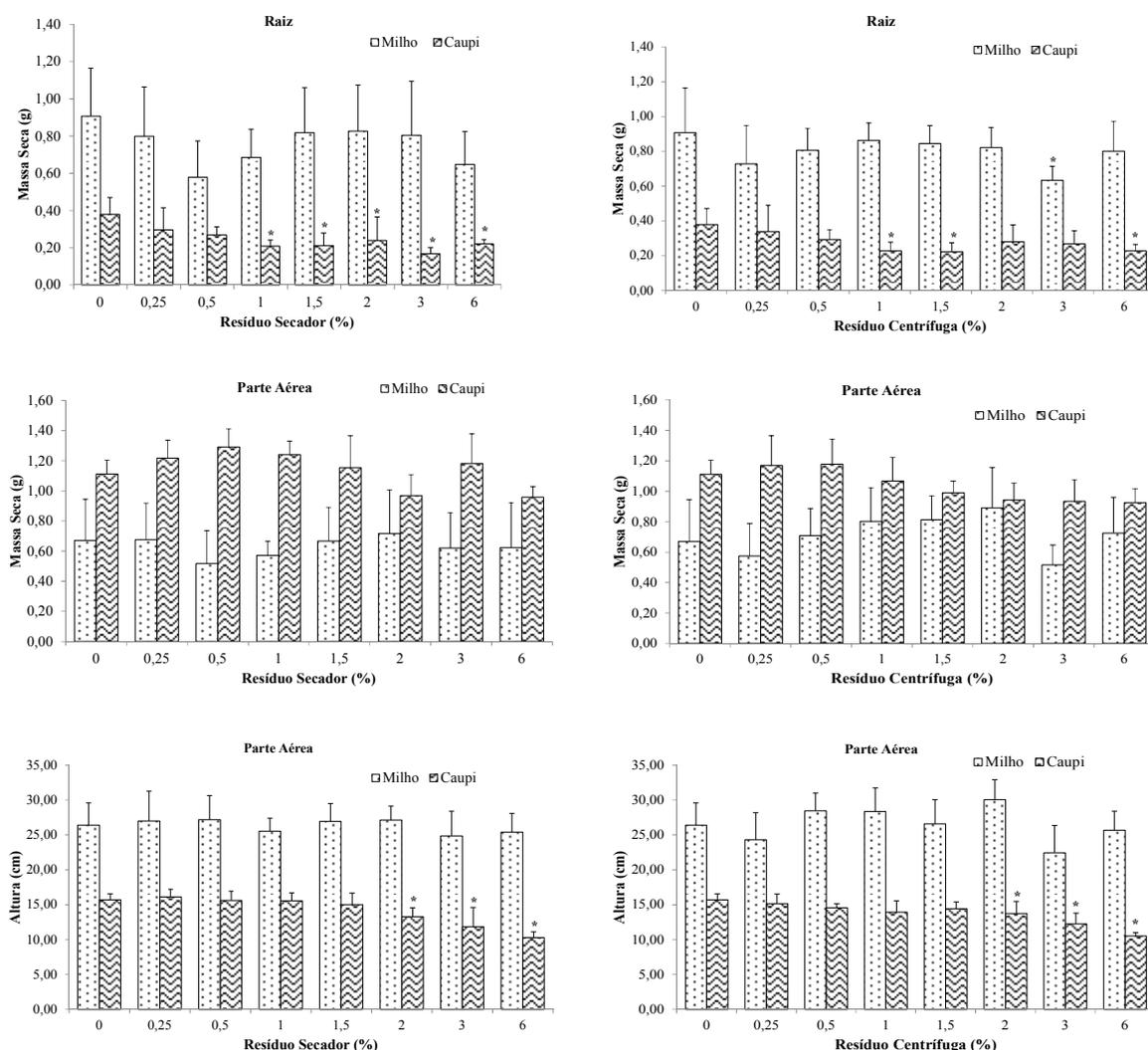
O feijão caupi é considerado moderadamente tolerante à salinidade por Ayers & Westcot (1999) – com condutividade elétrica do solo limite de  $4,9 \text{ dS m}^{-1}$ , embora Dantas et al. (2002) afirmem que o grau de tolerância é variável entre os diferentes genótipos. O que é confirmado por Morales et al. (2001), já que nem todas as partes da planta são igualmente afetadas pela salinidade, ou seja, a adaptação ao estresse salino varia entre espécies e, em um mesmo genótipo, pode variar entre estádios fenológicos. Considerando os resultados de emergência de plantas (Figura 26 e Figura 27), das espécies vegetais testadas, o feijão caupi foi a mais tolerante ao estresse salino.

Os parâmetros vegetativos massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA) e altura de parte aérea (APA) foram analisados, para cada cultura e resíduos, em SAT (Figura 28) e em solo natural (Figura 29). Foram observadas reduções significativas de MSR para o feijão caupi a partir da dose de 1% do resíduo do Secador, e nas doses 1; 1,5 e 6% do resíduo da Centrífuga. Apenas na dose de 3% do resíduo da Centrífuga houve redução significativa em relação ao controle da MSR do milho, nenhuma das espécies vegetais, independente do resíduo avaliado, apresentou reduções de MSPA. Para ambos os resíduos o comportamento do feijão caupi no que se refere a reduções da APA foi idêntico, com significância a partir da dose de 2% dos resíduos acrescidos ao SAT.

A mistura de resíduos e solo natural reduziu a APA apenas do feijão caupi na dose 6% do resíduo do Secador, enquanto o resíduo da Centrífuga afetou MSPA do feijão caupi e APA de milho na dose 6%. Inúmeros trabalhos relatam os efeitos da salinidade em plantas, sempre relacionados com a condutividade elétrica (solo, água ou extrato de saturação do solo). Em milho são discriminados efeitos na redução da altura de planta, MSR e MSPA (AZEVEDO NETO & TABOSA, 2000; GARCIA et al., 2007; BLANCO et al., 2008; GONDIM et al., 2011; SOUZA et al.; 2012). O que está de acordo com os resultados de MSR e APA obtidos nesse estudo ecotoxicológico de plantas. Já a MSPA teve comportamento distinto dos referenciados, isto é, não houve sinalização de inibição pela salinidade.

Sousa et al. (2007) descreveram que a salinidade e a composição iônica da água de irrigação afetaram o crescimento do feijão caupi, especificamente a produção de biomassa. Assim como Bezerra et al. (2010) que verificaram decréscimos na produtividade e no crescimento de feijão caupi associados a salinidade agravada pela estação seca, pois os sais não eram lixiviados, em condutividade elétrica da água de  $2,2 \text{ dS m}^{-1}$ , menor que a preconizada de  $3,3 \text{ dS m}^{-1}$  (AYERS & WESTCOT, 1999). Fato justificado pelas variações no grau de tolerância da cultivar que podem ainda ser dependentes do estágio fenológico, de

condições climáticas e demais fatores. Prazeres et al. (2014) encontraram reduções para MSR e MSPA em feijão caupi.



**Figura 28.** Massa seca de raiz, massa seca de parte aérea e altura de parte aérea das plantas de milho (*Zea mays*) e feijão caupi (*Vigna unguiculata*) após exposição às diferentes doses dos resíduos de perfuração em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

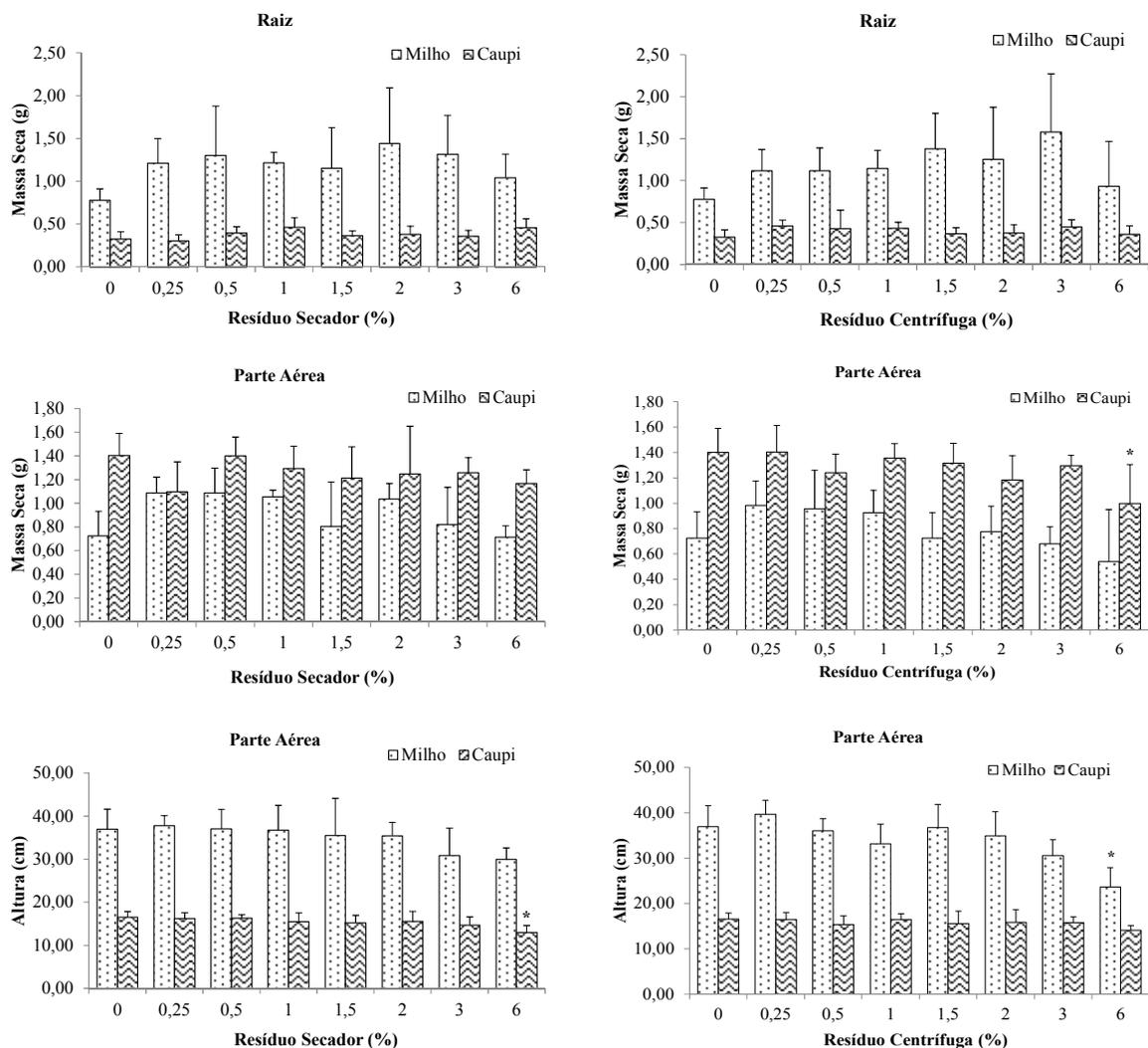
Valores médios por planta e desvio padrão em barras.

\* Únicas doses com diferença significativa, quando comparado ao respectivo controle, pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

Andrade et al. (2013) avaliaram a altura de plantas de genótipos de feijão caupi (BRS-Potengi, BRS-Pajeú, BR17-Gurguéia, BRS-Guariba) irrigado com águas salina (0,6; 2,1; 3,6 e 5,1  $\text{dS m}^{-1}$ ) e observaram que a salinidade reduziu a altura de plantas a partir de 0,6  $\text{dS m}^{-1}$ . Os autores concluíram que há um comportamento distinto da salinidade em cada genótipo.

Diversos trabalhos relatam redução de parâmetros vegetativos em condições salinas. Porém, Calvet et al. (2013) avaliando efeitos da aplicação de solução salina (5,0  $\text{dS m}^{-1}$ ) nas duas fases iniciais de desenvolvimento do feijão caupi cultivar Epace 10, observaram que o crescimento não foi afetado em nenhuma fase. O comportamento do feijão caupi, cultivar BR17-Gurguéia, empregado aqui como indicador do estresse salino se igualou ao dos demais

estudos com redução de todos os parâmetros avaliados (MSR, MSPA e APA), mesmo em menores valores de condutividade elétrica.



**Figura 29.** Massa seca de raiz, massa seca de parte aérea e altura de parte aérea das plantas de milho (*Zea mays*) e feijão caupi (*Vigna unguiculata*) após exposição às diferentes doses dos resíduos de perfuração em solo natural.

Valores médios por planta e desvio padrão em barras.

\* Únicas doses com diferença significativa, quando comparado ao respectivo controle, pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

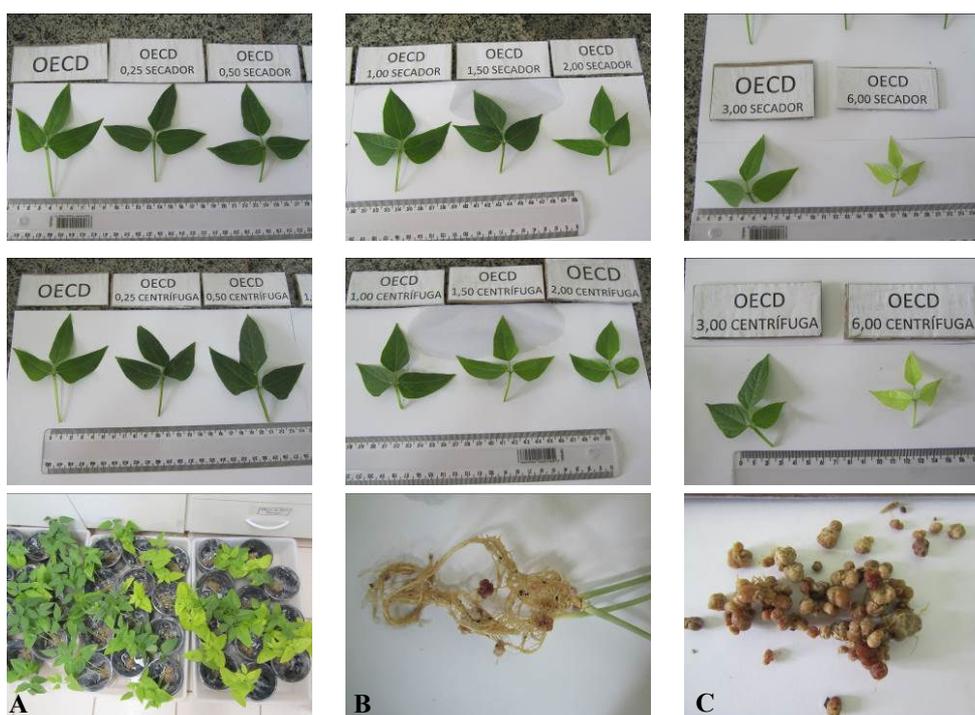
Garcia et al. (2007) explicam que as reduções de biomassa e/ou produtividade, para qualquer espécie vegetal, se devem a desvios na rota metabólica. Sendo um reflexo do custo energético associado à tentativa de adaptação ao estresse pelo aumento dos níveis de salinidade no solo (MUNNS, 2002).

A não diferenciação dos parâmetros vegetativos, em relação ao controle, para ambos os solos e resíduos, parece indicar que em determinadas doses os resíduos do Secador e da Centrifuga favorecem o estabelecimento e o crescimento vegetativo. Comportamento semelhante foi observado por Magalhães (2011), Machado (2012) e Sampaio Júnior (2012) que, avaliando diferentes culturas em solo natural contendo resíduos de perfuração, identificaram incrementos ou equivalência de biomassa entre doses menores e testemunha. Considerando apenas parâmetros vegetativos percebe-se que, após a germinação e

emergência, onde foi mais tolerante às condições estressoras – a sensibilidade do feijão caupi ao estresse salino aumentou, principalmente quando cultivado em SAT acrescido dos resíduos.

Quando foram coletadas as plantas de feijão caupi observou-se a associação das raízes com bactérias fixadoras de nitrogênio, ou seja, mesmo havendo a introdução – nos diferentes tratamentos – de sementes sem inoculação ocorreu a nodulação; sugerindo que características intrínsecas da planta e, principalmente, o próprio ambiente da casa de vegetação influenciaram a nodulação. O que é explicado pelo fato do feijão caupi estabelecer simbiose com várias bactérias do solo (promiscuidade), coletivamente chamadas de rizóbios (GUIMARÃES et al., 2012; ZHANG et al., 2007). Devido a baixa especificidade de nodulação do feijão caupi (GUIMARÃES et al., 2012), nódulos costumam ser facilmente encontrados nas raízes, podendo – inclusive – ocorrer em experimentos em casa de vegetação, onde a planta foi cultivada, sem inoculação, em substrato autoclavado (MELO & ZILLI, 2009).

Tal fato chamou atenção tanto para a coloração dos nódulos associados quanto para a coloração verde amarelada das folhas do feijão caupi. Os sintomas de deficiência de nitrogênio foram, visualmente, mais acentuados nos tratamentos do solo artificial tropical, conforme se vê na Figura 30 (ampliação consta no Anexo G), que no solo natural (Figura 31, ampliação consta no Anexo H).



**Figura 30.**Diagnose visual do feijão caupi (*Vigna unguiculata*) após exposição às diferentes dosagens dos resíduos de perfuração em solo artificial tropical.

**A** – Visão geral das plantas nos diferentes doses. **B e C** – Coloração dos nódulos.



**Figura 31.**Diagnose visual do feijão caupi (*Vigna unguiculata*) após exposição às diferentes dosagens dos resíduos de perfuração em solo natural.

Na Tabela 21 estão detalhados os teores de nitrogênio total na parte aérea e raiz, o número médio de nódulos e a atividade destes em SAT. Para o resíduo do Secador as doses que apresentaram diferenças significativas seguiram o mesmo padrão, ocorrendo a partir da dose 3% para número de nódulos e nitrogênio total em parte aérea, enquanto o resíduo da Centrífuga diferiu em número de nódulos apenas na maior dose e para nitrogênio total em parte aérea a partir da dose de 3%. Não houve diferenças para o teor de nitrogênio total na raiz. A massa seca de nódulos apresentou comportamento similar ao observado para número de nódulos.

Avaliando a nodulação compreende-se porque não foram percebidas variações na coloração das plantas oriundas dos vasos contendo solo natural incorporado com as diferentes dosagens dos resíduos. Para a sequência de doses estudada não foram constatadas diferenças estatísticas entre dose e controle para número e atividade de nódulos, independente do resíduo. Entretanto, para a maior dose do resíduo da Centrífuga houve diferença significativa para nitrogênio total em parte aérea (Tabela 22). A massa seca de nódulos a partir da primeira dose (0,25%) de ambos os resíduos foi significativamente menor que no controle. Os menores teores de nitrogênio na raiz foram para o resíduo do Secador, nas doses de 1% e 6%, e para o da Centrífuga na dose de 0,25%.

O comportamento do número de nódulos nos cultivos em SAT está de acordo com os resultados de Medeiros et al. (2008), Leite et al. (2009) e Prazeres et al. (2014), que analisando o efeito da salinidade sobre nodulação de feijão caupi verificaram que aumentos na condutividade elétrica e/ou salinidade afetam negativamente a nodulação, indicando a sensibilidade da simbiose ao estresse salino. Para Lima et al. (2007), o número de nódulos do feijão caupi é o parâmetro mais afetado pela salinidade da água de irrigação, com perdas de até 98% com o incremento salino da água.

Para Xavier et al. (2007), plantas com os maiores valores de massa média e número de nódulos fixam mais nitrogênio atmosférico e do solo podendo-se, portanto, inferir que estes parâmetros refletem maiores teores acumulados na planta. O que está de acordo com o observado por Silva et al. (2010) que obtiveram correlações positivas entre o acúmulo de nitrogênio em parte aérea de feijão caupi e a nodulação, indicando proporcionalidade entre FBN (fixação biológica de nitrogênio) e nodulação.

Pelo descrito para o SAT os menores números de nódulos e, conseqüentemente de suas massas secas, se relacionaram com os menores teores de nitrogênio total em parte aérea.

Melo & Zilli (2009) relataram a interferência de fatores edafoclimáticos na fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi, o que justificaria a diferença entre o número de nódulos do SAT e do solo natural, e os diferentes resultados dos resíduos nestes solos.

**Tabela 21.** Teor de nitrogênio e atividade dos nódulos associados às raízes de feijão caupi cultivado em diferentes concentrações dos resíduos de perfuração em solo artificial tropical com 5% de matéria orgânica.

Tratamento	Nº de nódulos	Atividade			Massa Seca de Nódulos (mg)	Nitrogênio Total (g kg <sup>-1</sup> )	
		Muito Ativo	Ativo	Inativo		Raiz	Parte Aérea
Secador							
Controle SAT	34	6	24	4	110	12,30	58,20
0,25%	37	4	28	5	120	13,10	30,60
0,5%	47	7	34	6	130	14,40	27,70
1%	51	5	45	1	110	15,50	31,70
1,5	41	4	32	5	80	15,30	29,00
2%	42	4	31	7	110	12,20	24,20
3%	19*	1**	17	1	70*	10,90	8,20*
6%	4*	0**	2**	2	20*	10,60	7,40*
Centrífuga							
0,25%	42	5	35	2	110	12,50	28,40
0,5%	38	5	32	1	130	13,30	29,20
1%	36	5	23	8	80	14,70	23,00
1,5%	37	6	28	3	130	14,50	26,70
2%	38	0**	24	14	100	12,40	19,90
3%	31	0**	27	4	80	17,80	11,40*
6%	9*	0**	5**	4	40*	13,60	7,40*

Valores médios de cinco repetições.

\*Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

\*\*Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste LSD ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 22.** Teor de nitrogênio e atividade dos nódulos associados às raízes de feijão caupi cultivado em diferentes concentrações dos resíduos de perfuração em solo natural.

Tratamento	Nº de nódulos	Atividade		Massa Seca de Nódulos (mg)	Nitrogênio Total (g kg <sup>-1</sup> )	
		Ativo	Inativo		Raiz	Parte Aérea
Secador						
Controle Solo natural	29	24	5	120	16,60	17,30
0,25%	29	22	7	30*	14,90	18,60
0,5%	42	33	9	30*	15,30	15,20
1%	41	32	9	30*	13,40*	15,00
1,5	37	29	8	20*	14,60	15,60
2%	32	26	6	30*	15,10	16,10
3%	43	30	13	30*	17,10	14,40
6%	31	25	6	40*	12,80*	15,70
Centrífuga						
0,25%	42	30	12	30*	13,30*	16,00
0,5%	28	19	9	30*	14,10	16,10
1%	36	27	9	40*	15,20	16,10
1,5%	38	25	13	30*	15,10	15,90
2%	39	26	13	30*	15,00	15,90
3%	51	38	13	40*	15,70	15,00
6%	56	38	18	40*	16,70	12,00*

Valores médios de cinco repetições.

\*Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

\*\*Indica diferença significativa em relação ao controle pelo teste LSD ( $p \leq 0,05$ ).

## 5 CONCLUSÕES

Não se recomenda 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. Uma vez que os resultados indicam que esses afetam negativamente os organismos edáficos da meso e macrofauna tanto em curto (ensaios de fuga), quanto em longo prazo (ensaios de reprodução). Afinal efeitos tóxicos foram detectados já na dose de 0,25% para a reprodução de enquitreídeos (em SAT) e colêmbolos (solo natural acrescido de resíduo do Secador). E na dose de 0,5% para a reprodução de colêmbolos (solo natural acrescido de resíduo da Centrífuga) e fuga de minhocas (ambos os materiais de solo e resíduos). Eles devem, portanto, continuarem restritos às áreas destinadas a adequada disposição (descarte).

Os ensaios de fuga e reprodução mostraram-se sensíveis e adequados na determinação do comprometimento das funções de *habitat* e, conseqüentemente, e da função desempenhada por esses organismos no ambiente.

A mortalidade não foi o parâmetro mais sensível na avaliação da ecotoxicidade dos resíduos de perfuração.

Considerando as concentrações efetivas obtidas para reprodução, o resíduo do Secador foi mais tóxico que o resíduo da Centrífuga.

O milho mostrou-se mais sensível que o feijão caupi ao estresse salino e à ação dos demais constituintes dos resíduos, em ambos os materiais de solo, durante a germinação e a emergência.

De modo geral, a sensibilidade do feijão caupi aumentou em sua fase vegetativa, o que afetou negativamente a massa seca de raiz, a massa seca de parte aérea e a altura de parte aérea.

O estudo qualitativo de nódulos mostrou-se um *endpoint* sensível e adequado à avaliação ecotoxicológica de resíduos de perfuração contendo sódio.

Confrontados com os registros literários, os resíduos de perfuração foram mais tóxicos, pois em menores concentrações salinas, valores de condutividade elétrica, ou concentrações efetivas afetaram os *endpoints* considerados em cada ensaio, devido aos efeitos aditivos de demais constituintes dos resíduos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

À medida que os resíduos são diluídos com o solo natural ou o SAT, e assim o efeito do NaCl diminui, é possível que a toxicidade de alguns elementos se torne mais pronunciada. Não se pode descartar, inclusive, o efeito de substâncias não analisadas. Os resultados mostram que determinadas doses apresentam um efeito positivo sobre o crescimento de plantas, o que corrobora o que foi reportado por outros autores para o uso agrícola destes resíduos, porém o presente trabalho mostrou que efeitos tóxicos podem ocorrer para a fauna edáfica mesmo em baixas doses, o que pode levar ao comprometimento da função de *habitat* do solo para estes organismos e à perda tanto da biodiversidade, quanto de serviços ecossistêmicos importantes em áreas agrícolas (ciclagem de nutriente; fertilidade do solo; estrutura da comunidade com impactos sobre a cadeia trófica – os organismos servem de alimento a outros) ao longo destas aplicações, o que precisa ser melhor estudado.

Ressalta-se que a avaliação das funções de retenção do solo não foi contemplada neste estudo; recomenda-se, em estudos futuros, a execução de ensaios de ecotoxicidade aquática com organismos representantes dos diferentes níveis tróficos (bactérias, cladóceros, peixes, algas e plantas aquáticas, dentre outros) de forma a aumentar a confiabilidade, a abrangência e a relevância ecológica da avaliação ecotoxicológica dos resíduos de perfuração de poços de petróleo em terraport englobar diversos nichos tróficos (produtores primários, consumidores primários e consumidores secundários) em ecossistemas distintos (terrestre e aquático); recomendação que se deve às diferenças de sensibilidade de cada espécie frente ao xenobiótico.

Recomenda-se também em estudos futuros que ao final dos ensaios com organismos terrestres, seja feita a caracterização química dos materiais de solo, o que indicaria – no caso de misturas complexas como os resíduos de perfuração – que elementos encontram-se biodisponíveis após a ação dos organismos-teste, elucidaria quais os atores coadjuvantes responsáveis pelos efeitos aditivos, isto é, pela intensificação dos efeitos negativos promovidos pelo alvo inicial (“constituente-problema”) do estudo.

As respostas obtidas neste estudo com resíduos contrariaram o paradigma, enraizado em ecotoxicologia, de que as concentrações de qualquer substância testada gerem curvas com relação monotônica, isto é, quanto maiores às concentrações, maiores os efeitos observados. Implicando que, no caso de se trabalhar com misturas complexas, a resposta nem sempre se adequa à curva concentração-resposta tradicional (que são a base para as equações de regressão), pois podem ocorrer efeitos mais intensos em pequenas concentrações. Infere-se então que o modelo tradicional pressupõe que os contaminantes e o ambiente são iguais (substâncias puras e ambiente simples), ignorando que ambos são fontes de variação, especialmente quando se compreende que a atividade dos organismos pode alterar a disponibilidade dos contaminantes, assim como a presença do contaminante modifica a matriz do solo, o que reflete em seu modo de ação.

Outras técnicas estatísticas, além das estabelecidas nos protocolos, podem e devem ser usadas garantindo a determinação das concentrações efetivas (fuga, crescimento, reprodução),

pois conforme discutido neste trabalho os modelos difundidos não foram eficientes para todas as avaliações do resíduo. As normas ISO 16387 (2003) e NBR ISO 16387 (ABNT, 2012) trazem em seus anexos um fluxograma com os passos estatísticos a serem seguidos para a determinação das concentrações de efeito (CEO e CENO) em que surge a questão da relação monotônica. Entretanto, o caminho para o desenvolvimento de modelos que melhor se adequem e expressem os resultados de substâncias não puras ainda é longo, considerando que estudos com resíduos (toxicidade de misturas) são incipientes. Assim, maiores estudos são requeridos para que haja o aprofundamento à crítica dos modelos matemáticos aplicados em ecotoxicologia, principalmente quando se pensa na gama de misturas complexas existentes, e emergentes, que devem ser caracterizadas quanto à toxicidade aos sistemas naturais.

Diante dos resultados obtidos com o estudo qualitativo da nodulação do feijão caupi, seu uso em estudos futuros e o desenvolvimento de um protocolo específico apresentam-se promissores. Para garantir a inclusão desta proposição em diretrizes de ensaios ecotoxicológicos é necessário, no entanto, testar diversos xenobióticos, em diferentes ambientes, em solos natural e artificial, ou artificial tropical, visando à formação de um banco de dados que permita a comparação, ou até mesmo a extrapolação, dos resultados. Deste modo, comprova-se que estes ensaios são sensíveis e capazes de garantir uma maior robustez às avaliações de risco ecológico, considerando ensaios com plantas terrestres. Podem-se sugerir duas abordagens: a avaliação da nodulação espontânea, como feito neste estudo; ou a inoculação dos tratamentos, pois assim a inibição ou supressão da nodulação, que altera a estrutura populacional de outros organismos ao longo da cadeia trófica e impacta processos vitais como a decomposição de matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes (MOREIRA et al., 2010), podem ser mensuradas e comparadas ao controle.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOT, J.; GUIJT, I. Novas visões sobre mudança ambiental: abordagens participativas de monitoramento. Rio de Janeiro: AS-PTA, 96p., 1999.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10004, Classificação de resíduos. Rio de Janeiro-RJ: ABNT, 71p., 2004.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10005, Lixiviação de resíduos. Rio de Janeiro-RJ: ABNT, 16p., 2004.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 15537. Ecotoxicologia terrestre. Ecotoxicidade aguda. Método de ensaio para minhocas. Rio de Janeiro-RJ: ABNT, 11p., 2007.
- 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-RJ: ABNT, 18p., 2011.
- 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-RJ: ABNT, 26p., 2011.
- 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-RJ: ABNT, 29p., 2012.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10006, Solubilidade de resíduos. Rio de Janeiro-RJ: ABNT, 3p., 2004.
- ADAMS, K. T.; PHILLIPS, P. S.; MORRIS, J. R. A radical new development for sustainable waste management in the UK: the introduction of local authority best value legislation. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 30, p. 221-244, 2000.
- AL-ANSARY, M. S.; AL-TABBAA, A. Stabilisation/solidification of synthetic petroleum drill cuttings. *Journal of Hazardous Materials*, v. 141, n. 2, p. 410-421, 2007.
- ALEXANDER, M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology*, v. 34, n. 20, p. 4259-4265, 2000.
- ALSHAMMARY, S. F.; QIAN, Y. L.; WALLNER, S. J. Growth response of four turfgrass species to salinity. *Agriculture Water Management, California*, v. 66, n. 2, p. 97-111, 2004.
- ALVARO, T. T.; CESAR, R. G.; POLIVANOV, H. EGLER, S. G. Avaliação ecotoxicológica de solos tropicais tratados com lodo de esgoto utilizando bioensaios com organismos aquáticos. In: XVIII Jornada de Iniciação Científica, Rio de Janeiro – RJ. Anais... Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010. Disponível em: <[http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie\\_anais\\_XVIII\\_jic\\_2010/Thiago\\_Alvaro.pdf](http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie_anais_XVIII_jic_2010/Thiago_Alvaro.pdf)>. Acesso em: 31 mar. 2013.
- AMIRJANI, M. R. Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany*, v. 7, n. 1, p. 73-81, 2011.

- AMORIM, M. J. B.; RÖMBKE, J.; SCHALLNAB, H. J.; SOARES, A. M. V. M. Effect of soil properties and aging on the toxicity of copper for *Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus luxuriosus*, and *Folsomia candida*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 24, n. 8, p. 1875-1885, 2005a.
- AMORIM, M. J. B.; RÖMBKE, J.; SOARES, A. M. V. M. Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of benomyl, carbendazim, phenmedipham and different soil types. *Chemosphere*, v. 59, n. 4, p. 501-510, 2005b.
- ANDRADE, J. R.; MAIA JUNIOR, S. O.; SILVA, P. F.; BARBOSA, J. W. S., NASCIMENTO, R.; SOUSA, J. S. Crescimento inicial de genótipos de feijão caupi submetidos a diferentes níveis de água salina. *Revista Agropecuária Científica no Semiárido*, v. 9, n. 4, p. 38-43, 2013.
- ANDRÉA, M. M. Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos. São Paulo: Instituto Biológico, 2008. (Instituto Biológico. Comunicado Técnico, 83). Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/artigos\\_ok.php?id\\_artigo=83](http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=83)>. Acesso em: 04 set. 2009.
- ANHOLT, B. R. How should we test for the role of behavior in populations dynamics. *Evolutionary Ecology*, v. 11, n. 6, p. 633-640, 1997.
- ARTIGAS, J.; ARTS, G.; BABUT, M.; CARACCILO, A. B.; CHARLES, S.; CHAUMOT, A.; COMBOURIEU, B.; DAHLLÖF, I.; DESPRÉAUX, D.; FERRARI, B.; FRIBERG, N.; GARRIC, J.; GEFFARD, O.; GOURLAY-FRANCÉ, C.; HEIN, M.; HJORTH, M.; KRAUSS, M.; de LANGE, H. J.; LAHR, J.; LEHTONEN, K. K.; LETTIERI, T.; LIESS, M.; LOFTS, S.; MAYER, P.; MORIN, S.; PASCHKE, A.; SVENDSEN, C.; USSEGLIO-POLATERA, P.; van den BRINK, N.; VINDIMIAN, E.; WILLIAMS, R. Towards a renewed research agenda in ecotoxicology. *Environmental Pollution*, v. 160, p. 201-206, 2012.
- AVELLAR, I. G. J.; COTTA, T. A. P. G.; NEDER, A. V. F. Mobilidade de compostos orgânicos em solo artificial – um experimento de cromatografia de coluna “dry-flash”. In: XV Encontro Nacional de Ensino de Química (XV Eneq), 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Brasília-DF, Brasil – 21 a 24 de julho de 2010. Disponível em: <<http://www.xvneq2010.unb.br/resumos/R0805-1.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2012.
- AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. A qualidade da água na agricultura. 2. ed. Campina Grande: UFPB. 153 p., 1999. (Estudos da FAO Irrigação e Drenagem, 29)
- AZEVEDO NETO, A. D.; TABOSA, J. N. Estresse salino em plântulas de milho: parte I: análise de crescimento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 4, n. 2, p. 154-164, 2000.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. As bases toxicológicas da ecotoxicologia. Azevedo, F.A. e Chasin, A.A.M. (Eds.) RiMa/InterTox, São Carlos/São Paulo. 340 p., 2003.
- BAI, R.; SUTANTO, M. The practice and challenges of solid waste management in Singapore. *Waste Management*, v. 22, p. 557-567, 2002.
- BARD, S.M. Ecotoxicology: The focal topics. *Encyclopedia of Ecology*, p. 1194-1195, 2008.
- BARNES, R. D. Zoologia dos invertebrados. 4 ed. São Paulo: Rocca, 1179p., 1984.
- BEAUDOUX, E.; DOUXCHAMPS, F.; CROMBRUGGHE, G.; GUENEAU, M.-C.; NIEUWKERK, M. Guia metodológica de apoyo a proyectos y acciones para el desarrollo: De la intensificación a la evaluación. La Paz. Bolivia: Huellas, 197p. 1993.
- BELLINGER, P. F.; CHRISTIANSEN, K. A.; JANSSENS, F. Checklist of the Collembola of the world. Disponível em: <<http://www.collembola.org>>. Acesso em: 29 fev. 2012.

BEZERRA, A. K. P.; LACERDA, C. F.; HERNANDEZ, F. F. F.; SILVA, F. B.; GHEYI, H. R. Rotação cultural feijão caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 40, n. 5, p. 1075-1082, 2010.

BIANCHI, M. O. Ensaio ecotoxicológico como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo. 2013. xxf. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ.

BLANCO, F. F.; FOLEGATTI, M. V.; GHEYI, H. R.; FERNANDES, P. D. Growth and yield of corn irrigated with saline water. *Scientia Agrícola*, Piracicaba – SP, v. 65, n. 6, p. 574-580, 2008.

BRIGHT, D. A.; ADDISON, J. Derivation of matrix soil standards for salt under the British Columbia contaminated sites regulation. Addendum A: technical options analysis for a soil chloride standard for drinking water protection (Aesthetic). Report to the British Columbia Ministry of Water, land, and Air Protection, Ministry of Transportation and Highways, British Columbia Buildings Corporation, and the Canadian Association of Petroleum Producers. 201 p., 2002.

BROLLO, M. J.; SILVA, M. M. Política e gestão ambiental em resíduos sólidos. Revisão e análise sobre a atual situação no Brasil. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, João Pessoa – PB, 2001.

BURTON JR, G. A.; GREENBERG, M. S.; ROWLAND, C. D.; IRVINE, C. A.; LAVOIE, D. R.; BROOKER, J. A.; MOORE, L.; RAYMER, D. F. N. e MCWILLIAM, R. A. *In situ* exposures using caged organisms: a multi-compartment approach to detect aquatic toxicity and bioaccumulation. *Environmental Pollution*, v. 134, p. 133-134, 2005.

CABRAL, E. Considerações sobre resíduos sólidos. Disciplina de Gestão de Resíduos Sólidos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – PGTGA. Disponível em: <[http://www.deecc.ufc.br/Download/Gestao\\_de\\_Residuos\\_Solidos\\_PGTGA/CONSIDERAC\\_OES\\_SOBRE\\_RESIDUOS\\_SOLIDOS.pdf](http://www.deecc.ufc.br/Download/Gestao_de_Residuos_Solidos_PGTGA/CONSIDERAC_OES_SOBRE_RESIDUOS_SOLIDOS.pdf)>. Acesso em: 29 mar. 2013.

CALVET, S. F.; PINTO, C. M.; LIMA, R. E. M.; MAIA-JOCA, R. P. M.; BEZERRA, M. A. Crescimento e acumulação de solutos em feijão-de-corda irrigado com águas de salinidade crescente em diferentes fases de desenvolvimento. *Revista Irriga*, Botucatu – SP, v. 18, n. 1; p.148-159, 2013.

CARMONA, F. C.; ANGHINONI, I.; WEBER, E. J. Salinidade da água e do solo e seus efeitos sobre o arroz irrigado no Rio Grande do Sul. Cachoeirinha – RS: IRGA/Estação Experimental do Arroz, Divisão de Pesquisa/Seção de Agronomia, 2011. (Boletim Técnico, 10)

CASTRO-FERREIRA, M. P.; ROELOFS, D.; van GESTEL, C. A. M.; VERWEIJ, R. A.; SOARES, A. M. V. M.; AMOR, M. J. B. *Enchytraeus crypticus* as model species in soil ecotoxicology. *Chemosphere*, v. 87, n. 11, p. 1222-1227, 2012.

CAVALCANTI, J. E. A década de 90 é dos resíduos sólidos. *Revista Saneamento Ambiental*, n. 54, p. 16-24, 1998.

CETESB – COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Relatório Estabelecimento de Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo: CETESB; 2001. Disponível em: <[http://www.CETESB.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela\\_valores\\_2005.pdf](http://www.CETESB.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf)>. Acesso em: 24 nov. 2012.

CETESB– COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2005, em substituição aos Valores Orientadores de 2001, e dá outras providências. Decisão de Diretoria Nº 195-2005- E, de 23 de novembro de 2005: CETESB, 2005.

CHAN, K. Y. An overview of some tillage impacts of earthworm population abundance and diversity implications for functioning in soils. *Soil and Tillage Research*, v. 57, n. 4, p. 179-191, 2001.

CHAPMAN, P. M.; POWER, E. A.; BURTON JR, G. A. Integrated assessments in aquatic ecosystems. In: G. A. BURTON (ed.), *Sediment toxicity assessment*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 1992.

CHASIN, A. A. M.; PEDROZO, M. F. M. O estudo da toxicologia. In: *As bases toxicológicas da ecotoxicologia*. AZEVEDO, F. A. e CHASIN, A. A. M. (Eds.) RiMa/InterTox, São Carlos/São Paulo, 340p., 2004.

CHHABRA, R. Soil salinity and water quality. Rotterdam: A. A. Balkema Publishers, Old Post Road, Brookfield, USA, 284p., 1996. Disponível em: <[http://books.google.com.br/books?id=Eb3enCXYB5wC&pg=PA156&lpg=PA156&dq=Soil+salinity+and+water+quality.&source=bl&ots=0QDZK5j87V&sig=91f9siUpnRMHBBc97Eb2aXsl9Dg&hl=pt&sa=X&ei=3SpcUfGtAqT40gGp94D4Cw&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Soil%20salinity%20and%20water%20quality.&f=false](http://books.google.com.br/books?id=Eb3enCXYB5wC&pg=PA156&lpg=PA156&dq=Soil+salinity+and+water+quality.&source=bl&ots=0QDZK5j87V&sig=91f9siUpnRMHBBc97Eb2aXsl9Dg&hl=pt&sa=X&ei=3SpcUfGtAqT40gGp94D4Cw&redir_esc=y#v=onepage&q=Soil%20salinity%20and%20water%20quality.&f=false)>. Acesso em: 03 jan. 2013.

CONAMA –CONSELHONACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/>>. Acesso em: 07 fev. 2011.

CROUAU, Y.; CAZES, L. What causes variability in the *Folsomia candida* reproduction test? *Applied Soil Ecology*, v. 22, n. 2, p. 175-180, 2003.

CROUAU, Y.; MOÏA, C. The relative sensitivity of growth and reproduction in the springtail, *Folsomia candida*, exposed to xenobiotics in the laboratory: an indicator of soil toxicity. *Ecotoxicological and Environmental Safety*, v. 64, n. 2, p. 115-121, 2006.

CULIK, M. P.; SOUSA, J. L. de; VENTURA, J. A. Biodiversity of Collembola in tropical agricultural environments of Espírito Santo, Brasil. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 49-58, 2002.

CULIK, M. P.; ZEPPELINI FILHO, D. Diversity and distribution of Collembola (Arthropoda: Hexapoda) of Brazil. *Biodiversity and Conservation*, v. 12, p. 1119-1143, 2003.

CUTZ-POOL, L. Q.; PALACIOS-VARGAS, J. G.; CASTAÑO-MENESES, G.; GARCÍA-CALDERÓN, N.E. Edaphic Collembola from two agroecosystems with contrasting irrigation type in Hidalgo State, México. *Applied Soil Ecology*, v. 36, p. 46-52, 2007.

DANTAS, J. P. MARINHO, F. J. L.; FERREIRA, M. M. M.; AMORIM, M. S. N.; ANDRADE, S. I. O.; SALES, A. L. Avaliação de genótipos de caupi sob salinidade. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande – PB, v. 6, n. 3, p. 425-430, 2002.

DEMUELENAERE, R. G. A. Caracterização de propriedades de transporte de metais pesados em solos residuais do Rio de Janeiro. 2004. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ.

- 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. In: 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. 2004.
- DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. Expressão Gráfica e Editora, Fortaleza – CE, INCT Sal, 472p., 2010. Disponível em: <[http://www.inctsal.com.br/livro\\_salinidade.html](http://www.inctsal.com.br/livro_salinidade.html)>. Acesso em: 11 mar. 2013.
- DIDDEN, W. A. M. Ecology of terrestrial Enchytraeidae. *Pedobiologia*, Jena, v. 37, p. 2-29, 1993.
- 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 its use in soil ecotoxicology testing. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 30, n. 7, p. 1497-1505, 2011.
- DORAN, J. W., LIEBIG, M. A., SANTANA, D. P. Soil health and global sustainability. In: Proceedings of the 16th World Congress of Soil Science. Montpellier, France, 20-26 August, 1998.
- DORAN, J. W.; ZEISS, M. R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 15, n. 1, p. 3-11, 2000.
- EDWARDS, C. A.; BOHLEN, P. J. Biology and ecology of earthworms. 3 ed. London: Chapman and Hall, London, 440p., 1996.
- EDWARDS, C. A.; BOHLEN, P. J.; LINDER, D. R.; SUBLER, S. Earthworms in agroecosystems. In: HENDRIX, P. F. (Ed.). Earthworm ecology and biogeography in North America. Boca Raton: CRC, p. 185-213, 1995.
- EIGHMY, T. T.; KOSSON, D. S. USA national overview on waste management. *Waste Management*, v. 16, n. 5-6, p. 361-366, 1996.
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual de métodos de análises de solo. 2ª Ed., Rio de Janeiro, Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 212p., 1997.
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3ª Ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 353p., 2013.
- ENVIRONMENT CANADA. Biological test method: test for measuring emergence and growth of terrestrial plants exposed to contaminants in soil. Method Development and Applications Section. Environmental Technology Centre - EPS 1/RM/45,131p., 2005. (Environmental Protection Series)
- FAM, M. A.; DUSSEAULT, M. B.; FOOKS, J. C. Drilling in mudrocks: rock behavior issues. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 38, p.155-166, 2003.
- FASSBENDER, H. W.; BORNEMISZA, E. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. San José – Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 420p., 1987.
- FILSER, J.; WIEGMANN, S.; SCHRÖDER, B. Collembola in ecotoxicology – any news or just boring routine? *Applied Soil Ecology*, v. 83, p. 193-199, 2014.

- FISCHER, E.; MOLNAR, L. Growth and reproduction of *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) in semi-natural soil containing various metal chlorides. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 29, n. 3-4, p. 667-670, 1997.
- FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. *Folsomia candida* (Collembola): a “standard” soil arthropod. *Annual Review of Entomology*, v. 50, p. 201-222, 2005.
- FURTADO, G. D. Efeito da salinidade e da temperatura na germinação e vigor de plântulas de duas cultivares de milho pipoca (*Zea mays* ssp. *verta*). 1998. 92 f. Dissertação (Mestrado em Conservação do Solo e Água) – Universidade Federal da Paraíba, Areia – PB.
- GANGHIS, D.; ALARSA, M.; TRENTINI, S. Alternativa para a destinação final de cascalho de perfuração de poços de petróleo *on shore* gerados no Nordeste do Brasil. In: I Congresso Internacional de Meio Ambiente Subterrâneo, 2009. Disponível em: <<http://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/21961/14330>>. Acesso em: 08 nov. 2013.
- GARCIA, G. O.; FERREIRA, P. A.; MIRANDA, G. V.; OLIVEIRA, F. G.; SANTOS, D. B. Índices fisiológicos, crescimento e produção do milho irrigado com água salina. *Revista Irriga*, Botucatu – SP, v. 12, n. 3, p. 307-325, 2007.
- GARCIA, M. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. *Ecology and Development Series*, nº. 19, 290 f., 2004. Universidade de Bonn, Alemanha. Disponível em: <[http://www.zef.de/fileadmin/webfiles/downloads/zefc\\_ecology\\_development/ecol\\_dev\\_19\\_t\\_ext.pdf](http://www.zef.de/fileadmin/webfiles/downloads/zefc_ecology_development/ecol_dev_19_t_ext.pdf)>. Acesso em: 08 nov. 2012.
- GARCIA, R. L. P.; VAQUEIRO, R. L. C. Viabilidade da aplicação das tecnologias land treatment, dilution burial e road spreading para disposição/remediação de cascalho de perfuração na UN-BA. Rio de Janeiro: Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo A. Miguez de Mello, 2001. (Comunicação técnica, CT BIO 88/2001).
- GOLDEMBERG, J.; VILLANUEVA, L. D. Energia, meio Ambiente e desenvolvimento. 2 ed. Rev. – São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 232p., 2003.
- GONDIM, F. A.; GOMES-FILHO, E.; MARQUES, E. C.; TARQUINIO-PRISCO, J. Efeitos do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no crescimento e acúmulo de solutos em plantas de milho sob estresse salino. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza – CE, v. 42, n. 2, p. 373-381, 2011.
- GOUIA, H.; GHORBAL, M. H.; TOURAINE, B. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO<sub>3</sub> reduction rate within whole plants salt sensitive bean and salt tolerant cotton. *Plant Physiology*, Rockville, v. 105, n. 4, p. 1409-1418, 1994.
- GREENSLADE, P.; VAUGHAN, G. T. A comparison of Collembola species for toxicity testing of Australian soils. *Pedobiologia*, v. 47, n. 2, p. 171-179, 2003.
- GRUE, C. E.; GARDNER, S. C.; GIBERT, P. L. On the significance of pollutant-induced alterations in the behavior of fish and wildlife. Pp. 1-90. In: G. Dell’Omo (ed.). *Behavioral Ecotoxicology*. John Wiley & Sons, LTD. ISBN 0-471-96852-8, 2002.
- GUIMARÃES, A. A.; JARAMILLO, P. M. D.; NÓBREGA, R. S. A.; FLORENTINO, L. A.; SILVA, K. B.; MOREIRA, F. M. S. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen-fixing bacteria isolated from agricultural soils in the Western Amazon by using cowpea as the trap plant. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 78, n. 18, p. 6726-6733, 2012.

GUZYTE, G.; SUJETOVIENE, G.; ZALTAUSKAITE, J. Effects of salinity on earthworm (*Eisenia fetida*). Environmental Engineering. In: The 8th International Conference, Vilnius, Lithuania. May 19-20, 2011.

HARTENSTEIN, R.; NEUHAUSER, E.; HARAHAARA, A. Effects of heavy metals and elemental additives to activated sludge on growth of *Eisenia fetida*. Journal of Environmental Quality, v. 10, n. 3, p. 372-376, 1981.

HENRY, J. L.; JOHNSON, W. E. The nature and management of salt-affected soils in Saskatchewan. Saskatoon: University of Saskatchewan, 26p., 1977 (revisado em 2008). Disponível em: <<http://www.agriculture.gov.sk.ca/Default.aspx?DN=2d20bb89-4290-4eea-b265-dfd3a155cc51>>. Acesso em: 03 jan. 2013.

HINTON, J. Earthworms as a bioindicator of mercury pollution in an artisanal gold mining community, Cachoeira do Piriá, Brazil. Thesis.(B. A. S. C. Geological Engineering) – University of British Columbia, Vancouver, 1999.

HJELMAR, O. Waste management in Denmark. Waste Management, v. 16, n. 5-6, p. 389-394, 1996.

HUND-RINKE, K.; WIECHERING, H. Earthworm avoidance test for soil assessment. Journal of Soils and Sediments, v. 1, n. 1, p. 15-20, 2001.

IMAGE TOOL 3.0 for Windows. *Software* UTHSCSA. Department of dental diagnostic science at the University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas.

IRVINE, S. A.; REID, D. J. Field prediction of sodicity in dryland agriculture in Central Queensland, Australia. Australian Journal of Soil Research, v. 39, n. 6, p. 1349-1357, 2001.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality – Avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behavior - Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Switzerland: Geneva, ISO 17512-1, 2007.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality – Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia andrei*). Part 2. Determination of Effects on Reproduction. Switzerland: Geneva, ISO 11268-2, 1993.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality – Effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.). Determination of effects on reproduction and survival. Switzerland: Geneva; ISO 16387, 2003.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality – Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. Switzerland: Geneva, ISO 11267, 1998.

IWAY, C. B.; OO, A. N.; TOPARK-ngarm, B. Soil property and microbial activity in natural salt affected soils in an alternating. Geoderma, v. 189-190, s. n., p. 144-152, 2012.

JÄNSCH, S; RÖMBKE, J.; DIDDEN, W. The use of enchytraeids in ecological soil classification and assessment concepts. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 62, n. 2, p. 266-277, 2005.

KADUKOVA, J.; KALOGERAKIS, N. Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Bunge. European Journal of Soil Biology, v. 43, n. 4, p. 216-223, 2007.

KERR, M.; STEWART, A. J. Tolerance test for *E. fetida* with sodium chloride. Journal of Undergraduate Research, v. 3, p. 21-25, 2003.

- KESHAVARZ, P.; MALAKOUTI, M. J.; KARIMIAN, N.; FOTOVAT, A. The effects of salinity on extractability and chemical fractions of zinc in selected calcareous soils of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, v. 8, n. 2, p. 181-190, 2006.
- KIEHL, E. J. Fertilizantes orgânicos. Piracicaba - SP: Editora Agronômica Ceres, 492p., 1985.
- KIMBERLING, D. N.; KARR, J. R.; FORE, L. S. Measuring human disturbance using terrestrial invertebrates in the shrub-steppe of eastern Washington (USA). *Ecological Indicators*, v. 1, n. 2, p. 63-81, 2001.
- KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ, 289p., 2004.
- LAUCHI, A.; EPSTEIN, E. Mechanisms of salt tolerance in plants. *California Agriculture*, v. 38, n. 10, p. 18-21, 1984.
- LEE, K. E. Earthworms: their ecology and relationships with soil and land use. Academic Press, Sydney, 411p., 1985.
- LEITE, J.; SANTOS, M. M.; SANTOS, N. T.; OLIVEIRA, W. S.; MALHEIROS, M. G.; SANTOS, E. E. F.; MARTINS, L. M. V. Nodulação em feijão-caupi sob estresse salino em Neossolo Flúvico. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 4, n. 2, 2009.
- LEVY, D. B.; BARBARICK, K. A.; SIEMER, E. G.; SOMMERS, L. E. Distribution and partitioning of trace metals in contaminated soil near Leadville, Colorado. *Journal of Environmental Quality*, v. 21, n. 2, p. 185-195, 1992.
- LIMA, C. G. S.; OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; OLIVEIRA, M. K. T.; ALMEIDA JÚNIOR, A. B. Resposta do feijão caupi a salinidade da água de irrigação. *Revista Verde*, v. 2, n. 2, p. 79-86, 2007.
- LIMA, J. S. Bioindicação em ecossistemas terrestres. Bioindicação, biomonitoramento: Aspectos bioquímicos e morfológicos. *Techhoje*. Disponível em: <[http://www.techhoje.com.br/site/techhoje/categoria/detalhe\\_artigo/173](http://www.techhoje.com.br/site/techhoje/categoria/detalhe_artigo/173)>. Acesso em: 03 mar. 2012.
- LIPPI, D.; de PAOLIS, M. R.; di MATTIA, E.; GREGO, S.; PIETROSANTI, T.; CACCIARI, I. Effect of salinity on growth and starvation-survival of a tropical *Rhizobium strain*. *Biology and Fertility of Soils*, v. 30, n. 4, p. 276-283, 2000.
- LIU, X.; CHENGXIAO, H.; ZHANG, S. Effects on earthworms activity on fertility and heavy metals bioavailability in sewage sludge. *Environment International*, Amsterdam, v. 31, n. 6, p. 874-879, 2005.
- LOCK, K.; JANSSEN, C. R. Cadmium toxicity for terrestrial invertebrates: taking soil parameters affecting bioavailability into account. *Ecotoxicology*, v. 10, n. 5, p. 315-322, 2001a.
- LOCK, K.; JANSSEN, C. R. Ecotoxicity of mercury to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus* and *Folsomia candida*. *Biology and Fertility of Soils*, v. 34, n. 4, p. 219-221. 2001b.
- LOCK, K.; JANSSEN, C. R. Influence of aging on metal availability in soils. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 178, p. 1-21, 2003.
- LUTINSKI, J. A.; GARCIA, F. R. M. Análise faunística de Formicidae (Hymenoptera: Apocrita) em ecossistema degradado no município de Chapecó, Santa Catarina, 73p., 2005.

MACÊDO, C. E. C.; BARROSO, P. A. V.; MOURA, G. E. D. D.; ALLOUFA, M. A. I. Efeito do NaCl sobre o crescimento e a multiplicação *in vitro* de bananeira. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal – SP, v. 27, n. 2, p. 194-197, 2005.

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 fetida*. 2012. 134f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ.

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

MAGALHÃES, M. O. L. Dinâmica do bário em solos contaminados por resíduos oriundos da perfuração de poços de petróleo. 2011. 163f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ.

MARCUCELLA, H.; ABRAMSON, C. I. Behavioral toxicology and teleost fish. Pp. 33-77. In: D. J. Mostofsky (ed.), The behavior of fish and other aquatic animals. Academic Press, London, UK. 393p., 1978.

MEDEIROS, P. R. F.; SILVA, E. F. F.; DUARTE, S. N. Salinidade em ambiente protegido. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. Expressão Gráfica e Editora, Fortaleza – CE, INCT Sal, 472 p., 2010. Disponível em: <[http://www.inctsal.com.br/livro\\_salinidade.html](http://www.inctsal.com.br/livro_salinidade.html)>. Acesso em: 11 mar. 2013.

MEDEIROS, R.; SANTOS, V.; ARAÚJO, A.; OLIVEIRA FILHO, C. Estresse salino sobre a nodulação em feijão-caupi. Revista Caatinga, Mossoró - RN, v. 21, n.5 (número especial), p. 202-206, 2008.

MEINICKE, A. C. As minhocas. Ponta Grossa: Copersul e Clube da Minhoca-PR, 124p. 1983.

MELO, L. C. A.; SILVA, C. A. Influência de métodos de digestão e massa de amostra na recuperação de nutrientes em resíduos orgânicos. Química Nova, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 556-561, 2008.

MELO, S. R.; ZILLI, J. É. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília - DF, v. 44, n. 9, p. 1177-1183, 2009.

MELTON, H. R.; SMITH, J. P.; MARTIN, C. R.; NEDWED, T. J.; MAIRS, H. L., RAUGHT, D. L. Offshore discharge of drilling fluids and cuttings – a scientific perspective on public policy. Rio oil and gas expo and conference. Boletim do Instituto Brasileiro do Petróleo; IBP 44900, p. 1-13, 2000.

MITCHELL, G. Problems and Fundamentals of Sustainable Development Indicators, 1997. Disponível em: <<http://www.lec.leeds.ac.uk/people/gordon.html>>. Acesso em: 13 jul. 2001.

MORALES, M. A.; OLMOS, E.; TORRECILLAS, A.; ALARCON, J. J. Differences in water relations, leaf ion accumulation and excretion rates between cultivated and wild species of *Limonium* sp. grown in conditions of saline stress. Flora, Jena, v. 196, n. 5, p. 345-352, 2001.

- MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, Logan, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.
- MUNNS, R.; TERMAAD, A. Whole-plant responses to salinity. *Journal Plant Physiology*, Rockville, v. 13, n. 1, p. 143-160, 1986.
- NAHMANI, J.; HODSON, M. E.; BLACK, S. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution*, Amsterdam, vol. 145, n. 2, p. 402-424, 2007.
- NEUHAUSER, E. F.; LOEHR, R. C.; MILLIGAN, D. L.; MALECKI, M. R. Toxicity of metals to the earthworms *Eisenia foetida*. *Biology and Fertility of Soils*, Berlin, v. 1, n. 1, p. 149-152, 1985.
- NEWMAN, M. C. Ecotoxicology: The history and present directions. *Encyclopedia of Ecology*, p. 1195-1201, 2008.
- NIST – NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Office of standard reference materials addendum to certificate 2782: Certificate of analysis, Standard Reference Material® 2782 – Industrial Sludge, 1998.
- NIVA, C. C.; VIEIRA, B.; MOSKVEN, D.; BROWN, G. G. O uso de enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta) em ensaios ecotoxicológicos no Brasil. In: II Reunião Paranaense de Ciência do Solo, Curitiba – PR, 2011.
- NOBLE, C. L.; ROGERS, M. E. Arguments for the use of physiological criteria for improving the salt tolerance in crops. *Developments in Plant and Soil Sciences*, v. 50, p. 127-135, 1993.
- NOVAIS, S.; AMORIM, M. J. B.; RÖMBKE, J.; SOARES, A. M. V. M. Testes de evitamento com enquitraídeos (*Enchytraeus albidus*): efeitos de diferentes tempos de exposição, compostos químicos e propriedades do solo. *Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos*, v. 1, n. 1, p. 104-112, 2009.
- OECD – Organization for Economic Cooperation and Development – Guia para Testes Químicos n. 207: teste agudo de toxicidade com minhocas. Paris: OECD – 1984.
- OECD – Organization for Economic Cooperation and Development – Guideline 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. Paris: OECD – 2006.
- OLIVEIRA, J. B. Pedologia aplicada. Jaboticabal: FUNEP, 414p., 2001.
- OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J. Avoidance behavior of two eco-physiologically different earthworms (*Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*) in natural and artificial saline soils. *Chemosphere*, v. 75, n. 3, p. 279-283, 2009.
- OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J. Effects of natural (flooding and drought) and anthropogenic (copper and salinity) stressors on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* under field conditions. *Applied Soil Ecology*, v. 44, n. 2, p. 156-163, 2010.
- OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J.; ROZANOV, A. B. Effects of salinity on partitioning, uptake and toxicity of zinc in the earthworm *Eisenia fetida*. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 40, n. 9, p. 2385-2393, 2008.
- OWOJORI, O. J.; REINECKE, A. J.; ROZANOV, A. B. The combined effects of salinity and copper on the earthworms *Eisenia fetida*. *Applied Soil Ecology*, v. 41, n. 3, p. 277-285, 2009a.

- 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* e *Aporrectodea caliginosa*). *Pedobiologia*, v. 52, n. 6, p. 351-360, 2009b.
- PARKPIAN, P.; LEONG, S. T.; LAORTANAKUL, P. A.; TOROTORO, J. L. Influence of salinity and acidity on bioavailability of sludge-borne heavy metals: a case study of Bangkok municipal sludge. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 139, n. 1-4, p. 43-60, 2002.
- PIRES, A. M. M.; MATTIAZZO, M. E. Avaliação da viabilidade do uso de resíduos na agricultura. Jaguariúna – SP: Embrapa Meio Ambiente, 9p., 2008. (Embrapa-CNPMA, Circular Técnica, 19)
- PONGE, J. F.; GILLET, S.; DUBS, F.; FEDOROFF, E.; HAESE, L.; SOUSA, J. P.; LAVELLE, P. Collembolan communities as bioindicators of land use intensification. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 35, p. 813-826, 2003.
- POZEBON, D.; LIMA, E. C.; MAIA, S. M.; FACHEL, J. M. G. Heavy metals contribution of non-aqueous fluids used in offshore oil drilling. *Fuel*, v. 84, n. 1, p. 53-61, 2005.
- PRAZERES, S. S.; SILVA JÚNIOR, S. T. N.; ORESCA, D.; AMORIM, A. V.; LACERDA, C. F.; CAVALCANTE, C. F. Crescimento e nodulação de plantas de feijão-de-corda sob irrigação salina e adubação potássica. In: II INOVAGRI International Meeting, Fortaleza – CE, 2014.
- RAMADE, F. *Ecotoxicologie*. Masson, Paris, France, 205p., 1977.
- RAMOLIYA, P. J.; PATEL, H. M.; PANDEY, A. N. Effect of salinization of soil on growth and macro and micro-nutrient accumulation in seedlings of *Acacia catechu* (Mimosaceae). *Annals of Applied Biology*, v. 144, n. 3, p. 321-332, 2004.
- REID, B. J.; JONES, K. C.; SEMPLE, K. T. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments – a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution*, v. 108, n. 1, p. 103-112, 2000.
- RENGASAMY, P.; OLSSON, K. A. Sodidity and soil structure. *Australian Journal of Agriculture Research*, v. 29, n. 6, p. 935-952, 1991.
- RHOADES, J. D.; KANDIAH, A.; MASHALI, A. M. Uso de águas salinas para produção agrícola. Tradução de GHEYI, H. R.; SOUSA, J. R. de; QUEIROZ, J. E. 1. ed. Campina Grande: UFPB, 117p., 2000. (Estudos FAO Irrigação e Drenagem, 48)
- ROBIDOUX, P. Y.; DELISLE, C. E. Ecotoxicological evaluation of three deicers (NaCl, NaFo, CMA) – effect on terrestrial organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 48, n. 2, p. 128-139, 2001.
- RÖMBKE, J. Ecotoxicological laboratory tests with enchytraeids: a review. *Pedobiologia*, v. 47, n. 5-6, p. 607-616, 2003.
- RÖMBKE, J. Enchytraeidae of tropical soils: state of the art, with special emphasis on Latin America. *Folia Facultatis scientiarum naturalium Universitatis Masarykianae Brunensis, Biologia*, v. 110, p. 157-181, 2007.
- ROMERO-ARANDA, R.; SORIA, T.; CUARTERO, J. Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Science, Limerick*, v. 160, n. 2, p. 265-272, 2001.

- RUF, A. A maturity index for predatory mites (Mesostigmata:Gamasina) as an indicator of environmental impacts of pollution on forest soils. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 9, n. 1-3, p. 447-452, 1998.
- SAKAI, S. Municipal solid waste management in Japan. *Waste Management*, v. 16, n. 5-6, p. 395-405, 1996.
- SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. *Applied Entomology and Zoology*, v. 33, n. 3, p. 339-347, 1998.
- SAMPAIO JÚNIOR, J. Efeitos da aplicação de resíduo de perfuração de poços de petróleo no desenvolvimento de plantas e no risco de lixiviação de metais. 2012. 93f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ.
- SANTOS, R. V. dos. Correção de um solo salino-sódico e absorção de nutrientes pelo feijoeiro *Vigna (Vigna unguiculata (L.) WALD.)*. 1995. 120f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP.
- SANTOS, T. S.; SANTOS, R. G.; COSTA, F.; SENA, A. C.; SANTEDICOLA, D.; CRUZ, L. M. S.; SANTOS, J. C.; ARAGAO, H. A. S.; MOREIRA, A. B.; MENDEZ, L. T.; OLIVEIRA, L. S.; SILVA, E. M.; NIEMEYER, J. C. Efeitos da contaminação por petróleo sobre o comportamento de fuga de *Folsomia candida* em solo artificial tropical e em um solo natural. In: XII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, Porto de Galinhas – PE, 2012.
- SATO, J. H. Métodos para determinação do carbono orgânico em solos do Cerrado. 2013. 90f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília – DF.
- SAUTTER, K.D.; MOTTA NETO, J.A.; MORAES, A.; SANTOS, H. R.; RIBEIRO JUNIOR, P.J. População de Oribatei e Collembola em pastagens na recuperação de solos degradados pela mineração do xisto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 33, p. 1509-1513, 1998.
- SAUTTER, K.D.; SANTOS, H.R. Recuperação de solos degradados pela mineração de xisto, tendo como bioindicadores insetos da Ordem Collembola. *Scientia Agricola*, v. 11, p. 85-91, 1991.
- SCHOENEBERGER, P. J.; WYSOCKI, D. A.; BENHAM, E. C.; BRODERSON, W. D. Field book for describing and sampling soils. Version 1.1. National Soil Survey Center, Natural Resources Conservation Services. US Department of Agriculture Lincoln, Nebraska, 182p., 2002.
- SENAI – Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial. Implementação de programas de produção mais limpa. Porto Alegre, Centro Nacional de Tecnologias Limpas SENAI – Departamento Regional do Rio Grande do Sul/UNIDO/UNEP, 46p., 2003.
- SHANNON, M. C. Adaptation of plants to salinity. *Advances in Agronomy*, Newark, v. 60, s. n., p. 75-120, 1997. Disponível em: <<http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCwQFjAA&url=http%3A%2F%2Fciteseerx.ist.psu.edu%2Fviewdoc%2Fdownload%3Fdoi%3D10.1.1.30.9812%26rep%3Drep1%26type%3Dpdf&ei=gDJcUe7SOOSQ0QHnvYD4AQ&usg=AFQjCNFyoN8WJqgkQUxXNsRzQOf6vF8pJw&bvm=bv.44697112,d.dmQ>>. Acesso em: 07 jan. 2013.
- SILVA, E. F. L.; ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, V. B.; NUNES, L. A. P. L.; CARNEIRO, R. F. V. Fixação biológica do N<sub>2</sub> em feijão-caupi sob diferentes doses e fontes de fósforo solúvel. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 394-40, 2010.

- SILVA, R. M. Uso de artrópodes como bioindicadores na análise da qualidade ambiental, 2009. Disponível em: <<http://www.artigonal.com/biologia-artigos/uso-de-artropodes-como-bioindicadores-na-analise-da-qualidade-ambiental-1397325.html>>. Acesso em: 01 mar. 2012.
- SOUSA, J. P.; GAMA, M. M.; PINTO, C.; KEATING, A.; CALHÔA, F.; LEMOS, M.; CASTRO, C.; LUZ, T.; LEITÃO, P.; DIAS, S. Effects of land-use on Collembola diversity patterns in a Mediterranean landscape. *Pedobiologia*, v. 48, p. 609-622, 2004.
- SOUSA, R. A.; LACERDA, C. F.; AMARO FILHO, J.; HERNANDEZ, F. F. F. Crescimento e nutrição mineral do feijão-de-corda em função da salinidade e da composição iônica da água de irrigação. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 2, n. 1, p. 75-82, 2007.
- SOUZA, G. G.; MARINHO, A. B.; ALBUQUERQUE, A. H. P.; VIANA, T. V. A.; AZEVEDO, B. M. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino irrigado com águas salinas. *Revista Ciência Agronômica, Fortaleza – CE*, v. 43, n. 2, p. 237-245, 2012.
- SOUZA, P. J. B. e LIMA, V. L. Avaliação das Técnicas de Disposição de Rejeitos da Perfuração Terrestre de Poços de Petróleo. 2002. 38f. Monografia (Especialização em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais na Indústria) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.
- STACECHEN, C.; MORAIS, R. S.; NIVA, C. C. Avaliação do efeito do agrotóxico Vertimec® 18EC sobre a reprodução de enquitreídeos em solo artificial tropical. In: Evinci – Embrapa Florestas, 2013, Colombo – PR. Evinci – XII Evento de Iniciação Científica da Embrapa Florestas, 2013. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/96558/1/Avaliacao-do-efeito-do-agrotoxico-Vertimec-18-EC-sobre-a-reproducao-de-enquitreideos-em-solo-artificial-tropical.pdf>>. Acesso em: 12 mar. 2014.
- STATSOFT Inc. STATISTICA for Windows. Versão 7.0. Tulsa, 2004.
- SUMNER, M. E. Sodic soils: new perspectives. In: NAIDU, R.; RENGASAMY, P.; SUMNER, M. E. (Eds.). *Australian sodic soils: distribution, properties and management*. CSIRO Publishing, Melbourne, 351p., 1995.
- TEIXEIRA, A.; KAI, H. Quebra de Monopólio e Aumento da Produtividade: Lições da Indústria de Petróleo no Brasil, *FUCAPE Debates*, v. 3, n. 1, 2007. Disponível em: <<http://www.fucape.br/debates/upld/edicoes/Vol3N1FUCAPEDEBATES.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2012.
- TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of Botany*, v. 91, n. 5, p. 503-527, 2003.
- THEOBALD, R.; LIMA, G. B. A.A excelência em gestão de SMS: uma abordagem orientada para os fatores humanos. XXV Encontro Nac. de Eng. de Produção – ENEGEP/05, Outubro/2005, Porto Alegre, RS. Disponível em: <[http://www.abepro.org.br/biblioteca/ENEGEP2005\\_Enegep0405\\_0510.pdf](http://www.abepro.org.br/biblioteca/ENEGEP2005_Enegep0405_0510.pdf)>. Acesso em: 07 mar. 2012.
- THOMAS, J. E. Fundamentos de Engenharia do Petróleo. 1ª ed., Rio de Janeiro, Editora: Interciência, 2001.
- U.S.EPA– UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 6010C: Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. Disponível em: <[http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/6\\_series.htm](http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/6_series.htm)>. Acesso em: 07 nov. 2012.

U.S.EPA– UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 7000 Series Methods. Disponível em: <[http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/7\\_series.htm](http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/online/7_series.htm)>. Acesso em: 07 nov. 2012.

U.S.EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. 30p., 2007. Disponível em: <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2013.

U.S.EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. 20p., 1996. Disponível em: <<http://www.epa.gov/solidwaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3052.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2013.

U.S.EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. SW-846: Test methods for evaluating solid wastes. 8015B: Non-halogenated organic using GC/FID; 8015C: Nonhalogenated organics by gas chromatography. Disponível em: <<http://www.epa.gov/wastes/hazard/testmethods/sw846/online/index.htm> >. Acesso em: 03 nov. 2012.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Guidelines for soil quality assessment in conservation planning. NRCS/Soil Quality Institute. 2001. Disponível em: <[http://soils.usda.gov/sqi/assessment/files/sq\\_assessment\\_cp.pdf](http://soils.usda.gov/sqi/assessment/files/sq_assessment_cp.pdf)>. Acesso em: 27 fev. 2012.

USSL STAFF – UNITED STATES SALINITY LABORATORY. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. In: RICHARDS, L. A. (Ed.). Soil and water conservation research branch. Agriculture Research Service. Washington: U.S. Department of Agriculture, 160 p., 1954. (Agriculture Handbook, 60). Disponível em: <[http://www.ars.usda.gov/sp2UserFiles/Place/53102000/hb60\\_pdf/hb60complete.pdf](http://www.ars.usda.gov/sp2UserFiles/Place/53102000/hb60_pdf/hb60complete.pdf)>. Acesso em: 04 jan. 2013.

van GESTEL, C. A. M. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. *Zookeys*, v. 176, p. 275-296, 2012.

van RAIJ, B. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba: Potafos, 343p., 1991.

van STRAALLEN, N. M. Ecotoxicology becomes stress ecology. *Environmental Science and Technology*, v. 37, n. 17, p. 324A-330A, 2003.

VEHLOW, J. Municipal solid waste management in Germany. *Waste Management*, v. 16, n. 5-6, p. 367-374, 1996.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; TEODORO, G. S. Cloreto de sódio e ácido naftalenoacético no enraizamento de microestacas de amoreira-preta cv. *Brazos in vitro*. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, v. 33, n. especial, p. 1819-1824, 2009.

WAGELMANS, M.; DERKSEN, J. G. M.; KOOLS, S. A. E.; FABER, J.; Van DER POL, J.; MESMAN, M.; LUD, D. Evaluation of the implementation of Triad in assessing ecological risks. SKB (The Centre for Soil Quality Management and Knowledge Transfer) project report. The Netherlands, 46p., 2009.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M.; RUMJANEK, N. G.; NEVES, M. C. P. Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e à temperatura em condição *in vitro*. *Revista Caatinga*, Mossoró – RN, v. 20, n. 4, p. 1-9, 2007.

YOSHIDA, K. Plant biotechnology genetic engineering to enhance plant salt tolerance. *Journal Bioscience Bioengineering*, v. 94, n. 4, p. 585-590, 2002.

YUAN, B-C.; LI, Z-Z.; LIU, H.; GAO, M.; ZHANG, Y-Y. Microbial biomass and activity in salt affected soils under arid conditions. *Applied Soil Ecology*, v. 35, n. 2, p. 319-328, 2007.

ZHANG, W. T.; YANG, J. K.; YUAN, T. Y.; ZHOU, J. C. Genetic diversity and phylogeny of indigenous rhizobia from cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Biology and Fertility of Soils*, v. 44, n. 1, p.201-210, 2007.

ZAR, J. *Bioestatistical Analysis*. 3<sup>a</sup> ed. Prentice-Hall International, Inc., London – UK, 662p., 1996.

ZEPPELINI FILHO, D.; BELLINI, B. C. *Introdução ao estudo dos Collembola*. João Pessoa: Editora da UFPB, 82p., 2004.

ZHU, J. K. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, v. 6, n. 2, p. 66-71, 2001.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, v. 53, s. n., p. 247-273, 2002.

## 8 ANEXOS

### ✓ Anexo A

- Informações de todas as amostras coletadas nos equipamentos Secador e Centrífuga I, no poço 7-MGP-50D-BA e formação das amostras compostas.

Id	Fase	Prof. (m)	Informações Geológicas	Informações do Fluido		Composta por Equipamento		Observações
			Formação	Tipo	Densidade (lb gal <sup>-1</sup> )	Secador	Centrífuga I	
1	I	0 – 72	São Sebastião	N Parafina				
2	I	72 – 140	São Sebastião	N Parafina				
3	I	140 – 198	São Sebastião	N Parafina	8,9-9,2			
4	I	198 – 292	São Sebastião	N Parafina		1S	1C	Zona de transição água doce/salgada
5	I	292 – 360	São Sebastião	N Parafina				
6	I	360 – 425	São Sebastião	N Parafina	9,5-9,7			
7	I	425 – 506	São Sebastião	N Parafina	9,4			
8		506 – 570	Pojuca	N Parafina	9,4			
9	II	570 – 640	Pojuca	N Parafina				
10	II	640 – 712	Pojuca	N Parafina				
11	II	712 – 778	Pojuca	N Parafina	9,5-9,9			
12	II	778 – 850	Pojuca	N Parafina				
13	II	850 – 922	Pojuca	N Parafina		2S	2C	
14	II	922 – 994	Pojuca	N Parafina	10,2-10,6			
15	II	994 – 1066	Pojuca	N Parafina	10,8-11,2			Objetivo Secundário - Óleo
16	II	1066 – 1127	Pojuca	N Parafina	11,2-11,5			
17	II	1127 – 1220	Pojuca	N Parafina	11,6			Objetivo Secundário – Óleo/ Zona de Kick – Alta pressão
18	II	1220 – 1292	Marfim	N Parafina	11,5	3S	3C	Objetivo Secundário - Óleo

19	II	1292 – 1364	Marfim	N-Parafina				Zona de Kick – Alta pressão
20	II	1364 – 1436	Marfim	N-Parafina	11,5-11,6			
21	II	1436 – 1508	Marfim	N-Parafina	11,5	4S	4C	
22	II	1508 – 1600	Marfim	N-Parafina	11,5			
23	II	1600 – 1672	Maracangalha	N-Parafina				
24	II	1672 – 1744	Maracangalha	N-Parafina	10,5-9,5			
25	II	1744 – 1816	Maracangalha	N-Parafina				
26	II	1816 – 1888	Maracangalha	N-Parafina		5S	5C	
27	II	1888 – 1960	Maracangalha	N-Parafina	9,5			
28	II	1960 – 2032	Maracangalha	N-Parafina	9,6			
29	II	2032 – 2104	Maracangalha	N-Parafina	9,6-9,5			
30	II	2104 – 2176	Maracangalha	N-Parafina	9,5-9,6			
31	III	2176 – 2320	Maracangalha	N-Parafina	9,5	6S	6C	
32	III	2320 – 2320	Maracangalha	N-Parafina				
33	III	2320 – 2392	Maracangalha	N-Parafina	9,6			
34	III	2392 – 2464	Maracangalha	N-Parafina	10			
35	III	2464 – 2536	Maracangalha	N-Parafina	9,5-9,6			
36	III	2536 – 2608	Maracangalha	N-Parafina				
37	III	2608 – 2680	Maracangalha	N-Parafina	9,5-9,6	7S	7C	
38	III	2680 – 2752	Maracangalha	N-Parafina	9,5			
39	III	2752 – 2824	Maracangalha	N-Parafina	9,5			
40	III	2824 – 2853	Maracangalha	N-Parafina	9,5			

\*Cada amostra simples tem intervalo de 72 metros, correspondendo a aproximadamente 8 tubos de 9 m cada. Na geração de cada amostra simples foram coletados 8 sub-amostras, correspondendo a cada tubo.

Nesse poço a Centrífuga I funciona ligada diretamente ao Secador, ou seja, o fluido recuperado pelo Secador é tratado, logo em seguida, pela Centrífuga I. Podendo, assim, relacionar o resíduo gerado por esse equipamento com a profundidade do poço.

✓ Anexo B

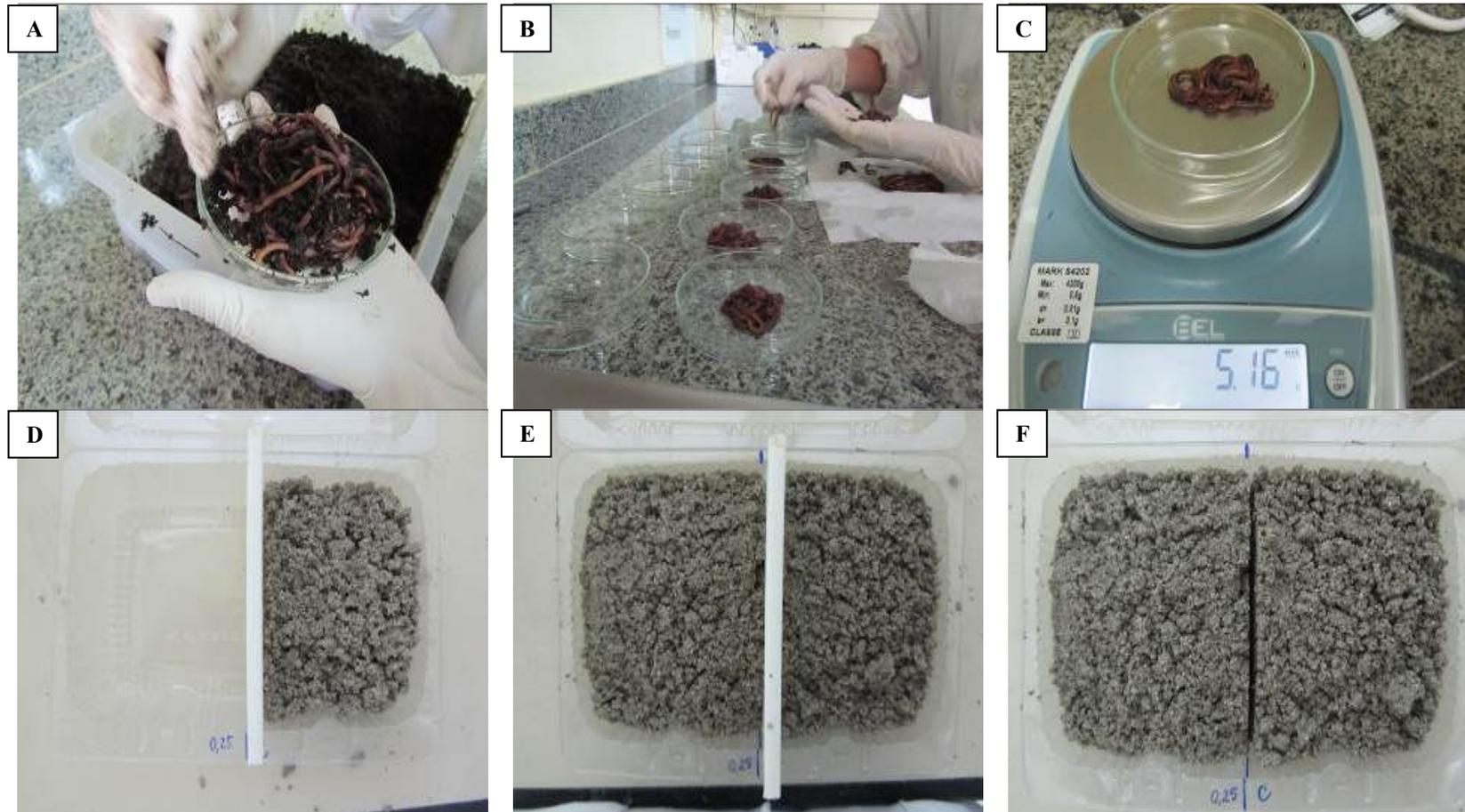
- Informações de todas as amostras coletadas na Centrífuga II que trata o fluido do sistema, no poço 7-MGP-598D-BA e formação das amostras compostas.

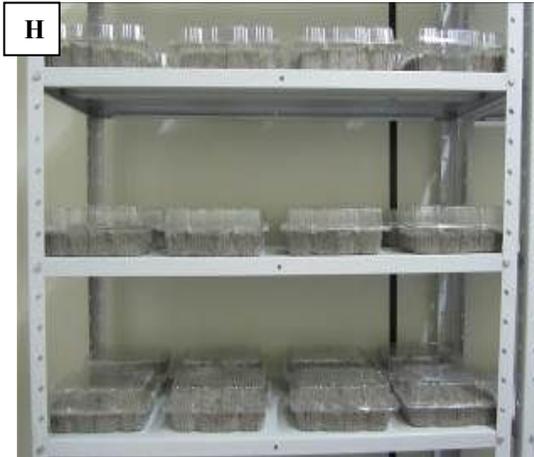
Id	Fase	Informações do Fluido		Composta por	Observações
		Tipo	Densidade (lb gal <sup>-1</sup> )	Centrífuga II	
1	I	N-Parafina	8,9	1C <sub>2</sub>	Zona de Kick – Alta pressão
2	I	N-Parafina	9,5-9,7		
3	I	N-Parafina	9,4		
4	I	N-Parafina	9,4		
5	II	N-Parafina	10-11,6	2C <sub>2</sub>	
6	III	N-Parafina	10,5		
7	III	N-Parafina	9,6		
8	III	N-Parafina	9,6		
9	III	N-Parafina	9,6		
10	III	N-Parafina	9,5		
11	III	N-Parafina	9,4		
12	III	N-Parafina	9,4		
13	III	N-Parafina	9,5		
14	III	N-Parafina	9,5		
15	III	N-Parafina	9,5		
16	III	N-Parafina	9,5		
17	III	N-Parafina	9,5		

\*As amostras simples foram formadas a partir da quantidade gerada pelo equipamento em cada fase.

✓ Anexo C

- Esquema ampliado dos ensaios de fuga com *Eisenia andrei*.



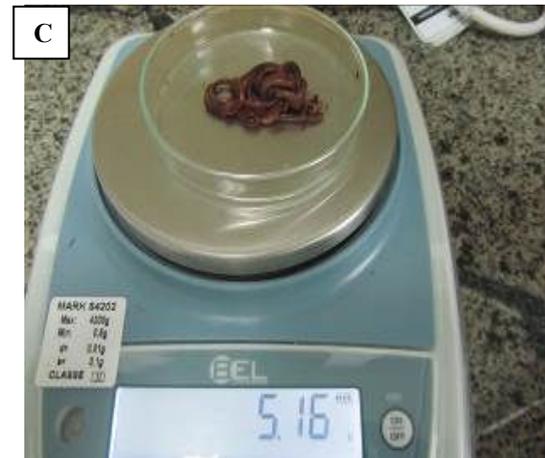


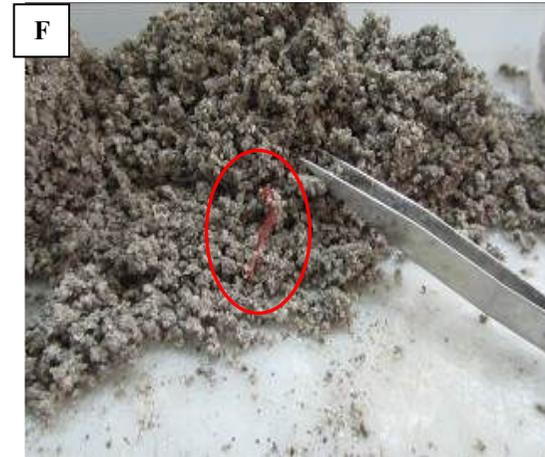
Montagem dos ensaios de fuga com minhocas da espécie *Eisenia andrei*– unidades experimentais.

A – Obtenção de adultas cliteladas da colônia. B – Preparação para pesagem de 10 organismos/repetição, após lavagem. C – Pesagem. D, E e F – Preenchimento das unidades experimentais. G – Introdução dos organismos. H e I – Disposição das unidades experimentais na sala climatizada.

#### ✓ Anexo D

- Esquema ampliado dos ensaios de letalidade e reprodução com *Eisenia andrei*.





Montagem dos ensaios de reprodução com minhocas da espécie *Eisenia andreinas* unidades experimentais.

**A** – Obtenção de adultas cliteladas da colônia. **B** – Preparação para pesagem de 10 organismos/repetição, após lavagem. **C** – Pesagem. **D** – Preenchimento das unidades experimentais. **E** – Disposição das unidades experimentais na sala climatizada. **F** – Contagem de juvenis ao final do ensaio.

✓ Anexo E

- Esquema ampliado dos ensaios de letalidade e reprodução com *Enchytraeus crypticus*.



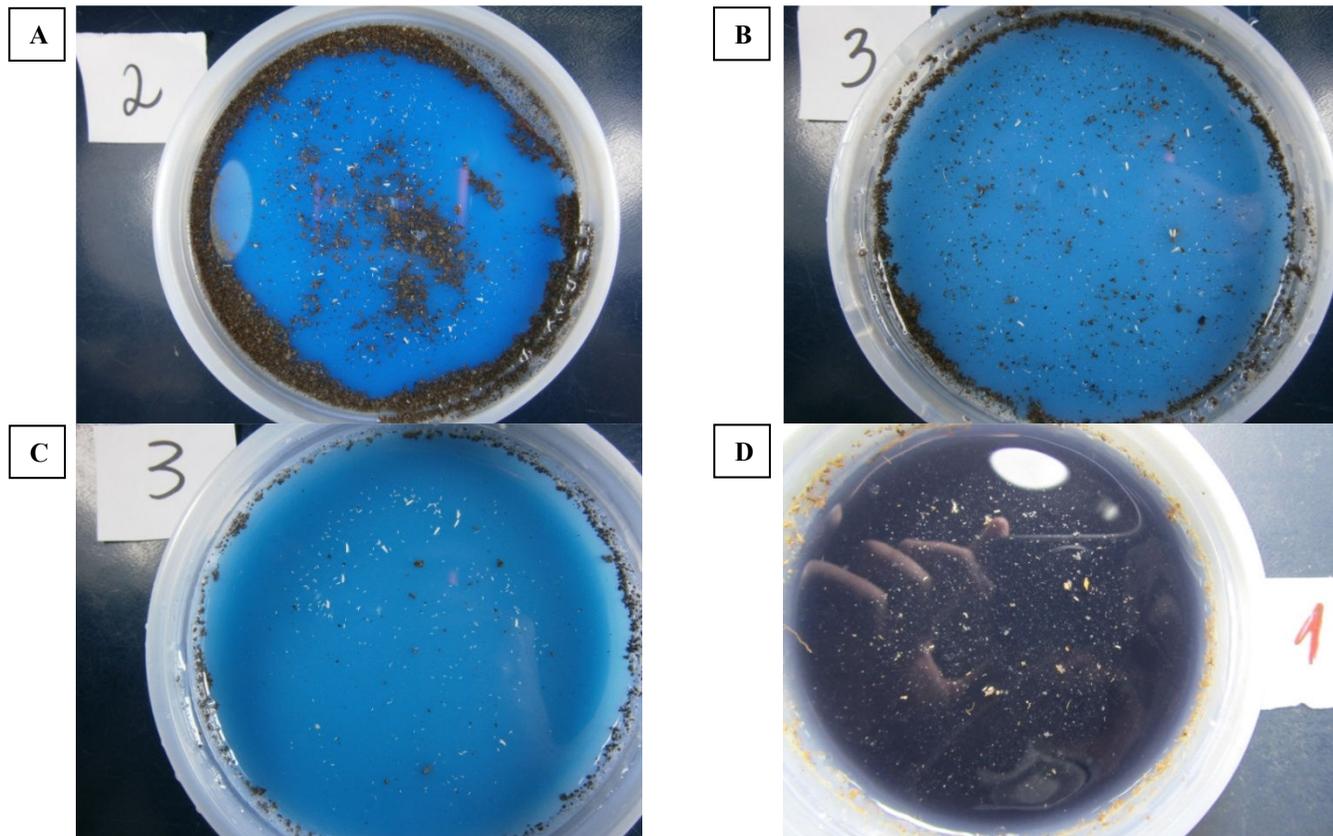


Montagem dos ensaios de reprodução com enquitreídeos nas unidades experimentais.

**A** – Preenchimento das unidades experimentais. **B** - Obtenção de adultos clitelados da colônia e introdução dos organismos. **C** – Disposição das unidades experimentais na BOD. **D e E** – Organismos sendo conservados corados ao final do ensaio. **F** – Organismos prontos para avaliação final em lupa

✓ Anexo F

- Captura de imagem para avaliação da letalidade e reprodução de *Folsomia candida* no programa de computação Image Tool 3.0 for Windows.

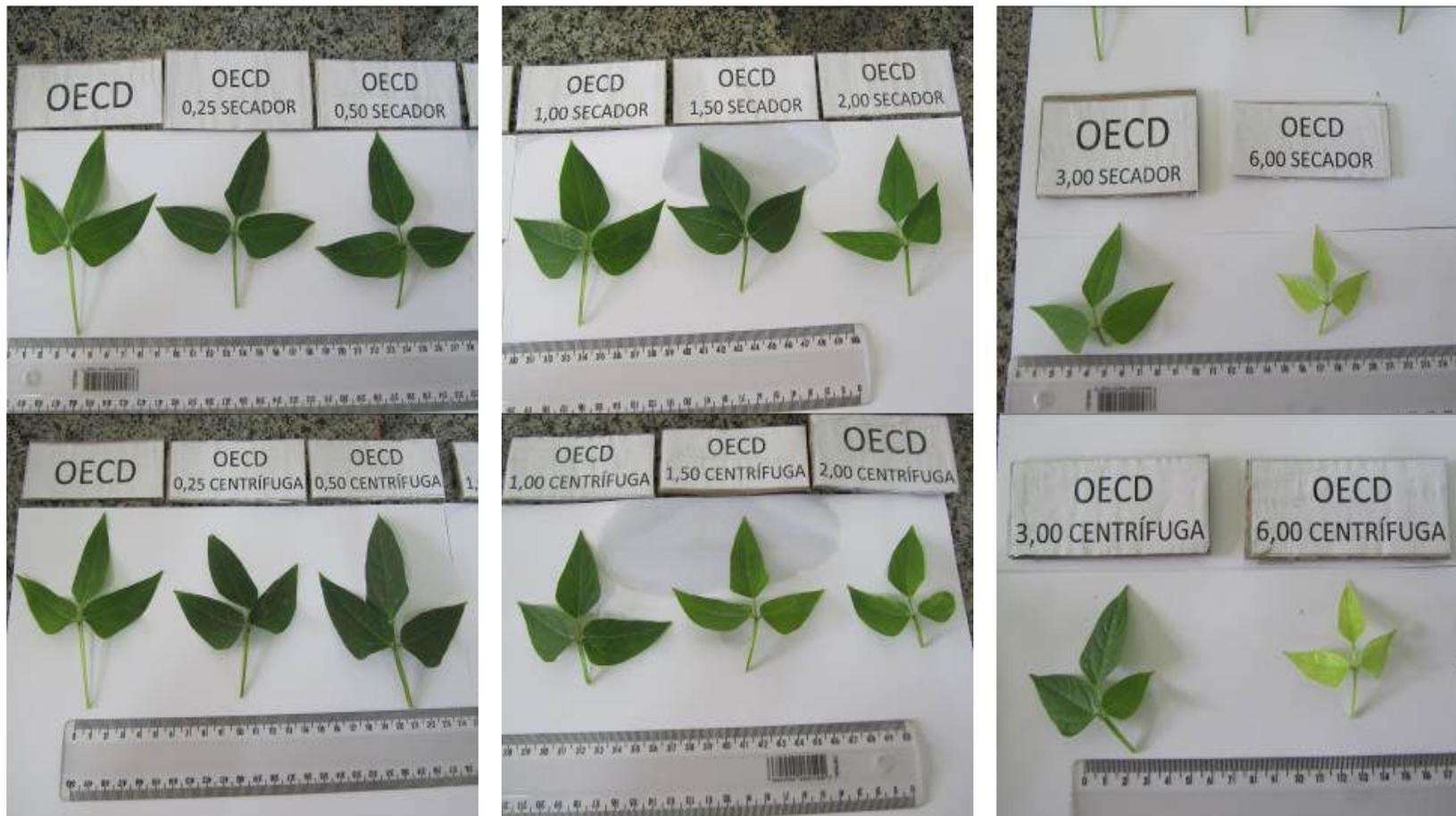


Letalidade e reprodução de *Folsomia candida*.

**A** – Solo artificial tropical (controle). **B** - SAT + Centrifuga (0,25%). **C** –SAT + Secador (1,5%). **D** – Solo natural (controle)

✓ Anexo G

- Deficiência de nitrogênio observada em plantas de feijão caupi (*Vigna unguiculata*) em solo artificial tropical.





**A**



**B**



**C**

Diagnose visual do feijão caupi (*Vigna unguiculata*) após exposição às diferentes dosagens dos resíduos de perfuração em solo artificial tropical.

**A** – Visão geral das plantas nos diferentes doses. **B e C** – Coloração dos nódulos.

Onde se lê: OECD. Leia-se, corrija-se e registre-se SAT.

✓ Anexo H

- Deficiência de nitrogênio observada em plantas de feijão caupi (*Vigna unguiculata*) em solo natural.



Diagnose visual do feijão caupi (*Vigna unguiculata*) após exposição às diferentes dosagens dos resíduos de perfuração em solo natural.

Onde se lê: OECD. Leia-se, corrija-se e registre-se SAT.

✓ Anexo I

- Composição básica do fluido de perfuração sintético, base orgânica (Razão N-Parafina/Água = 60/40), cedido gentilmente pelo Cenpes/Petrobras, utilizado nos experimentos.

COMPOSIÇÃO	FUNÇÃO	CONCENTRAÇÃO
N- Parafina BR	Fase contínua	0,57 bbl/bbl
Emulsificante primário – ácidos graxos	Emulsificante	9,0 lb/bbl
Óxido de cálcio	Saponificante/ Alcalinizante	5,0 lb/bbl
Solução saturada de NaCl	Fase emulsionada	0,39 bbl/bbl
Argila organofílica	Viscosificante	2,0 lb/bbl
Modificador reológico – derivado de ác. graxos	Viscosificante	1,0 lb/bbl
Baritina	Adensante	0 a 612 lb/bbl

lb – libra  
bbl - barril

✓ Anexo J

- Resultado da análise dos teores pseudototais de metais, nitrato e sódio para nas amostras compostas de cascalho de perfuração obtido do Secador para o poço 7-MGP-98D-BA.

Elemento	1ª Secador 1S	2ª Secador 2S	6ª Secador 6S	7ª Secador 7S
	mg kg <sup>-1</sup>			
Alumínio	14192,2	22923,0	22692,5	15902,0
Antimônio	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Arsênio	0,5	0,5	1,5	N.D.
Bário	76573,0	56980,6	41336,2	33485,1
Boro	13,6	19,3	15,8	12,1
Cádmio	N.D.	N.D.	0,1	N.D.
Chumbo	4,3	7,1	12,6	7,9
Cobalto	9,9	13,4	14,8	13,0
Cobre	26,2	41,0	45,1	34,2
Cromo	24,6	34,4	34,1	27,4
Ferro	18073,0	28077,9	38396,0	25682,3
Manganês	291,5	420,1	383,2	329,4
Mercúrio	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Molibdênio	N.D.	0,8	1,2	0,6
Níquel	17,7	24,3	27,6	23,5
Prata	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Selênio	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Vanádio	25,7	33,9	37,0	27,3
Zinco	26,4	42,0	56,9	42,0
Nitrato	13,2	18,8	27,0	34,3
Sódio	4131,5	9059,9	9249,8	5636,7

N.D. = Não Detectado

✓ Anexo K

- Resultado da análise dos teores pseudototais de metais, nitrato e sódio para as amostras compostas de cascalho de perfuração obtido da Centrífuga para o poço 7-MGP-98D-BA.

Elemento	Centrífuga I			1 <sup>a</sup> Centrífuga II 1C <sub>2</sub>
	1 <sup>a</sup> Centrífuga 1C <sub>1</sub>	5 <sup>a</sup> Centrífuga 5C <sub>1</sub>	6 <sup>a</sup> Centrífuga 6C <sub>1</sub>	
	mg kg <sup>-1</sup>			
Alumínio	5102,8	11741,9	12856,2	5092,4
Antimônio	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Arsênio	0,7	1,4	0,8	1,8
Bário	255877,3	183868,0	132187,0	328960,3
Boro	5,7	10,3	11,7	5,2
Cádmio	N.D.	0,1	N.D.	N.D.
Chumbo	10,5	14,9	26,5	17,8
Cobalto	4,3	7,3	8,8	4,6
Cobre	10,4	29,0	36,0	17,6
Cromo	12,1	22,9	34,2	13,4
Ferro	8363,7	16462,4	20707,4	11332,5
Manganês	120,0	256,5	263,5	146,6
Merúrio	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Molibdênio	N.D.	1,6	3,2	0,9
Níquel	7,7	13,7	17,0	7,3
Prata	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Selênio	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Vanádio	11,8	21,7	23,0	13,0
Zinco	28,1	58,6	106,5	73,9
Nitrato	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Sódio	3714,8	21977,6	9249,8	8739,9

N.D. = Não Detectado

✓ **Anexo L**

- Análises de hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP, mg.kg<sup>-1</sup>) nas amostras compostas do poço 7-MGP-98D-BA.

Lista holandesa (mg.kg <sup>-1</sup> )	Equipamento	FASE I		FASE II			FASE III		
		1 <sup>a</sup> Composta	2 <sup>a</sup> Composta	3 <sup>a</sup> Composta (Kick)	4 <sup>a</sup> Composta	5 <sup>a</sup> Composta	6 <sup>a</sup> Composta	7 <sup>a</sup> Composta	
VR	50	Secador	34036	67930	34577	37098	30416	39289	74902,96
Valor de Alerta	2525	Centrífuga 1	31538	23033	24046	20656	7814,4	18936	24277,32
Valor de Intervenção	5000	Centrífuga 2	26330,7			42025,41			

VR = Valor de referência

✓ **Anexo M**

- Análise de macro e micronutrientes essenciais nas amostras compostas do poço 7-MGP-98D-BA.

Composta	Nitrogênio	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio	Cobre	Zinco	Ferro	Manganês
1S	0,02	0,05	5,23	1,48	12,29	35,71	47,25	28005,96	447,62
2S	0,05	0	11,34	6,11	14,12	49,79	68,65	48013,51	585,64
6S	0,05	0,20	8,26	6,09	21,16	55,25	100,76	46888,69	566,50
7S	0,05	0	7,18	3,21	9,73	35,06	63,83	29456,01	475,81
1C <sub>1</sub>	0,01	0	2,09	2,53	4,67	12,49	39,86	10749,54	152,63
5C <sub>1</sub>	0,02	0,23	4,57	6,97	9,53	34,23	93,80	23768,67	410,36
6C <sub>1</sub>	0,04	0,34	5,28	9,38	10,92	43,78	210,29	33607,17	433,01
1C <sub>2</sub>	0	0,07	4,40	7,77	5,16	20,69	115,03	21358,17	218,94

✓ Anexo N

- Resultado da análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) nas amostras compostas do poço 7-MGP-98D-BA.

REFERÊNCIA	Naftaleno	Acenaftileno	Acenafteno	Fluoreno	Fenantreno	Antraceno	Fluoranteno	Pireno	Benzo[a]antraceno	Criseno	Benzo[b]fluoranteno	Benzo[k]fluoranteno	Benzo[a]pireno	Indeno[1,2,3-cd]pireno	Dibenzeno[a,h]antraceno	Benzo[ghi]perileno	
	mg.kg <sup>-1</sup>																
CONAMA 420	Referência de Qualidade	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	
	Prevenção Intervenção Agrícola	0,12	na	na	na	3,3	0,039	na	na	0,025	8,1	na	0,38	0,052	0,031	0,08	0,057
	Intervenção Industrial	30	na	na	na	15	na	na	na	9	na	na	0,4	2	0,15	na	
		90	na	na	na	95	na	na	na	65	na	na	3,5	130	1,3	na	
	RESULTADOS	mg.kg <sup>-1</sup>															
	1ª Secador 1S	2,080	0,204	N.D.	0,642	3,852	0,230	0,099	0,167	0,186	0,153	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2ª Secador 2S	6,116	0,732	N.D.	1,650	13,666	0,640	0,308	0,576	0,828	0,450	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	6ª Secador 6S	3,933	1,528	N.D.	1,763	9,069	0,191	0,196	0,616	0,490	0,488	0,048	0,016	0,044	N.D.	N.D.	N.D.
	7ª Secador 7S	10,066	2,678	N.D.	4,325	19,090	0,451	0,322	0,971	1,227	0,690	0,075	0,054	0,061	N.D.	N.D.	N.D.
	1ª Centrífuga I 1C <sub>1</sub>	2,668	0,276	N.D.	0,744	4,288	0,192	0,088	0,172	0,211	0,172	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	5ª Centrífuga I 5C <sub>1</sub>	0,576	0,183	N.D.	0,382	1,660	0,073	0,034	0,084	0,078	0,076	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	6ª Centrífuga I 6C <sub>1</sub>	1,335	0,228	N.D.	0,514	3,041	0,154	0,081	0,152	0,169	0,185	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1ª Centrífuga II 1C <sub>2</sub>	1,493	0,130	N.D.	0,293	1,686	0,103	0,036	0,076	0,061	0,077	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. = Não detectado

✓ Anexo O

- Análise de teores disponíveis nas amostras compostas do poço 7-MGP-98D-BA.

Composta	Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	n	pH <sub>água</sub>	Corg	P	K	Na	PST
	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>										%	1:2,5	g kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>			
1S	0,4	2,2	0,5	0,04	0	0	3,2	3,2	100	0	13,3	8,3	47,0	106	14	96	13,3
2S	2,6	2,2	0,3	0,04	0	0	5,2	5,2	100	0	50,8	8,6	48,6	9	16	602	50,8
6S	2,1	1,5	0,3	0,09	0	0	4,0	4,0	100	0	52,6	8,8	42,5	2	35	483	52,6
7S	1,7	1,3	0,2	0,10	0	0	3,3	3,3	100	0	51,1	8,7	43,3	31	38	385	51,1
1C <sub>1</sub>	0,6	1,4	0,2	0,05	0	0	2,2	2,2	100	0	25,0	9,4	23,1	54	21	126	25,0
5C <sub>1</sub>	4,4	1,5	0,1	0,07	0	0	6,1	6,1	100	0	72,5	9,9	55,2	1	27	1012	72,5
6C <sub>1</sub>	3,3	1,5	0,5	0,06	0	0	5,3	5,3	100	0	61,4	9,8	57,0	1	25	755	61,4
1C <sub>2</sub>	2,1	1,7	0,7	0,03	0	0	4,5	4,5	100	0	45,8	11,5	24,5	32	10	472	45,8

