

TESTE DE TOXIDADE AGUDA UTILIZANDO *Eisenia andrei* EM SOLO TRATADO COM RESÍDUO DE PERFURAÇÃO DE POÇOS DE PETRÓLEO.

Fábio Freire de Souza^(1,2); Matheus Veloso Gomes^(1,2); Hugo Maia Machado^(1,3); Nelson Mazur^(1,4); Nelson Moura Brasil do Amaral Sobrinho^(1,5) Maria Elizabeth Fernandes Correia^(1,6)

⁽¹⁾ Departamento de Solos - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 07, Seropédica - RJ, CEP: 23890-000; ⁽²⁾ Discente do curso de Agronomia, bolsista de iniciação científica FAPERJ e estagiário do Laboratório de Química e Poluição do Solo, e-mail: fabiofreire_1000@hotmail.com, matheus_formiga@yahoo.com.br, ⁽³⁾ Mestre em Agronomia - Ciências do Solo; ⁽⁴⁾ Professor Associado; ⁽⁵⁾ Professor Titular, nelmoura@ufrj.br, ⁽⁶⁾ Pesquisadora- Fauna do Solo, Embrapa Agrobiologia, BR 465 km 07, Seropédica-RJ, ecorreia@cnpab.embrapa.br.

RESUMO: Durante a perfuração de poços de petróleo há a geração de resíduos, que possuem em sua composição quantidades significativas de Bário (Ba), Sódio (Na) e metais pesados. O objetivo do trabalho e avaliar o comportamento da *Eisenia Andrei* através do Teste de toxicidade aguda (OECD), determinar a dose letal para matar 50% da população de minhocas (DL50) em solos que receberam aplicação de resíduo gerado na perfuração de poços de petróleo. As doses dos tratamentos do resíduo secador e a baritina, são respectivamente uma testemunha e 5 doses de bário, sendo elas: 300; 600; 1200; 2400 e 4800 mg Ba kg⁻¹ de solo, o que equivale respectivamente ao valor de investigação, a 2 vezes, a 4 vezes, 8 vezes, e a 16 vezes o valor investigação (CONAMA, 2009). Após a homogeneização, os tratamentos ficaram incubados por 48 horas a 60% da capacidade de campo, conduzido em sala com temperatura, umidade e luminosidade controladas, sendo que: a temperatura variou entre 19 e 21° C, a umidade relativa do ar ficou em torno de 85 % e o fotoperíodo mantido com 12 horas de luz e 12 horas de escuro, conforme determina o protocolo. A mortalidade ou fuga das unidades não ultrapassaram 10% portanto, não foi possível detectar as doses letais (DL50 e DL20), houve redução no peso de todas as minhocas para todos os tratamentos baritina e resíduo secador. O sódio é o elemento presente no resíduo que se demonstrou como fator mais limitante quando aplicados aos solos.

Termos de indexação: ecotoxicologia; teste de toxicidade aguda; bioindicadores da qualidade do solo.

INTRODUÇÃO

A extração de petróleo é uma atividade essencial para a humanidade, contudo gera grande quantidade de resíduo, que são constituídos principalmente por fluido de perfuração e rocha moída. O fluido, por sua vez apresenta diversos

constituintes em concentrações elevadas, como a baritina (BaSO₄) e cloreto de sódio (NaCl) em solução saturada.

Para avaliar o efeito desses resíduos sobre o ambientes podem ser realizados testes ecotoxicológicos, pois estes indicam de forma mais precisa a toxicidade dos contaminantes por considerar os efeitos sinérgicos entre organismos e ambiente. Esses testes são uma importante ferramenta complementar as análises químicas e, que tem como objetivo o desenvolvimento de estratégias para interromper, reverter e/ou remediar estes impactos (Azevedo e Chasin, 2003).

Atualmente, existem protocolos de padrão internacional (OECD e ISO) para três grupos representantes da fauna do solo: colêmbolos, minhocas e enquitreídeos. Apesar das minhocas serem, provavelmente, os invertebrados de solo mais importantes em regiões de clima temperado em regiões tropicais esta posição seria ocupada por cupins e formigas (Bignell et al., 2010) elas são organismos simples de serem estudados transformando se em uma alternativa viável para a realização dos testes ecotoxicológicos (Edwards, 1996).

Dessa maneira, possibilitam a obtenção de resultados rápidos e consistentes, já que são organismos conhecidos, bem como o estabelecimento de bases comparativas por tornarem os ensaios de fácil execução em qualquer local e condição.

O objetivo do trabalho foi avaliar o comportamento da *Eisenia andrei* através do Teste de toxicidade aguda (OECD), determinar a dose letal para matar 50% da população de minhocas (DL50) em solos que receberam aplicação de resíduo gerado na perfuração de poços de petróleo.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio de toxicidade aguda (teste de mortalidade) foi baseado na orientação da "Organization for Economic Cooperation and



Development (OECD)” Guia para Testes Químicos nº207 (OECD, 1984).

O ensaio utilizou o resíduo do secador e optou-se em acrescentar mais um tratamento apenas com baritina, nesse ensaio não utilizou um tratamento com NaCl, visto que já existem muitos trabalhos que definiram DL 50 para o sódio. O objetivo deste ensaio foi determinar a dose letal para matar 50% da população de minhocas (DL50), portanto, foi necessário fazer uma progressão geométrica para resíduo e a baritina, no que resultou, a exceto da testemunha, em 5 doses de bário, sendo elas: 300; 600; 1200; 2400 e 4800 mg Ba kg⁻¹ de solo, o que equivale respectivamente ao valor de investigação, a 2 vezes, a 4 vezes, 8 vezes, e a 16 vezes o valor investigação (CONAMA, 2009).

A tabela 1 mostra a quantidade do resíduo aplicado em cada dose e respectivos teores de sódio. O solo utilizado foi classificado como Argissolo Vermelho Amarelo Distrófico, oriundo do entorno da área onde se realizou a prospecção do poço de petróleo.

O preparo do solo consistiu em secagem ao ar, destorroamento e peneiramento com tamis de 4 mm. O resíduo secador e o tratamento com baritina também foram submetidos aos mesmos processos de preparo realizados com o solo, sendo, no entanto, peneirados em tamis de 2 mm, com o intuito de aumentar a superfície específica, facilitando o processo de homogeneização. Após a homogeneização, os tratamentos ficaram incubados por 48 horas a 60% da capacidade de campo. O ensaio foi conduzido em sala com temperatura, umidade e luminosidade controladas, sendo que: a temperatura variou entre 19 e 21° C, a umidade relativa do ar ficou em torno de 85 % e o fotoperíodo mantido com 12 horas de luz e 12 horas de escuro, conforme determina o protocolo. As unidades experimentais utilizadas possuíam as seguintes dimensões: 13 cm de altura e 9 cm de diâmetro.

A montagem do ensaio consistiu em adicionar 500 gramas de solo tratado com as diferentes doses do resíduo, formando uma lâmina de solo de 8 cm. No decorrer do ensaio a umidade foi mantida a 60 % da capacidade de campo. Para cada unidade experimental foi adicionado 2 gramas de aveia cozida, em seguida, para cada unidade foram pesadas 10 minhocas e alocadas em cada unidade experimental, o peso das minhocas variou entre 250 a 600 mg. Foi realizada a medição de pH no

primeiro, e no décimo quarto dia. Foi feita a pesagem das minhocas no primeiro, no sétimo e décimo quarto dia. Também foram contabilizadas o número de minhocas mortas no sétimo e no décimo quarto dia. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, composto por um resíduo do secador e o tratamento com baritina com 5 doses, com 4 repetições cada.

Análise estatística

Foram efetuadas as seguintes análises estatísticas: Teste de Lilliefors, Teste de Cochran e Bartlett e teste exato de Fisher a 5 % de probabilidade (ZAR, 1996). Todas as análises estatísticas foram feitas por meio do Programa Estatístico SAEG Versão 9.0 (Fundação Arthur Bernardes na UFV, Viçosa- MG).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para que o ensaio de toxicidade aguda seja validado, no tratamento controle (testemunha), não poderá haver mortalidade acima de 10% (OECD, 1984). A mortalidade do tratamento controle do respectivo ensaio foi de 2,5%, portanto, o teste atendeu a este pressuposto e foi considerado como válido.

Foi realizada a leitura do pH no primeiro e décimo quarto dia, como não houve diferença nos valores de pH entre as duas épocas de leitura, optou-se em colocar os valores da leitura do primeiro dia.

Observa-se na Figura 8 que o pH natural do solo é 4,9 (testemunha), sendo considerado um solo extremamente ácido (MEURER, 2006). Com a aplicação do resíduo (secador) ocorreu a elevação do pH, atingiu valor de 7,8. A baritina não conferiu a elevação do pH, sendo que esse permaneceu praticamente constante para todas as doses (Figura 1)

Para todas as doses do resíduo e a baritina, a mortalidade ou fuga das unidades não ultrapassaram 10% (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**2), portanto, não foi possível detectar as doses letais (DL50 e DL20). Entretanto, observou-se que houve redução no peso de todas as minhocas para todos os tratamentos de todos e do resíduo, inclusive para a testemunha, quando comparado o peso inicial e final das mesmas (Figura3).



CONCLUSÕES

A quantidade de resíduo aplicado não foi suficiente para levar à morte 50 % dos indivíduos, entretanto, a aplicação do resíduo levou à redução do peso das minhocas.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a Roberto Silva, laboratorista de fauna do solo por todo o apoio, a CNPq pelo apoio financeiro, ao CPGA-CS, pela oportunidade de participar de eventos científicos, e a Petrobras.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. m. As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos: ed.Rima, 2003. 322p.
- BIGNELL, D.; CONSTANTINO, R.; CSUZDI, C.; KARYANTO, A.; KONATÉ, S.; LOUZADA, J. N. C.; SUSILO, F.X.; TONDOH, J. E.; ZANETTI, R. Macrofauna. In: MOREIRA, F. m. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. (Eds.). Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade. Lavras: UFLA, 2010.
- CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA n. 420, de 28 de janeiro de 2009. Brasília, 16 p.
- EDWARDS, C.A. Chapman and Hall. Biology and Ecology of Earthworms, London, 333 p. 1977.
- ISO 11466 International Standard:, Soil quality–Extraction of trace elements soluble in aqua regia, 03–01, 1995.
- ISO. Soil quality – Avoidance test for testing the quality soils and toxicity of chemical – Test with earthworms (Eisenia fetida). ISO draft 238. International Standard Organization. Paris, France. 2003.
- ISO. Soil quality – Effects of pollutants on earthworms (Eisenia fetida). Part 2. Determination of Effects on Reproduction. ISO 11268-2, International Standard Organization, Geneva. 1997.
- MEURER, E.J. Fatores que influenciam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. Fertilidade do solo. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. c. II, p.65-90.
- OECD - Organization for Economic Cooperation and Development - Guia para Testes Químicos nº207 (OECD - 1984).
- ZAR, J. Bioestatistical Analysis. Prentice-Hall, London, UK. 1996.

Tabela 1: Doses de bário para o resíduo do secador mg por kg de solo, teores de sódio em mg por kg de solo e quantidade dos resíduos aplicados em Mg/ha a uma profundidade de 20 cm utilizadas para o teste de mortalidade

	Resíduo do Secador				
	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4	Dose 5
mg Ba kg ⁻¹ solo	300	600	1200	2400	4800
mg Na kg ⁻¹ solo	127,7	255,4	518,8	1037,8	2075,6
Mg ha ⁻¹	23,40	46,80	93,6	187,2	374,4

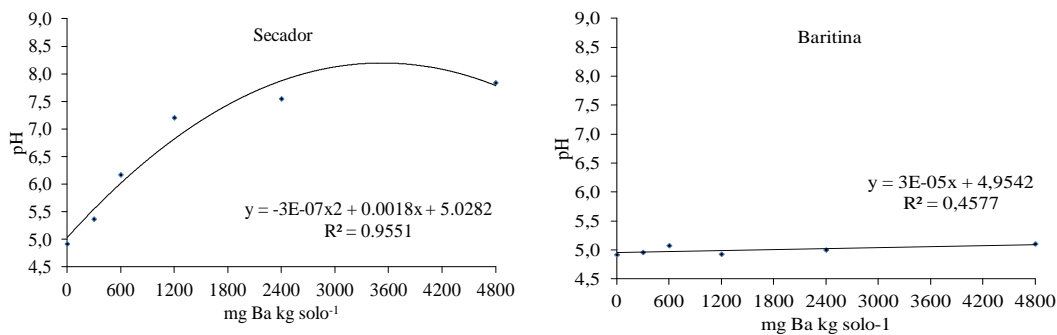


Figura 1: Influência dos resíduos secador, e da baritina no pH dos tratamentos

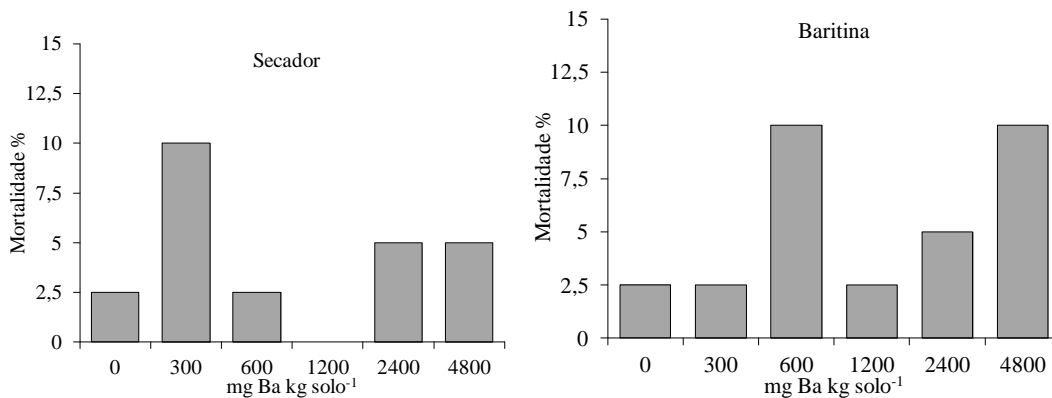


Figura 2: Mortalidade das minhocas em % para o resíduo do secador e a baritina

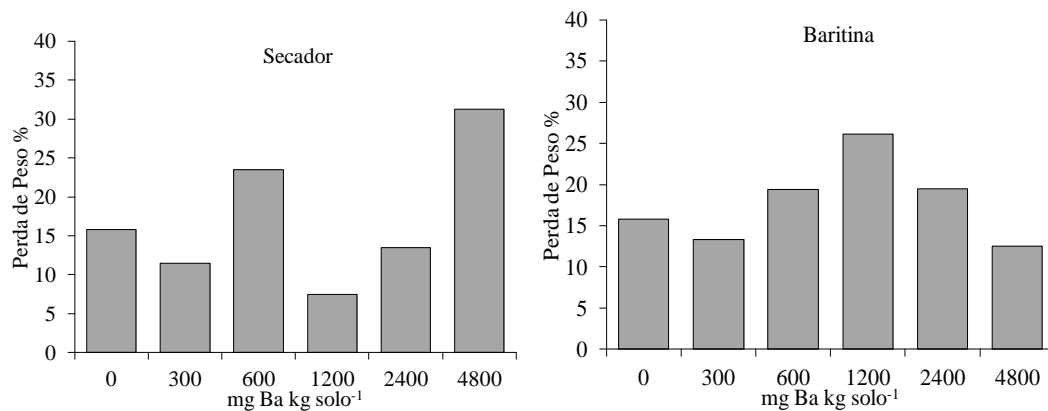


Figura 3: Perda de peso das minhocas em % para o resíduo do secador, e a baritina