

**MAICON DEISON GIRALDI**

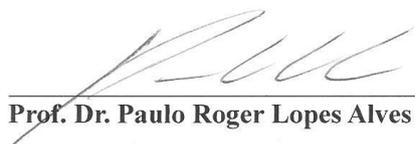
**ECOTOXICOLÓGICA DO FLUAZURON: EFEITOS SOBRE A  
ESPÉCIE *EISENIA ANDREI***

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito  
para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Ambiental da  
Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: **Prof. Paulo Roger Lopes Alves**

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e  
aprovado pela banca em: 02/12/2016

BANCA EXAMINADORA

  
**Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves – UFFS**

  
**Prof. Dr. Dilmar Baretta – UDESC**

  
**Prof. Dr. Jorge Luis Mattias - UFFS**

# AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DO FLUAZURON: EFEITOS SOBRE A ESPÉCIE *Eisenia andrei*

Maicon Deison Giraldi\*

Paulo Roger Lopes Alves \*\*

## Resumo

A grande quantidade de insumos veterinários usados no controle de parasitoses e doenças em bovinos tem como destino final os compartimentos ambientais, incluindo o solo. Entre os principais produtos para controlar os carrapatos nestes animais está o Acatak®, com o ingrediente ativo (i.a.) fluazuron. Considerando que muitos destes produtos atingem organismos não alvos do solo, tem-se a necessidade avaliar o potencial tóxico das doses do acaricida fluazuron sobre a fauna do solo, através de ensaios ecotoxicológicos terrestres. Neste sentido, foram realizados dois testes ecotoxicológicos: um analisando o comportamento (ensaio de fuga) e outro com vistas sob a reprodução dos organismos no solo (teste de toxicidade crônica). O organismo selecionado para os ensaios foram as minhocas da espécie *Eisenia andrei*, devido à sua elevada sensibilidade aos produtos químicos e por serem padronizadas pela ISO (International Standard Organization) para sua utilização em testes ecotoxicológicos. Em cada um destes ensaios, foram avaliadas cinco concentrações crescentes do i.a. fluazuron em solo artificial (0; 1,0; 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0 mg kg<sup>-1</sup> de solo seco). Verificou-se no teste comportamental que as minhocas evitaram o solo contendo concentrações a partir de 3,0 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto que no teste de toxicidade crônica não foram verificados efeitos significativos sobre a reprodução das oligoquetas, nem na maior dose testada de 12,0 mg kg<sup>-1</sup>. No teste de reprodução, após os 56 dias, também não foi verificado morte significativa das minhocas na maior dose testada. Com esses resultados pode-se observar que o fluazuron causou efeito no comportamento, mas não apresentou toxicidade as minhocas em concentrações até 12,0 mg kg<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** Bovinos; Acaricida; Minhocas; Ensaios ecotoxicológicos; Avaliação de Risco Ambiental.

## Abstract

The great amount of veterinary inputs used in the control of parasitoses and diseases in cattle has as final destination the environmental compartments, including the soil. Among the main products to control ticks in these animals is Acatak®, with the active ingredient (i.a.) fluazuron. Considering that many of these products reach non-target organisms, it is necessary to evaluate the toxic potential of fluazuron acaricide doses on soil fauna through terrestrial ecotoxicological trials. In this sense, two ecotoxicological tests were performed: one analyzing the behavior (leakage test) and the other with views under the reproduction of the organisms in the soil (chronic toxicity test). The organism selected for the trials was *Eisenia andrei* earthworms because of their high sensitivity to chemicals and because they are standardized by the ISO (International Standard Organization) for use in ecotoxicological tests. In each of these trials, five increasing concentrations of ia fluazuron were evaluated in artificial soil (0, 1.0, 3.0, 6.0, 9.0 and 12.0 (mg kg<sup>-1</sup> dry soil). In the behavioral test that the worms avoided the soil containing concentrations from 3.0 mg kg<sup>-1</sup>, whereas in the chronic toxicity test no significant effects were observed on the reproduction of the oligochaetes, nor in the highest tested dose of In the reproduction test, after 56 days, no significant death of the

worms was observed at the highest dose tested. With these results it can be observed that fluazuron had an effect on the behavior, but did not Earthworms at concentrations up to 12.0 mg kg<sup>-1</sup>.

Keywords: Cattle; Acaricide; Earthworms; Ectitiological tests; Environmental Risk Assessment.

## **INTRODUÇÃO**

Atualmente, o Brasil tem um papel de destaque na produção de bovinos, sendo um dos maiores produtores do mundo. Esta atividade tem contribuído significativamente para o PIB brasileiro, gerando uma receita de 5,5 bilhões de dólares com as exportações de carne, calçados e peles. As transformações que marcaram a pecuária de corte brasileira nos últimos anos são resultantes do aprimoramento das diversas técnicas de produção, tais como a utilização dos cruzamentos genéticos e o controle de alguns parasitas que assolam muitos rebanhos, os quais permitiram ganhos de volume e produtividade ao setor (LUCHIARI FILHO, 2006).

Entre os maiores entraves da produção de bovinos, estão os danos causados pelas parasitoses, principalmente quando se trata de animais mais jovens, com idade entre cinco e 18 meses, que são os mais suscetíveis a este tipo de praga. Os danos causados nesta fase de desenvolvimento dos animais são os grandes responsáveis pelos imensos prejuízos econômicos na bovinocultura e, quando associados à subnutrição, falhas de manejo e ineficácia dos antiparasitários, podem converter-se em fatores limitantes da pecuária (BIANCHIN et al., 1996).

As infestações por carrapatos, que tendem a causar perda de peso e produtividade, acabam acarretando inúmeras doenças tais como: anemia, tristeza parasitaria bovina, bicheiras, irritação, perfuração no couro entre outras complicações (FURLONG; SALES, 2007). Os carrapatos são artrópodes da classe Arachnida que, normalmente, atuam como ectoparasitas hematófagos. São classificados como parasitas, pois obrigatoriamente passam uma de suas fases de vida sobre os animais (FURLONG, 2005).

O tratamento das moléstias causadas pelos carrapatos em bovinos vem sendo largamente enfrentadas com a utilização de alguns tipos de acaricidas, tais como: fluazuron, amitraz, alfametrina, cypermetrina, deltametrina, fipronil, ivermectina, moxidectin entre

outros. Destaca-se o controle químico através do ingrediente ativo (i.a.) fluazuron, o qual tem sido recomendado via diversas formulações comerciais que podem ser pulverizadas, injetadas ou até mesmo via “pour-on” no dorso do animal, que vai do cupim até o rabo, como por exemplo o produto Akatac®. No caso deste tipo de controle, os animais devem receber 5,0 mL/50 Kg de peso corporal, o que protege os animais contra o aparecimento de formas adultas durante um período entre 8 e 12 semanas (PEREIRA NETO, 2011).

Após os animais receberem o tratamento para o controle de carrapatos, parte do i.a. é absorvida pelo metabolismo do animal, e uma fração desta parte absorvida pelo carrapato para atuar na inibição da síntese de quitina, assim interrompendo o seu ciclo de vida em vários estágios (FAO, 1998). Assim, os carrapatos não podem mudar de fase (larva, ninfa e adulta) e crescer, além de gerar má formação dos ovos. Apesar do fluazuron apresentar bons resultados no controle dos carrapatos, cerca de 62 - 81% é excretada pelo animal na sua forma inalterada (FAO, 1998). Deste modo, pode-se considerar que o controle dos carrapatos nestes animais é responsável por transferir para o solo, entre outros compartimentos ambientais, boa parte do produto aplicado (FURLONG, 2005).

O solo desempenha inúmeras funções na natureza: é o principal substrato para agricultura, regula os processos biogeoquímicos e realiza a maior parte da ciclagem de nutrientes vitais para a manutenção do planeta, onde boa parte destes serviços é atribuída aos organismos vivos (CANHOS et al., 1998). O solo é também um dos ecossistemas mais complexos existentes na natureza, pois este é o hábitat de uma enorme diversidade de táxons de animais (vertebrados e invertebrados) e microorganismos. Alguns autores estimam que um quarto de toda a biodiversidade atualmente conhecida esteja presente no solo (PEY; DECAENS, 2014). Contudo, sabe-se que o uso de pesticidas pode causar contaminação dos recursos hídricos, do solo e, conseqüentemente, efeitos deletérios a fauna edáfica. Estes efeitos podem variar desde a extinção de espécies benéficas, ou até mesmo causar resistência de espécies de pragas que são expostas aos contaminantes (BILA; DEZOTTI, 2003).

Para estimar efeitos de substâncias que podem causar danos a fauna do solo, utilizam-se análises químicas tradicionais e também uma crescente área derivada da toxicologia, denominada ecotoxicologia: “ciência que descreve os efeitos tóxicos de vários agentes químicos em organismos vivos, especialmente sobre as populações e comunidades nos ecossistemas” (TRUHAUT, 1977 apud ALVES, 2015). Durante os ensaios ecotoxicológicos terrestres padronizados, espécies da fauna do solo são expostas a concentrações crescentes de contaminantes com o objetivo de avaliar os efeitos apresentados em cada tipo de organismo,

tais como alterações comportamentais (fuga) e toxicidade aguda e crônica (efeitos na sobrevivência e reprodução, respectivamente) (CARDOSO; ALVES, 2012).

Considerando que concentrações significativas do acaricida fluazuron podem atingir o solo, em detrimento do seu uso no controle de carrapatos em bovinos, verifica-se a necessidade de avaliar os efeitos causados por este i.a. sobre a fauna do solo, de modo a identificar concentrações que apresentem efeitos negativos para espécies representativas e assim proteger as atividades desempenhadas por eles nos diversos ecossistemas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de ensaios ecotoxicológicos terrestres, os efeitos de doses crescentes do acaricida fluazuron sobre a reprodução sobrevivência e comportamento de minhocas da espécie *Eisenia andrei*.

## **METODOLOGIA**

As minhocas da espécie *Eisenia andrei* foram escolhidas para realização do estudo por serem padronizadas para ensaios ecotoxicológicos, apresentarem elevada sensibilidade a substâncias químicas, boa representatividade no solo e por serem de fácil cultivo laboratorial. Esses organismos, criados de acordo com a ISO 11268-2 (ISO, 2012) foram submetidos a testes de fuga (ISO, 2008) e toxicidade crônica (ISO, 2012), em solo artificial, com doses crescentes de 0,0; 1,0; 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0 mg de i.a. kg<sup>-1</sup> de solo seco, do acaricida fluazuron. Os testes foram desenvolvidos em laboratório em condições controladas.

## **SOLO ARTIFICIAL**

Para a preparação do solo artificial que foi utilizado nos testes, realizou-se uma mistura contendo 75% de areia, 20% de argila (caulim) e 5% de fibra de coco (peneirada em peneira de 2 mm). Essa mistura é comumente conhecida como Solo Artificial Tropical (SAT) e foi desenvolvida como substituta para o solo artificial OECD por (GARCIA, 2004). A umidade do solo foi corrigida antes da realização do ensaio para cerca de 60% da capacidade máxima de retenção água do solo (ISO, 2012).

## CRIAÇÃO DOS ORGANISMOS

As minhocas utilizadas nos testes foram obtidas de uma criação pré-estabelecida no laboratório de solos da UDESC- Oeste, em Chapecó-SC, as quais estavam sendo mantidas com base nos padrões estabelecidos pela ISO 11.268-2 (ISO, 2012). Os organismos foram pesados e selecionados de acordo com os seguintes critérios da ISO 11.268-2 (ISO, 2012): com minhocas adultas (com clitelo aparente), idade entre 2 meses a um ano e peso corporal entre 250 mg e 550 mg por indivíduo.

Para a multiplicação, manutenção e obtenção do número mínimo de organismos que foram utilizados nos testes, as minhocas foram selecionadas e acondicionadas em caixas plásticas com volume de 7,0 L com forma retangular, e com tampas perfuradas para a passagem do ar, onde foram inseridos 500 g de substrato. Este substrato foi composto por duas partes de esterco seco (equino) peneirado (em peneira de 2,0 mm) e uma parte de pó de fibra de coco sem a presença de umidade. Após esse processo, foi adicionada água destilada à mistura de maneira homogênea. Não foi necessária a correção do pH da mistura pois este se encontrava entre 5,5 e 6,0, conforme recomendado pela ISO 11268-2 (2012).

Posteriormente, foram inseridas cerca de 300 minhocas adultas em cada caixa, sendo um total de 3 caixas. As minhocas foram alimentadas com uma mistura de aveia cozida em flocos grossos e água destilada na proporção de 1:1 (v/v), semanalmente. O ambiente onde foram acondicionadas as caixas de criação encontrava-se com temperatura de  $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ , com um fotoperíodo de 12:12h luz: escuro.

## CONTAMINAÇÃO DO SOLO

A contaminação do SAT com o acaricida Acatlak foi realizada com as concentrações de 0,0; 1,0; 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0 mg do i.a fluazuron por kg de solo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ). As concentrações testadas foram baseadas no estudo realizado por Zortéa (2014), o qual verificou efeitos sobre a reprodução e o comportamento de colêmbolos da espécie *F. candida* a partir da concentração de 0,8 mg de fluazuron  $\text{mg kg}^{-1}$  de solo.

Considerando que a formulação comercial Acatlak é insolúvel em água, para o preparo das diluições das concentrações foi produzida uma solução estoque da formulação comercial em um solvente orgânico (acetona 99%), na proporção de 1/10, respectivamente. A partir da solução estoque, foram preparadas as concentrações selecionadas e 100 g de areia foram contaminadas com o volume correspondente a concentração desejada para o volume final de

SAT. A mistura foi homogeneizada e, a seguir, foram adicionados 200 g de areia ao volume inicial contaminado, os quais foram novamente homogeneizados, e assim sucessivamente até que se obtivesse 2,82 kg de areia para preparar 3,75 kg do SAT utilizado para cada ensaio.

Realizaram-se dois tratamentos controles, onde em um solo foi adicionado apenas água destilada, chamado de solo controle; e no outro foi adicionada uma maior concentração de acetona utilizada nas diluições do i.a, chamado de solo controle com solvente. Os valores de pH e umidade do solo foram determinados imediatamente após o início e ao fim dos testes, em todos os tratamentos/controles.

## ENSAIOS ECOTÓXICOLÓGICOS

### **Ensaio de Fuga**

Os ensaios de fuga são padronizados de acordo com a ISO 17512-1 (ISO, 2008). Este é um ensaio subletal rápido, que pode refletir a biodisponibilidade de contaminantes em solos naturais e substâncias adicionadas em solos contaminados sobre minhocas adultas da *E. andrei*.

O comportamento de fuga das minhocas pode ser avaliado neste ensaio, sendo que esse comportamento é uma tendência do organismo evitar o solo teste (solo com contaminante), em preferência do solo controle (solo sem contaminante).

Os ensaios de fuga foram realizados em caixas plásticas (16,7 cm de comprimento, 11,5 cm de largura e 6,1 cm de altura), divididas em dois compartimentos iguais por meio de um divisor de plástico rígido, inserido verticalmente. Em um dos lados, adicionou-se 250 g de solo tratado com a concentração do fluazuron e do outro lado adicionou-se 250 g de solo controle. Utilizaram-se cinco repetições para cada concentração de fluazuron. No início do ensaio, foi retirado o divisor de plástico rígido e 10 minhocas adultas, lavadas com água destilada, foram colocadas sobre a divisão entre solo teste e o solo controle. Os recipientes foram fechados com tampas perfuradas para permitir a passagem de ar. Durante a realização do teste, as oligoquetas não foram alimentadas. Após 48h do início, foi contado o número de indivíduos presente em cada compartimento. Além das doses de fluazuron, foram testados o controle e o controle solvente, sendo que este último serviu para verificar se a diluição influenciou ou não no resultado dos testes.

### **Ensaio de Reprodução**

Os ensaios de reprodução são padronizados de acordo com a ISO 11268-2 (ISO 2012) que é baseado na determinação de efeitos subletais de solos contaminados sobre minhocas adultas da espécie *E. andrei*. É um ensaio crônico e consegue avaliar seu potencial de efeitos subletais para minhocas adultas.

Os ensaios de reprodução foram realizados em recipientes plásticos circulares (14,8 cm de diâmetro e 9,8 cm de altura) onde foram adicionados 500 g de solo úmido com 5 concentrações as diferentes de fluazuron. Assim como nos ensaios de fuga, também foram realizados testes controle com água e controle solvente. As minhocas foram lavadas com água destilada e inseridas nos recipientes com os solos (contaminados/controles) para realização do experimento. Os recipientes foram fechados com tampa perfurada para permitir a passagem do ar. As minhocas foram alimentadas com 5g esterco equino desfaunado a cada 14 dias e receberam 5 mL de água por recipiente, semanalmente. O experimento teve um período total de 56 dias. Após 28 dias do início, foram retiradas as minhocas adultas, inseridas no início do teste e deixados apenas os eventuais juvenis e casulos produzidos. Neste momento, foi realizada uma contagem dos sobreviventes para avaliar a mortalidade das minhocas adultas. Após os 56 dias do início do ensaio, os recipientes de teste foram inseridos dentro de um Banho Maria com água a uma temperatura de 65°C por cerca de 50 minutos, para que os indivíduos se deslocassem até a superfície do solo e facilitasse a contagem.

### **Ambiente dos Ensaios**

Os ensaios de toxicidade crônica e os ensaios comportamentais (de fuga) foram realizados sala climatizada com condições controladas, onde a temperatura foi mantida em 20°C ±1 fotoperíodo de 12:12h luz: escuro.

### **ANALISE DOS DADOS**

O comportamento de fuga ( $X$ ), expresso em porcentagem, foi calculado de acordo com a equação da ABNT NBR 17512-1 (2008) apresentada abaixo:

$$x = \left( \frac{nc - nt}{N} \right) * 100$$

Onde:

$nc$  = é o número tal de minhocas no solo-controle (só uma das réplicas)

$nt$  = é o número de minhocas no solo teste (só uma das réplicas)

$N$  = é o número total de minhocas.

Analises entre controle-controle, controle-solvente, controle-contaminante do teste de fuga, foram realizadas através do “Fischer Exact Test”, de acordo com (ZAR, 1996). Além disso, o valor de AC 50, que é a concentração que causa 50% de fuga, foi estimada por meio do software PriProbit® 1.63 (SAKUMA, 1998). A partir destes resultados foram determinadas: a maior concentração testada sem efeito observado (NOEC) e a menor concentração testada com efeito observado (LOEC).

Os dados dos ensaios de toxicidade crônica (mortalidade e reprodução) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, as médias de minhocas juvenis dos solos testes foram comparadas com a média de minhocas juvenis encontradas no solo controle, através do teste de post-hoc de Dunnett, utilizando o pacote de software R® (Versão 2.5.2).

## RESULTADOS

Os valores de pH no início dos testes foram medidos logo após a aplicação das concentrações no SAT, onde pode ser verificado que o aumento da concentração não acarretava em grandes mudanças no pH, mesmo na maior concentração de fluazuron testada. Após 56 dias, com o término do teste de reprodução, foram efetuadas novamente medidas de pH onde pode-se verificar que a maior variação no período não ultrapassou 0,3 unidades, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1- Valores de pH do Solo artificial contaminando com concentrações de fluazuron, medidos no início e fim dos ensaios de toxicidade crônica com minhocas *E. andrei*.

Concentrações Testadas	pH de Início do Teste.	pH Após 56 Dias.
Controle	5,7	5,7
Controle Solvente	5,7	5,5
1,0	5,7	5,5
3,0	5,7	5,5
6,0	5,8	5,5
9,0	5,8	5,6
12,0	5,8	5,6

### Ensaio de Fuga

Nos ensaios de fuga, a mortalidade das minhocas foi inferior a 10% e a distribuição média nos duplos controles ficou entre 40% e 60%, ISO 17512-1 (ISO, 2008). Também não foram observadas diferenças no teste de controle duplo, baseado no “Fischer exact test”, assim cumprindo os critérios de validação determinados pela norma. Na primeira concentração testada 1,0 mg kg<sup>-1</sup>, não houve alteração comportamental significativa das oligoquetas. Entretanto, a partir concentração de 3,0 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 1), foi observado comportamento de fuga do solo contaminado, em preferência do solo controle. Além disso, verificou-se que este efeito foi maior com o aumento das concentrações, uma vez que o percentual de fuga foi maior nas concentrações mais altas de 6,0; 9,0 e 12,0 mg kg<sup>-1</sup> de contaminante no solo. Sendo assim, verificou-se que a maior concentração testada sem efeito observado (NOEC) foi de 1,0 mg kg<sup>-1</sup>, e a menor concentração testada com efeito observado LOEC foi de 3,0 mg kg<sup>-1</sup>. Além disso, os valores de AC50 (concentração que causa 50% de fuga) foi estimado em 4,78 mg kg<sup>-1</sup>, com os limites de confiança de 90% (limite inferior = 2,86; limite superior = 6,29).

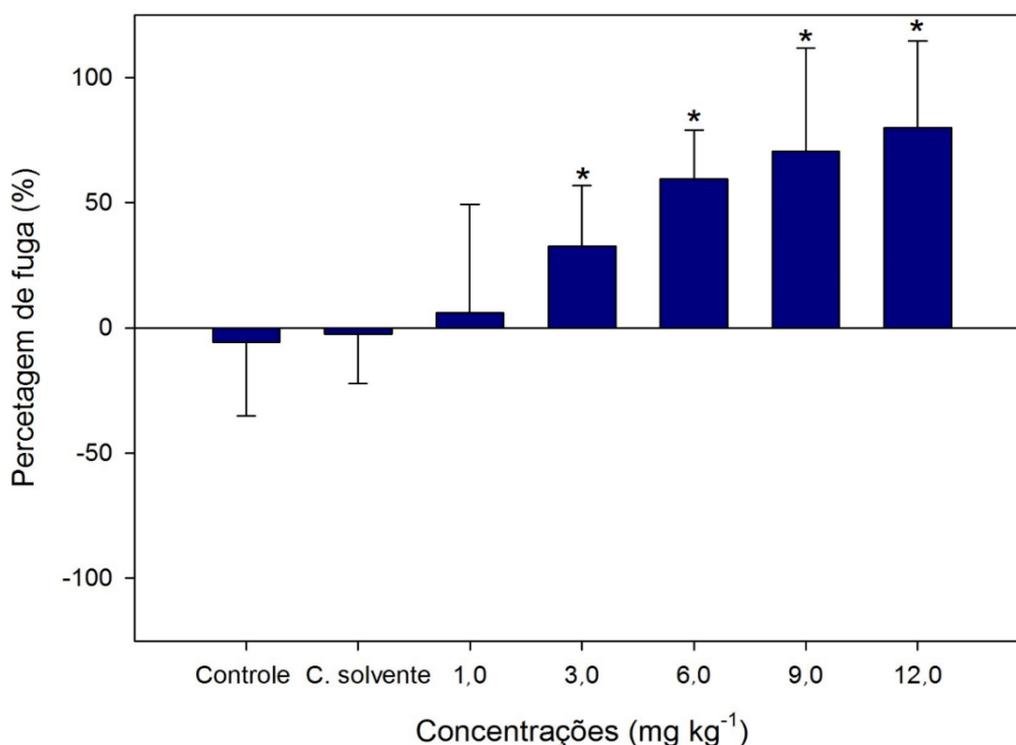


Figura 1: Comportamento de fuga de *Eisenia andrei* em solo artificial tropical (SAT), na presença de concentrações crescentes de fluazuron, após 48h. Os valores estão expressos em média de porcentagem de fuga. Asteriscos (\*) indicam fuga significativa das minhocas dos solos contaminados (Fischer's exact test,  $p < 0,05$ ).

## Ensaio de Reprodução

O teste de toxicidade crônica para avaliar a reprodução de *E. andrei* cumpriu todos os critérios de validação requeridos pela ISO 11268-2 (ISO, 2012), onde foram verificados os seguintes parâmetros: a taxa de produção de juvenis foi superior a 30 indivíduos por recipiente no controle, como mostra a Figura. E o coeficiente de variação da reprodução no controle não excedeu 30% e o percentual de sobrevivência de adultos observado nos controles foi  $\leq 90\%$ , como mostra a Figura 2.

No ensaio crônico de reprodução com *E. andrei*, não foram observados resultados significativos no número de juvenis, mesmo na maior dose testada. Em todas as concentrações testadas em solo artificial (0; 1,0; 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0 mg kg<sup>-1</sup> de solo seco), os organismos tiveram reprodução com número médio acima de 100 organismos para cada concentração testada, como mostra a Figura 3.

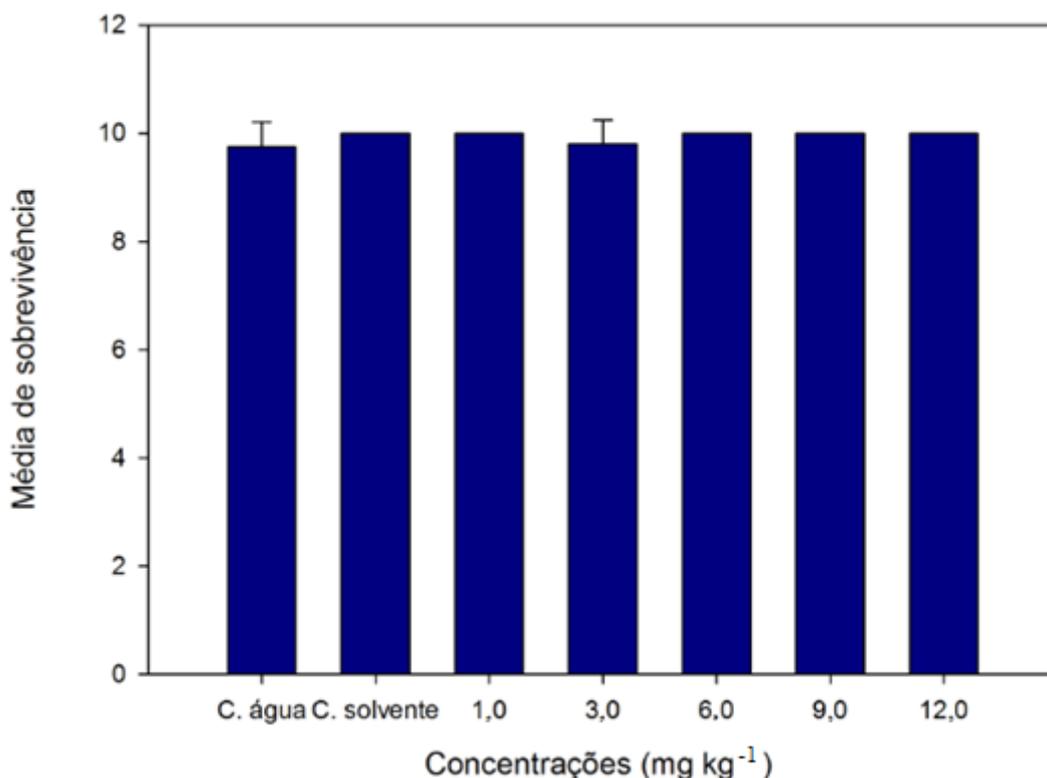


Figura 2- Médias de sobrevivência de indivíduos adultos da espécie *Eisenia andrei* na presença de concentrações crescentes de fluazuron, após 28 dias do início do teste de reprodução em solo artificial (SAT).

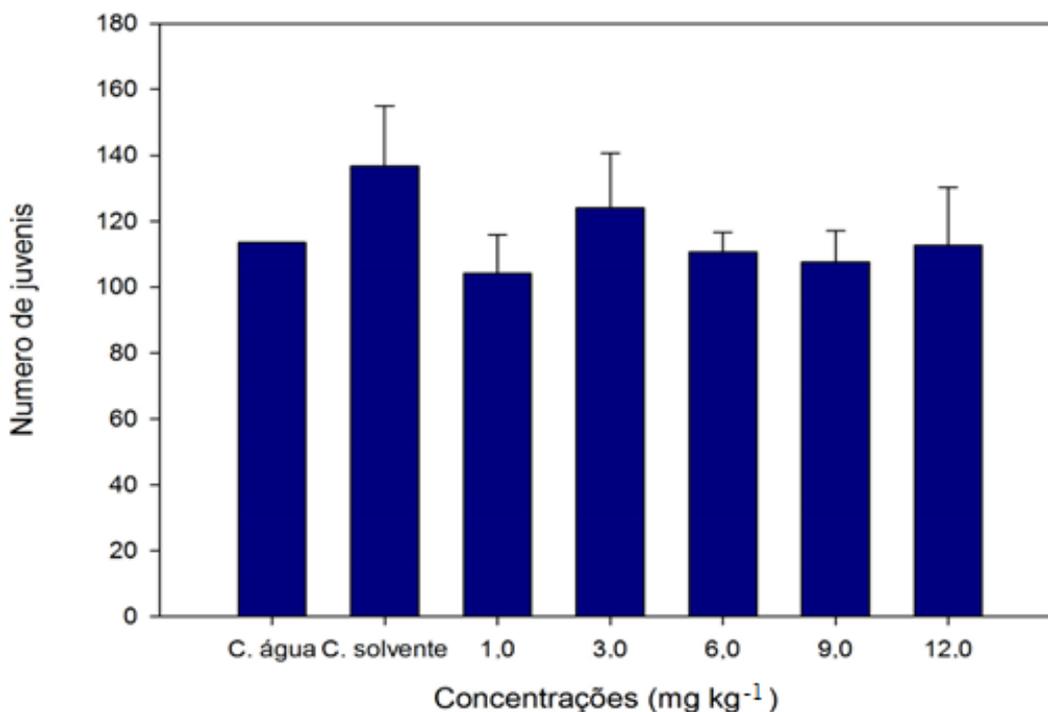


Figura 3: Número médio de juvenis de *Eisenia andrei* em solo artificial (SAT), na presença de concentrações crescentes de fluazuron, após 56 dias.

## DISCUSSÕES

Foi possível verificar nos ensaios de fuga com a espécie *E. andrei* que a presença de concentrações do i.a. fluazuron causou efeitos sobre o comportamento das minhocas. O comportamento de fuga ocorreu em doses a partir de 3,0 mg kg<sup>-1</sup>. Possivelmente, isso aconteceu por que grupos de células sensoriais presentes na epiderme das minhocas foram estimuladas pelo contaminante (Nunes, 2015). De modo geral, estas oligoquetas são expostas aos contaminantes através da absorção direta pela pele e através da ingestão de partículas do solo (efeito sobre a palatabilidade). Essa sensibilidade de detecção química, aliada às habilidades locomotoras, confere às minhocas a capacidade de evitar habitats adversos (STEPHENSON et al., 1997).

Nunes et.al. (2012) realizaram testes de evitação para determinar efeitos da formulação comercial de abamectina, onde foram testadas 5 concentrações variando de 0,88 a 7,00 mg a.i./kg Vertimec em SAT com *E. andrei*. Os autores verificaram o comportamento de evitação dos organismos em solos com doses a partir de 1,75 mg a.i./kg. Resultados semelhantes foram observados por Cantelli (2010) ao realizar testes com o agrotóxico tebuconazol, foi possível

observar que as minhocas da espécie *E. andrei* evitaram o solo contaminado com concentrações a partir de  $0,75 \text{ mg kg}^{-1}$ . De acordo com Cardoso e Alves (2012), quando isso acontece pode ser um indício de que a função habitat do solo está sendo prejudicada e, conseqüentemente, os serviços ecossistêmicos associados a este grupo de organismos também estão sendo prejudicados.

Já para o teste de reprodução não foram observadas variações significativas no número de juvenis gerados por *E. andrei*, como mostra a Figura 3. Além disso, não foi verificada a mortalidade sobre as oligoquetas adultas, como mostra a Figura 2. Nestes casos, as doses testadas do i.a. fluazuron provavelmente não foram suficientemente altas para interferir na reprodução e causar mortalidade das minhocas.

Em experimento realizado por Kryger (2004) que avaliou o efeito dos acaricidas fluazuron e ivermectina sobre a espécie de besouro *Onthophagus gazella*. Os bovinos receberam tratamentos  $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$  de massa do animal e também receberam injeções subcutâneas a 200 mg de ivermectina, e as fezes foram administradas aos besouros, onde não foi observado efeitos significativos. Outro estudo realizado por Kryger (2006), onde utilizou experimento utilizando fezes de bovinos tratados com concentração  $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$  de massa corporal, onde os besouros *Onthophagus gazella* tiveram duas gerações avaliadas. Na primeira geração foram avaliados os adultos sobreviventes e na segunda avaliação utilizando os sobreviventes foi analisada a fecundidade dos organismos, não encontrando efeitos significativos nas duas gerações testadas. Os artigos citados serviram como referência para determinar as concentrações utilizadas, porém, mesmo a maior concentração testada não foi o suficiente para afetar negativamente a taxa de desenvolvimento das oligoquetas.

Por outro lado, já é conhecido que, em doses semelhantes às deste estudo, colêmbolos da espécie *Folsomia candida* tiveram redução significativa ( $\text{LOEC} = 0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) no número de juvenis (ZORTÉA, 2014). De acordo com o estudo realizado por Zortéa (2014), o impacto do fluazuron sobre a reprodução dos colêmbolos ocorre devido ao modo de ação das benzoiluréias, que atuam por meio da inibição da síntese de quitina ou do depósito correto de quitina na cutícula, que é o maior componente estrutural de exoesqueletos de artrópodes (ISHAAYA; CASSIDA 1974; VERLOOP; FERREL, 1977; HSIAO et al., 2012). Entretanto, isto pode variar de acordo com o modo de exposição das espécies; enquanto as minhocas são expostas pela absorção direta pela pele e através da ingestão de partículas do solo, os colêmbolos são expostos através de órgãos específicos, sendo verificados efeitos nos sistemas nervoso e muscular (WOLSTENHOLME; ROGERS, 2005; DOURMISHEV; SCHWARTZ,

2005; MENEZES OLIVEIRA et al., 2009). Além disso, as distintas espécies possuem diferentes capacidades de tolerar a presença dos contaminantes, o que é dependente da interação dos diferentes modos de ação da substância com cada grupo de organismos, bem como da capacidade de destoxificação específica (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006).

Experimentos realizados por Berni Neto (2014) em mamíferos apontaram baixa toxicidade do fluazuron, caso este seja ingerido. Em testes com ratos, estes apresentaram LD50 acima de 2.000 mg kg<sup>-1</sup>. No entanto, a exposição dérmica em ratos necessita de um LD50 (dose letal para 50% da população) maior que 4.000 mg kg<sup>-1</sup>. Ainda no estudo de Berni Neto (2014), a inalação do fluazuron em ratos não foi determinada, contudo verificaram-se fortes irritações nos olhos, pele e irritações moderadas no sistema respiratório.

No presente estudo, as minhocas apresentaram fuga e não houve efeitos significativos sobre a reprodução. Este conjunto de efeitos pode ser atribuído ao fato de que o fluazuron apresenta o tempo de meia vida razoavelmente curto. Berni Neto (2014) determinou que o tempo de meia vida do fluazuron varia de acordo com o pH do solo sendo: 14 dias no pH=3; 7 dias no pH=5; 20 horas no pH=7 e de 30 minutos no pH=9. Nesse sentido, se for considerado que os experimentos ocorreram em solo com valores de pH entre 5,5 a 5,8, conforme visto na Tabela 1, e que o teste de fuga foi realizado durante as primeiras 48 horas após a contaminação do solo, é possível inferir que a maior parte das moléculas de fluazuron ainda estavam em sua forma integral ou pouco degradada no momento deste ensaio, e assim causaram o efeito observado. Contudo o teste de reprodução ocorreu durante 56 dias e, de acordo com os resultados obtidos por Berni Neto (2014), boa parte (superior a 50%) das moléculas do i.a. já teriam se transformado. Neste caso, esta poderia ser uma explicação para a ausência de efeito significativo nas minhocas da espécie *E. andrei*.

Diversos estudos vêm sendo realizados para avaliar os impactos de produtos fitossanitários no solo. Neste estudo foram verificados efeitos sobre o comportamento e reprodução das minhocas em SAT, entretanto não apresentando efeitos significativos na reprodução. O presente estudo pode servir de ponto de partida para próximos estudos, tais como: utilizar maiores concentrações do i.a fluazuron nos testes de reprodução, realizar de outros tipos de estudos para elucidar os mecanismos de ação que levam a alterações comportamentais, bem como a realização de ensaios com solo natural também é recomendada.

## CONCLUSÃO

As minhocas da espécie *Eisenia andrei* tiveram seu comportamento afetado, apresentando fuga do solo contaminado, quando foram expostas a concentrações a partir de 3,0 mg kg<sup>-1</sup>. Estes resultados ficaram mais evidentes quando os organismos foram expostos a concentrações maiores de 9 mg kg<sup>-1</sup>.

No ensaio crônico de reprodução, não foram observadas variações significativas no número de juvenis gerados, em nenhuma das concentrações testadas, até uma concentração de 12,0 mg kg<sup>-1</sup>, que foi a concentração máxima utilizada no teste.

Esse estudo pode ser utilizado em pesquisas futuras, sendo um ponto de referência, pois existem poucas pesquisas sobre os impactos do fluazuron sobre os organismos do solo. Porém, são necessários outros estudos ecotoxicológicos de forma complementar as análises, utilizando outras classes de organismos e de solos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, P.R.L. et al. Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. **Chemosphere**, Oxford, v. 90, p. 2674-2682, 2013.

\_\_\_\_\_. Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, San Diego, v. 105, p. 65-71, 2014.

ALVES, P. R. L. **Avaliação ecotoxicológica da vinhaça de cana de açúcar no solo**. 2015. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11140/tde-30042015-145435/en.php>>. Acesso em: 17 de abr. de 2016.

BERNI NETO, E. A. **Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo amitraz, fluazuron e/ou violaceína para o uso na pecuária**. 2014. 140f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Campinas, 2014.

BIANCHIN, I. et al. **Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte nos cerrados e o controle estratégico no Brasil**. EMBRAPA-CNPGC, 120p. Circular Técnica, 1996. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104809/1/Epidemiologia-dos-nematoideos-gastrintestinais.pdf>>. Acesso em: 17 de abr. 2016.

BILA, D.M.; DEZOTTI, M. **Fármacos no meio ambiente**. COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro. **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, Vol. 26, No. 4, p. 523-530, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v26n4/16435.pdf>>. Acesso em: 16 de abr. de 2016.

CANHOS, V. P. et al. **Estratégia nacional de diversidade biológica**. Microrganismos e biodiversidade de solos. [S.l., s.n.], 1998. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf\\_chm\\_rbbio/\\_arquivos/Microrganismos%20e%20Biodiversidade%20de%20solos.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/Microrganismos%20e%20Biodiversidade%20de%20solos.pdf)>. Acesso em: 17 de abr. de 2016.

CANTELLI, K. et al. **Efeito do tebuconazol no comportamento de fuga de *Eisenia andrei* em ensaios de laboratório com solo natural**. In: FERTBIO. Guarapari. ES.2010.

CARDOSO, E.J.B.N.; ALVES, P.R.L. Soil ecotoxicology. In: Dr. Ghousia Begum (Ed.). **Ecotoxicology**. Rijeka: In Tech – Open Access Publisher, 2012. cap. 2. P 27-50.

DOURMISHEV, A. L.; SCHWARTZ, R. A. Ivermectin: Pharmacology and application in dermatology. **Int. J. Dermatol**, [S.l.], v. 44, p. 981–988, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Residues of some veterinary drugs in animals and foods**. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/w8338e/w8338e00.htm#Contents>. Acesso em: 20 out. 2016.

FURLONG, J.; SALES, R.O. **Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão**. EMBRAPA – Gado de Leite. Universidade Federal do Ceará. Ceará, 2004. Anais:

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. v. 1, n. 2, p. 44 – 72, 2007. Disponível em: <<http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/46>>. Acesso em: 17 de abr. 2016.

FURLONG, J. **Carrapato: problemas e soluções**. Embrapa Gado de Leite. 65 p. Juiz de Fora-MG. 2005. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/132467/1/Livro-Carrapatos-problemas-e-solucoes.pdf>>. Acesso em: 17 de abr. 2016.

GARCIA, M.V.B. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. 2004. 283p. Ph.D- University of Bonn. Germany. 2004.

GARCIA, M. et al. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. **Environ Pollut**, [S.l.], v. 153, p. 450–456. 2008.

HSIAO, E. Y. et al. Modeling an autism risk factor in mice leads to permanent immune dysregulation. **PNAS**, [S.l.], v. 109, p. 1-6, 2012.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 17512-1: **Soil quality-avoidance tests for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior**. Pt 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*) Geneva, 2008. 26p.

\_\_\_\_\_. ISO 11268-2: **Soil quality-effects of pollutants on earthworms. Pt 2: Determination of effects on reproduction of Eisenia fetida/Eisenia andrei**. Geneva, 2012. 21p.

ISHAAYA, I.; CASIDA, J. E. **Dietary TH 6040 alters composition and enzyme-activity of housefly larval cuticle**. Pestic Biochem Physiol., 4:484–490, 1974.

KRYGER, U. et al. **Effects of cattle treatment with a fluazuron pour-on on survival and reproduction of the dung beetle species *Onthophagus gazella* (Fabricius)**. Pretoria, Africa do Sul, v.143, p.380–384, 2006.

KRYGER, U.; DESCHODT, C.; SCHOLTZ, C.H. Effects of fluazuron and ivermectin treatment of cattle on the structure of dung beetle communities. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. Pretoria, Africa do Sul, v. 105, p. 649–656, 2004.

LUCHIARI FILHO, A. **Produção de carne bovina no Brasil**. Qualidade, quantidade ou ambas? II SIMBOI - Simpósio sobre Desafios e Novas Tecnologias na Bovinocultura de Corte, Brasília-DF, 2006. Disponível em: <<http://www.abccriadores.com.br/newsite/images/Artigos/produo%20de%20carne%20bovina%20no%20brasil.pdf>>. Acesso em: 17 de abr. de 2016.

MENEZES OLIVEIRA, V. et al. Os medicamentos veterinários no meio ambiente: aplicações e implicações. **CAPTAR**, [S.l.] v.1, p. 183-192, 2009.

NUNES, M.ET.; DAMM, M.A.;ESPÍNDOLA, E.L.G. **Survival, morphology and reproduction of *Eisenia andrei* (Annelida,Oligochaeta) as affected by Vertimec1 18 EC (a.i. abamectin) in tests performed under tropical conditions**. Contents lists available at ScienceDirect. Applied Soil Ecology. P 18-26. 2015.

NUNES, M.E.T.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Sensitivity of *Eisenia Andrei* (Annelida Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance test with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. **Ecotoxicology**, Dordrecht, v. 21, p. 1063 – 1071, 2012.

PEREIRA NETO, O. **Estratégias de controle do carrapato dos bovinos**. Novartis animal health. [S.l.], 2011. Disponível em: < [http://www.nespro.ufrgs.br/arquivos/workshop\\_carrapato/norvatis\\_animal\\_health.pdf](http://www.nespro.ufrgs.br/arquivos/workshop_carrapato/norvatis_animal_health.pdf)> Acesso em: 15 nov. 2016.

PEY B., DECAENS T. **Current use of and future needs for soil invertebrate functional traits in community ecology**. New York. Elsevier, 278 p, 2014.

SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 33, p. 339-347, 1998.

SARMAH, A.K.; MEYER, M.T.; BOXALL, A.B.A. **A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment**. Chemosphere, 2006.

STEPHENSON, G.L. et al. **Use of an avoidance-response test to assess the toxicity of contaminated soils to earthworms**. In: Sheppard, S.C., Bembridge, J.D., Holmstrup, M., and Posthuma, L. (Eds.), *Advances in earthworm ecotoxicology*. Pensacola, Florida: SETA, p. 67–81, 1997.

TRUHAUT, R. **Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives**. Ecotoxicology and environmental safety. San Diego, v.1, 1977.

VERLOOP, A.; FERREL, C. D. **Benzoylureas – a new group of larvicides interfering with chitin deposition**. In "Pesticide chemistry in the 20th Century", 37. Washington, 1977. Anais. Washington, American Chemical Society, 1977. P. 237- 270.

ZAR, J. **Biostatistical Analysis**. 3.ed. London: Prentice-Hall. 1996. 663p

ZORTÉA, T. **Impacto ambiental de medicamentos utilizados no controle de parasitas em bovinos sob a reprodução de colêmbolos *Folsomia candida***. 32 f. (Departamento de Zootecnia). Universidade do Estado de Santa Catarina. Chapecó. SC. 2014.

WOLSTENHOLME, A. J.; ROGERS, A. T. **Glutamate-gated chloride channels and the 628 mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics**. Parasitology, v. 131, p. 85 – 95, 2005.