

THUANNE BRAÚLIO HENNIG

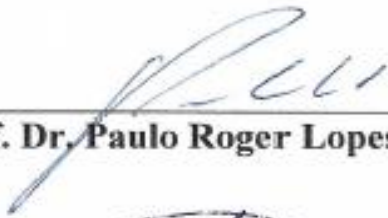
**INFLUÊNCIA DO REGIME DE UMIDADE DO SOLO NA TOXICIDADE DE
IMIDACLOPRID SOBRE AS ESPÉCIES *E. ANDREI* E *F. CANDIDA*, EM DOIS
TIPOS DE SOLO**

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

Orientador: **Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves**

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e
aprovado pela banca em: 07 / 12 / 2019

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves – UFFS



Prof. Dr. Marco Aurélio Tramontin da Silva – UFFS



Eng. Felipe Ogliari Bandeira

1 INFLUÊNCIA DO REGIME DE UMIDADE DO SOLO NA TOXICIDADE DE
2 IMIDACLOPRID SOBRE AS ESPÉCIES *E. andrei* E *F. candida*, EM TRÊS TIPOS DE
3 SOLOS TROPICAIS

4
5 Thuanne Braúlio Hennig¹
6 Paulo Roger Lopes Alves²
7

8 **RESUMO**
9

10 Estudar os limites de tolerância de organismos edáficos expostos a contaminantes é de
11 fundamental importância para a avaliação dos efeitos negativos de pesticidas sobre o
12 ecossistema do solo e suas diversas funções. Considerando que variações nos padrões
13 de precipitação são previstas, em decorrência das mudanças climáticas, é esperado que
14 a biodisponibilidade e, conseqüentemente, a toxicidade de agrotóxicos sofram alterações
15 conforme o regime de umidade do solo. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade
16 de concentrações crescentes de imidacloprid (ingrediente ativo – i.a.) para minhocas da
17 espécie *Eisenia andrei* e colêmbolos da espécie *Folsomia candida*, em três tipos de solo:
18 Solo Artificial Tropical (SAT), Latossolo e Neossolo, os quais foram submetidos a
19 condições adequadas de umidade (60% da CRA) e de restrição hídrica no solo (30% ou
20 45% da CRA). Os ensaios ocorreram no Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia
21 da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó (SC) e foram montados
22 conforme as diretrizes das normas que regem quanto aos ensaios de toxicidade
23 realizados com minhocas (ISO 11268-2/2012 e OECD 207/1984) e colêmbolos (ISO
24 11267/1999). Em ambos regimes de umidade de todos os solos avaliados, foram
25 observados efeitos de mortalidade e redução na reprodução das espécies testadas,
26 quando na presença de concentrações do i.a. No entanto, os valores dos endpoints
27 obtidos nos solos com menor teor de umidade para ensaios com colêmbolos indicaram
28 que a toxicidade do i.a. foi potencializada em situações de maior restrição de água no
29 solo. Além disso, para o Latossolo e para o Neossolo, alguns valores de toxicidade foram
30 significativamente menores do que os valores previstos no ambiente para o imidacloprid,
31 indicando maior risco para o ecossistema do solo. Os resultados obtidos puderam refletir
32 as respostas dos organismos quando submetidos à combinação destes estressores
33 naturais e químicos, indicando que a umidade do solo influencia significativamente na
34 toxicidade do imidacloprid.
35

36 **Palavras-chave:** Ecotoxicologia terrestre; Minhocas; Colêmbolos; Mudanças Climáticas;
37 Neonicotinóides.

¹ Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó - SC. E-mail: thuanne_hennig@hotmail.com

² Professor do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó - SC. E-mail: paulo.roger.lopes@gmail.com

38 INFLUENCE OF THE SOIL MOISTURE REGIME ON IMIDACLOPRID TOXICITY ON
39 THE SPECIES *E. andrei* AND *F. candida*, IN THREE TYPES OF TROPICAL SOILS
40

41 **ABSTRACT**
42

43 Studying the tolerance limits of edaphic organisms exposed to contaminants is of
44 fundamental importance for the evaluation of the negative effectS of pesticides on the soil
45 ecosystem and its various functions. Considering that variations in precipitation patterns
46 are predicted due to climatic changes, it is expected that the bioavailability and,
47 consequently, the toxicity of pesticides will change according to the soil moisture regime.
48 The objective of this study was to evaluate the toxicity of increasing concentrations of
49 imidacloprid (a.i.) for earthworms *Eisenia andrei* and collembolans *Folsomia candida* in
50 three types of soil: Tropical Artificial Soil (TAS), Oxisol and Entisol, which were submitted
51 to adequate moisture conditions (60% of WHC) and soil water restriction (30% or 45% of
52 WHC). The experiments were carried out in the Laboratory of Botany, Ecology and
53 Entomology of the Federal University of the South Frontier, Campus Chapecó (SC) and
54 were set up according to the norms of toxicity control carried out with earthworms (ISO
55 11268-2 / 2012 and OECD 207/1984) and collembolans (ISO 11267/1999). In both
56 moisture regimes of all evaluated soils, mortality and reduction effects on the reproduction
57 of the tested species were observed when in the presence of a.i. However, the values of
58 the end points obtained in soils with lower moisture content for springtails tests indicated
59 that the toxicity of a.i. was potentiated in situations of reduced soil water. In addition, for
60 Latosol and Neosol, some toxicity values were significantly lower than the predicted
61 values in the environment for imidacloprid, indicating a potential risk to soil ecosystem.
62 The results obtained could reflect the responses of the organisms when submitted to the
63 combination of these natural and chemical stressors, indicating that soil moisture
64 significantly influences the toxicity of imidacloprid.
65

66 **Keywords:** Terrestrial Ecotoxicology; Earthworms; Springtails; Climate Changes;
67 Neonectinoids.

68 1 INTRODUÇÃO

69

70

71

72

73

74

O principal modelo de produção agrícola existente no Brasil baseia-se no uso intensivo de insumos e técnicas com vistas ao aumento da produtividade (EMBRAPA, 2014). Neste sentido, o uso de pesticidas em culturas agrícolas merece destaque, visto que o Brasil ocupa a posição de maior consumidor de agrotóxicos no mundo (Nunes et al., 2016).

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

O tratamento químico de sementes é uma prática que possibilita o controle de pragas que possam comprometer o desenvolvimento da cultura em sua fase inicial (Douglas e Tooker, 2015). Neste contexto, destaca-se o imidacloprid, neonicotinóide amplamente utilizado na proteção de culturas através do tratamento químico de sementes (Vaikkinen, et al., 2015). Este ingrediente ativo (i.a.) pode ser encontrado em diversas formulações comerciais de inseticidas para este fim, com destaque para o produto Much 600 FS®, que é comercializado no Brasil. A intensa utilização deste inseticida deve-se ao seu eficiente mecanismo de ação sobre uma gama de insetos que possam comprometer o crescimento das plantas. Este i.a. atua no sistema nervoso dos organismos, causando o bloqueio de receptores e o acúmulo do neurotransmissor acetilcolina, que pode levar a paralisia e morte dos organismos (Buffin, 2003).

86

87

88

89

90

91

92

93

Ainda que traga benefícios às culturas, o uso deste i.a. pode causar impactos negativos no ambiente, tal como efeitos deletérios já comprovados sobre o ecossistema terrestre (Alves et al., 2013; Alves et al., 2014; Wang et al., 2016; Ogungbemi e Van Gestel, 2018). No solo, os invertebrados edáficos exercem importantes funções ecossistêmicas tais como a ciclagem de nutrientes, a decomposição da matéria orgânica e a manutenção da estrutura do solo (Brady; Weil, 2013). Desta maneira, a exposição deste grupo de receptores ao imidacloprid pode resultar em perdas de serviços ecossistêmicos importantes.

94

95

96

97

98

99

100

101

Além disso, sabe-se que o clima exerce influência significativa sobre a dinâmica dos poluentes no solo (DeCLour et al., 2015; Nadal et al., 2015). De acordo com o *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC, 2013), as mudanças climáticas que vêm ocorrendo podem alterar os padrões de precipitação ao longo dos anos e, diante deste cenário, vários estudos já demonstraram que o aumento da temperatura e a alteração de umidade do solo devem alterar a dinâmica dos poluentes no solo e influenciar a toxicidade dos contaminantes sobre os receptores ecológicos (DeCLour et al., 2015).

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

Para avaliar o efeito de substâncias químicas sobre o ecossistema terrestre, espécies bioindicadoras têm sido expostas a diferentes níveis de contaminação em uma abordagem prospectiva. Colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e minhocas da espécie *Eisenia andrei* vêm sendo amplamente utilizadas como bioindicadores em estudos ecotoxicológicos, por se tratarem de espécies edáficas representativas e apresentarem alta sensibilidade aos contaminantes e boa reprodutibilidade em laboratório (Alves; Cardoso, 2016). Em geral, estes estudos são padronizados por normas estabelecidas por agências internacionais (International Organization for Standardization - ISO e Organization for Economic Co-operation and Development - OECD) para facilitar a comparação dos resultados entre laboratórios. Porém, a maioria dos estudos ecotoxicológicos padronizados têm sido realizados em solo artificial (OECD nº 207, 1984) e em regime de temperatura e umidade considerados “ideais” para as

114 espécies utilizadas (Van Gestel, 2012). Nestas condições, a maioria destes estudos não
115 levam em consideração às propriedades intrínsecas dos solos naturais, nem as
116 alterações em fatores ambientais como a umidade do solo, os quais pode influenciar a
117 toxicidade dos contaminantes sobre organismos do solo.

118 A umidade é considerada um dos fatores ecológicos fundamentais para o equilíbrio
119 do ecossistema terrestre (Brady e Weil, 2013). Alguns estudos ecotoxicológicos já
120 constataram que, em um possível cenário futuro, a restrição da umidade no solo –
121 resultante da redução dos regimes de precipitação – associada à contaminação, devem
122 causar diminuição na reprodução, além de outros efeitos biológicos negativos aos
123 organismos da meso e macrofauna (Long et al., 2009; Bandow, et al., 2014a; Bandow, et
124 al., 2014b; Barmiento, et al., 2017). Entretanto, a influência do teor de umidade do solo
125 na toxicidade de pesticidas para invertebrados edáficos em solos tropicais ainda não é
126 bem esclarecida. Neste sentido, objetivou-se neste estudo determinar os efeitos
127 ecotoxicológicos do imidacloprid sobre a sobrevivência e reprodução de colêmbolos e
128 minhocas em dois solos naturais tropicais e em um solo artificial, submetidos a regimes
129 de umidade que simulassem situações de maior disponibilidade e maior restrição hídrica.
130

131 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

132

133 **2.1 ORGANISMOS TESTE**

134

135 Para a realização dos bioensaios, duas espécies de invertebrados do solo foram
136 selecionadas: colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e minhocas da espécie *Eisenia*
137 *andrei*. A criação dos organismos e os testes ecotoxicológicos foram realizados no
138 Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da Universidade Federal da Fronteira
139 Sul, campus Chapecó (SC), sob regime controlado de temperatura e luminosidade ($20 \pm$
140 2 °C e fotoperíodo de 12 h), conforme as diretrizes da ISO 11267 (ISO, 1999) e ISO
141 11268-2 (ISO, 2012).

142 Os colêmbolos foram criados em recipientes plásticos contendo uma mistura de
143 gesso, água e carvão ativado na proporção de 10:7:1, respectivamente. Duas vezes por
144 semana, os organismos foram alimentados com levedura granulada seca
145 (*Saccharomyces cerevisiae*) e a umidade dos meios de criação foi corrigida com algumas
146 gotas de água destilada. Para a realização dos ensaios ecotoxicológicos, foram utilizados
147 colêmbolos sincronizados com idade entre 10 e 12 dias, conforme recomendado pela
148 ISO 11267 (ISO, 1999).

149 As minhocas da espécie *E. andrei* foram criadas em um substrato composto por
150 uma mistura de esterco de cavalo seco e peneirado (livre de qualquer medicamento
151 veterinário), fibra de coco seca, e areia fina na proporção de 2:1:0,1, respectivamente. O
152 substrato foi umedecido com água destilada e foi transferido para caixas de plástico com
153 aberturas na tampa para permitir a aeração do meio. Uma vez por semana, a umidade
154 do meio foi corrigida e 10 g de mingau de aveia em flocos foram oferecidos como alimento
155 para as oligoquetas. Para os ensaios ecotoxicológicos, foram utilizadas minhocas com
156 clitelo aparente e peso entre 250 e 600 mg. As minhocas foram aclimatadas por, pelo
157 menos, 24 horas no solo teste antes do início do ensaio.

158 2.2 SOLOS TESTE

159

160 Para a realização dos ensaios foram utilizados três tipos de solo, sendo um solo
161 artificial, produzido em laboratório, e dois solos naturais coletados em diferentes locais
162 de Santa Catarina. Os parâmetros químicos e físicos dos solos teste foram determinatos
163 pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI.

164 O solo artificial utilizado nos bioensaios consiste em uma versão modificada do
165 solo OECD (1984), denominado Solo Artificial Tropical (SAT), proposto por Garcia (2004)
166 como uma adaptação para condições de clima tropical. Este solo é composto por areia
167 fina, argila caulínica e fibra de coco na proporção de 75:20:5, respectivamente. Quando
168 necessário, o pH do SAT foi corrigido com CaCO_3 até que se atingisse um valor entre 5,5
169 e 6,5.

170 Dois solos naturais com características físico-químicas distintas foram utilizados
171 nos testes: um Neossolo Quartzarênico (solo arenoso) coletado no município de
172 Araranguá (SC) e um Latossolo Vermelho Distrófico (solo argiloso), coletado no município
173 de Chapecó (SC). As amostras dos solos foram coletadas em áreas sem histórico de
174 contaminação, na camada superficial de 0 a 20 cm de profundidade. As amostras foram
175 peneiradas (# 2 mm) e desfaunadas através de três ciclos de congelamento e
176 descongelamento.

177

178 2.3 SUBSTÂNCIA TESTE

179

180 O ingrediente ativo Imidacloprid, em sua formulação comercial para o tratamento
181 de sementes (Much 600 FS®, 600 g L⁻¹), foi a substância testada.

182 As concentrações (expressas em mg de i.a. kg⁻¹ de solo seco - mg kg⁻¹) adotadas
183 nos ensaios (Tabela 1) foram determinadas com base em testes preliminares realizados
184 em laboratório e com base em alguns estudos ecotoxicológicos existentes (Alves et al.,
185 2013; Alves et al., 2014; Van Gestel et al., 2017). Imediatamente antes do início dos
186 testes, as amostras de solo receberam a solução contendo diferentes concentrações do
187 i.a., ou apenas água destilada (no caso do tratamento controle), e em seguida, o conteúdo
188 foi homogeneizado em sacos plásticos.

189 Com base nos cálculos descritos por Alves et al (2013), as concentrações
190 previstas no ambiente (PEC) foram estimadas para o SAT e Latossolo, assumindo uma
191 densidade de 1,0 g cm⁻³, e para o Neossolo, considerando uma densidade de 1,5 g cm⁻³.
192 Para o cálculo das PECs (Tabela 1), também foi considerado uma única aplicação de
193 120 g i.a. ha⁻¹ e uma incorporação do inseticida na profundidade de 0 a 5 cm do perfil
194 (Alves et al., 2013).

195 **Tabela 1.** Concentrações de imidacloprid (mg de i.a. kg⁻¹ de solo seco) previstas no
 196 ambiente (PEC) e utilizadas nos testes de toxicidade aguda e crônica realizados em SAT,
 197 Neossolo e Latossolo, para cada organismo teste (*F. candida* e *E. andrei*).
 198

Solo	PEC (mg.kg ⁻¹)	Organismo	imidacloprid (mg kg ⁻¹)	
			Teste de toxicidade aguda	Teste de toxicidade crônica
SAT	0,24	<i>F. candida</i>	0; 4; 8; 16; 32; 64	0; 0,25; 0,50; 1; 2; 4;
		<i>E. andrei</i>	0; 10; 16; 24; 36; 54	0; 0,25; 0,50; 1; 2; 4;
Latossolo	0,24	<i>F. candida</i>	0; 4; 8; 16; 32; 64	0; 0,25; 0,50; 1; 2; 4;
		<i>F. candida</i>	0; 4; 8; 16; 32; 64	0; 0,25; 0,50; 1; 2; 4;
Neossolo	0,16	<i>F. candida</i>	0; 4; 8; 16; 32; 64	0; 0,25; 0,50; 1; 2; 4;
		<i>E. andrei</i>	0; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80; 1,60	0; 0,12; 0,18; 0,27; 0,40 0,60

199

200 2.4 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

201

202 Foram realizados testes de mortalidade e reprodução com minhocas (*E. andrei*) e
 203 colêmbolos (*F. candida*), em três tipos de solo.

204 A aplicação do contaminante nas amostras de solo foi feita através de uma solução
 205 aquosa, preparada com um volume pré-calculado de água destilada suficiente para
 206 atingir a umidade desejada. Todos os testes foram realizados em regimes de umidade
 207 de 30% e 60% da capacidade de retenção de água do solo (CRA), exceto pelos testes
 208 com Latossolo e pelos testes de toxicidade crônica com minhocas em SAT, que foram
 209 realizados com 45% e 60% da CRA devido à não adaptação dos oligoquetas à menores
 210 teores de umidade. Nestes casos específicos, os testes realizados sob 30% da CRA não
 211 atenderam aos critérios mínimos de validação.

212 Os ensaios com colêmbolos foram realizados com cinco réplicas, enquanto que os
 213 ensaios com minhocas foram realizados com quatro réplicas, cujas unidades
 214 experimentais foram, semanalmente, abertas para permitir trocas gasosa e para a
 215 correção da umidade do solo, pela diferença de peso.

216

217 2.4.1 Teste de toxicidade aguda

218

219 Os testes de toxicidade aguda com colêmbolos foram realizados de acordo com a
 220 ISO 11267 (ISO, 1999). 30 g do solo contaminado ou solo controle foram adicionados em
 221 recipientes de vidro, de fechamento hermético, com dimensões de aproximadamente 4
 222 cm de diâmetro e 9 cm de altura. Em cada unidade experimental foram inseridos 10
 223 organismos com idade sincronizada entre 10 e 12 dias. Os organismos foram alimentados
 224 com aproximadamente 2 mg de fermento biológico no início do ensaio. Após 14 dias, o
 225 conteúdo de cada réplica foi submerso em água com algumas tintas de caneta, para
 226 permitir a flotação e a visualização dos organismos sobreviventes.

227 Os testes de toxicidade aguda com *E. andrei* foram realizados conforme a OECD
 228 207 (OECD, 1984). Os ensaios foram conduzidos em recipientes plásticos, de
 229 aproximadamente 15 cm de diâmetro e 10 cm de altura, com tampas perfuradas para
 230 permitir a aeração. Em cada unidade experimental, foram adicionadas 600 g de solo
 231 úmido (controle ou contaminado). Em seguida, 10 minhocas cliteladas foram inseridas

232 em cada recipiente, juntamente com 10 g de esterco equino úmido (5:5 esterco/água)
233 ofertado como alimento. Após 14 dias, as minhocas sobreviventes foram manualmente
234 contabilizadas.
235

236 **2.4.2 Teste de toxicidade crônica**

237
238 Os testes de reprodução com *F. candida* foram realizados de acordo com a norma
239 ISO 11267 (ISO, 1999). Os procedimentos adotados neste ensaio são semelhantes aos
240 realizados nos testes de toxicidade aguda, diferindo apenas nas concentrações de i.a.
241 utilizadas (Tabela 1) e no tempo de exposição dos organismos ao contaminante (28 d).
242 Os colêmbolos foram alimentados no início do ensaio e após 14 dias. A manutenção da
243 umidade e trocas gasosa também foram realizadas semanalmente. A avaliação do
244 ensaio, realizada aos 28 dias, foi feita de maneira similar à do ensaio de toxicidade aguda.
245 Entretanto, após a flutuação dos colêmbolos, cada uma das réplicas em análise foi
246 fotografada por um ângulo superior, permitindo a contagem dos juvenis por meio do
247 software ImageJ® (Alves et al., 2014).

248 Os testes de reprodução com minhocas foram realizados conforme a ISO 11268-
249 2 (ISO, 2012). A contaminação das amostras e a inserção das 10 minhocas adultas em
250 cada unidade experimental foi realizada da mesma forma que o teste de toxicidade aguda
251 (item 2.4.1). Os organismos foram alimentados com esterco equino úmido no início do
252 ensaio e a cada 7 dias. Após 28 dias do início do teste, as minhocas adultas
253 sobreviventes foram removidas, contabilizadas e pesadas. Durante os 28 dias seguintes,
254 apenas o solo, os casulos e os juvenis gerados permaneceram nos recipientes. No dia
255 56, as unidades experimentais foram imersas em banho maria ($60 \pm 5^\circ \text{C}$) durante uma
256 hora, para forçar o deslocamento dos juvenis até a superfície e permitir a contagem dos
257 organismos gerados durante o período inicial do teste.
258

259 **2.4.3 Análise dos dados**

260
261 A homocedasticidade e a normalidade dos dados dos testes de toxicidade crônica
262 foram verificadas pelos testes de Bartlett e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente, e,
263 quando necessário, transformações logarítmicas foram aplicadas para atender as
264 pressuposições. Em seguida, os resultados dos testes foram submetidos à análise de
265 variância (ANOVA), e quando diferenças significativas ($P < 0.05$) foram detectadas, os
266 tratamentos com diferentes concentrações de imidacloprid foram comparados com o
267 tratamento controle por meio do teste de Dunnett, utilizando o software Statistica®. Desta
268 maneira, os valores de CENO (maior concentração testada sem efeito observado) e CEO
269 (menor concentração testada com efeito observado) foram determinados. As
270 concentrações de efeito que causam redução de 20% e 50% na reprodução
271 (respectivamente, CE_{20} e CE_{50}) foram estimadas utilizando modelos pré-definidos de
272 regressões não-lineares no Statistica®. Além disso, os valores de CL_{50} (concentração
273 letal de 50%) dos testes de toxicidade aguda foram estimados no software PriProbit®.
274

275 3 RESULTADOS

276

277 3.1 PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS

278

279 Os maiores valores de pH e saturação por bases foram observados no solo
280 artificial, enquanto que os solos naturais apresentaram indicativos de acidez natural,
281 como a presença de Al trocável e pH inferior a 4,5. O Latossolo apresentou os maiores
282 valores de matéria orgânica (MO), argila e capacidade de troca catiônica (CTC); O
283 Neossolo apresentou maior teor de areia, menores percentuais de saturação por bases
284 e de capacidade de retenção de água, assim como menor CTC.

285

286 **Tabela 2.** Caracterização física e química dos solos SAT, Neossolo e SAT antes da
287 contaminação.

288

Parâmetro	SAT	Neossolo	Latossolo
pH Água (1:1)	6,2 ± 0,1	4,5 ± 0,1	4,1 ± 0,1
MO % (m/v)	1,4 ± 0,0	2,2 ± 0,1	3,7 ± 0,1
P (mg dm ⁻³)	23,4 ± 4,8	4,8 ± 1,0	3,4 ± 0,4
K (mg dm ⁻³)	422,0 ± 48,1	42,0 ± 2,8	136,0 ± 11,3
Ca (cmoCL dm ⁻³)	1,2 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Mg (cmoCL dm ⁻³)	1,1 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0
Al (cmoCL dm ⁻³)	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0	4,4 ± 0,3
H + Al (cmoCL dm ⁻³)	1,8 ± 0,4	4,0 ± 1,3	16,6 ± 4,5
Cu (mg dm ⁻³)	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Fe (g dm ⁻³)	>5,0	>5,0	>5,0
Mn (mg dm ⁻³)	<2,5	<2,5	21,6 ± 0,1
Zn (mg dm ⁻³)	0,6 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,7 ± 0,1
CEC (cmoCL dm ⁻³)	3,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	5,9 ± 0,2
Saturação por bases (%)	65,0 ± 6,6	22,2 ± 3,3	8,6 ± 2,3
Argila (g kg ⁻¹)	143,0 ± 0,0	83,0 ± 0,0	593,0 ± 70,7
Silte (g kg ⁻¹)	185,0 ± 0,0	<1	352,5 ± 5,7
Areia (g kg ⁻¹)	672,0 ± 0,0	938,0 ± 4,2	54,5 ± 13,4
CRA (%)	46,3 ± 1,7	31,6 ± 1,1	45,1 ± 0,8

289 Os valores são expressos pela média ± desvio padrão; n=2

290

291 3.2 VALIDAÇÃO DOS TESTES

292

293 O número médio de adultos sobreviventes nos controles Dos ensaios de toxicidade
294 aguda foi de 9 (± 1) para *F. candida* e, para os ensaios com *E. andrej*, todas as unidades
295 controle apresentaram 10 organismos vivos. Portanto, os critérios de validação para
296 todos os testes de mortalidade foram atendidos (ISO, 2012; ISO, 1999).

297

298 Para os testes de toxicidade crônica também foram atendidos os critérios de
validação, apresentando um número médio de juvenis de *F. candida* gerados no

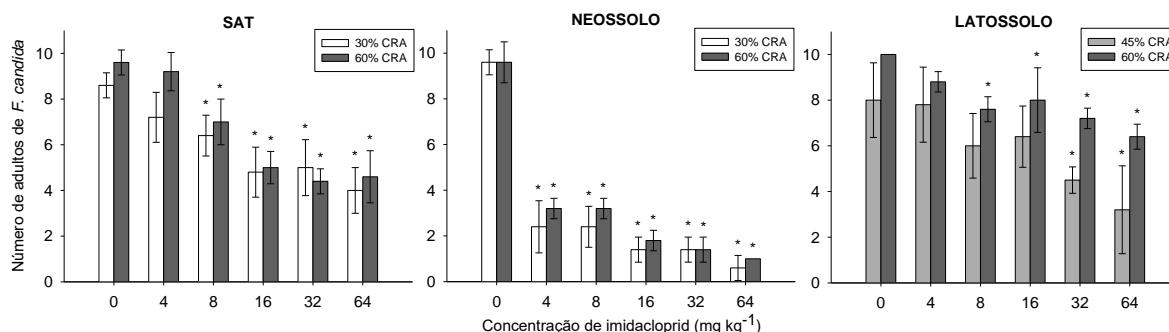
299 tratamento controle de 172 (\pm 43) nos testes montados em Latossolo, 248 (\pm 56) em
 300 Neossolo e 280 (\pm 91) em SAT. Para os ensaios realizados com *E. andrei*, a quantidade
 301 média de juvenis gerados foi de 172 (\pm 48) nos testes montados em Neossolo e 140 (\pm
 302 28) em SAT. Em todos os testes de reprodução o número de adultos foi superior a 80%
 303 e 90% para *F. candida* e *E. andrei*, respectivamente. Além disso os coeficientes de
 304 variação obtidos para os ensaios foram menores que 30 %, atendendo os requisitos
 305 estabelecidos ISO 11267 (ISO, 1999) e ISO 11268-2 (ISO, 2012).

307 3.3 TESTES DE TOXICIDADE AGUDA

308
 309 Houve mortalidade significativa de *F. candida* em todos os solos e nos diferentes
 310 regimes de umidade testados (Tabela 3; Figura 1). Tanto em SAT quanto em Neossolo,
 311 o efeito letal teve início na mesma concentração testada para os diferentes regimes de
 312 umidade adotados (CEO = 4 mg kg⁻¹). Entretanto, em Latossolo, a sobrevivência dos
 313 adultos em 45% da CRA só foi afetada em uma concentração quatro vezes maior do que
 314 aquela que causou mortalidade significativa na condição de 60% da CRA (CEO = 8 mg
 315 kg⁻¹), isso foi devido aos índices de mortalidade apresentados nos controles, onde o efeito
 316 da umidade já era expresso. Os valores de CL₅₀ foram inferiores nos testes realizados
 317 sob menor umidade (CL₅₀ SAT 30% = 23,58 mg kg⁻¹; CL₅₀ NEO 30% = 0,44 mg kg⁻¹; CL₅₀ LATO
 318 45% = 23,84 mg kg⁻¹), quando comparados com os valores dos testes sob 60% da CRA
 319 (CL₅₀ SAT 60% = 29,88 mg kg⁻¹; CL₅₀ NEO 60% = 1,18 mg kg⁻¹; CL₅₀ LATO 60% > 64,0 mg kg⁻¹),
 320 para os três solos teste.

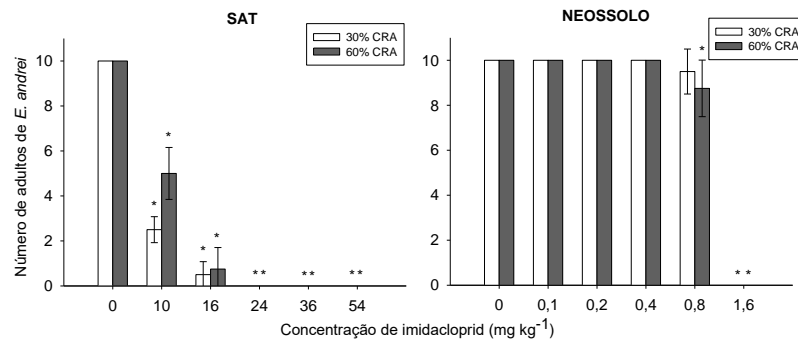
321 Nos testes de toxicidade aguda com minhocas, o efeito do i.a. foi pelo menos 6
 322 vezes mais intenso em Neossolo (CEO = 1,6 mg kg⁻¹) do que em SAT (CEO = 10 mg kg⁻¹)
 323 (Figura 2). A influência do teor de umidade do solo na toxicidade do i.a. para minhocas
 324 foi mais expressiva em SAT, onde a concentração letal estimada foi inferior para a
 325 condição de menor umidade (CL₅₀ SAT 30% = 7,56 mg kg⁻¹) quando comparada à umidade
 326 padrão (CL₅₀ SAT 60% = 10,04 mg kg⁻¹). Para o Neossolo, os CL₅₀ estimados foram
 327 semelhantes para as duas umidades testadas (CL₅₀ NEO 30% = 0,87 mg kg⁻¹ e CL₅₀ NEO 60%
 328 = 0,85 mg kg⁻¹) (Tabela 3).

329



330
 331
 332
 333
 334
 335
 336

Figura 1. Número médio (n=5, \pm desvio padrão) de colêmbolos *F. candida* sobreviventes após 14 dias de exposição a diferentes concentrações de imidacloprid em SAT, Neossolo e Latossolo, sob regimes de 30% (barras brancas) ou 45% (barras cinza claras), e 60% (barras cinza escuras) da CRA dos solos. (*) indica redução significativa de sobreviventes com relação ao controle (teste de Dunnett - p \leq 0,05).



337

338 **Figura 2.** Número médio (n=4, ± desvio padrão) de minhocas *E. andrei* sobreviventes após 14 dias de
 339 exposição a diferentes concentrações de imidacloprid em SAT e Neossolo, sob regimes de 30% (barras
 340 brancas) e 60% (barras cinza escuras) da CRA dos solos. (*) indica redução significativa de sobreviventes
 341 com relação ao controle (teste de Dunnett - p ≤ 0,05).
 342
 343

344 3.4 TESTES DE TOXICIDADE CRÔNICA

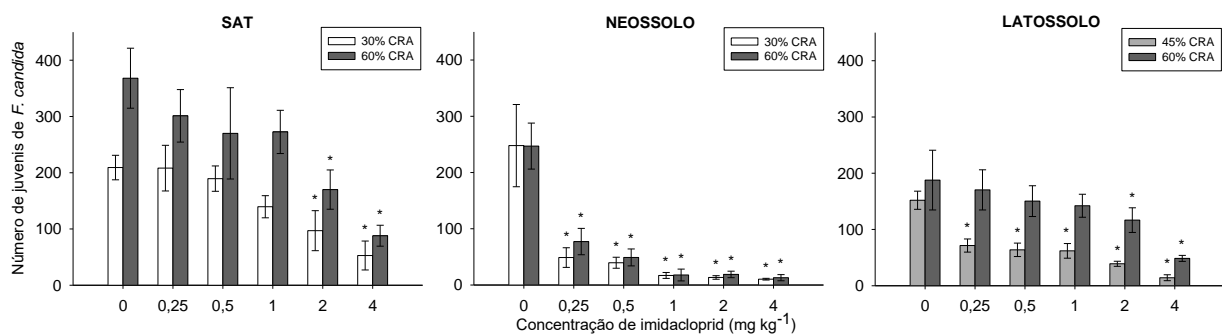
345

346 Nos ensaios de toxicidade crônica com *F. candida* realizados em SAT e em
 347 Neossolo, o efeito de redução na reprodução teve início nas mesmas concentrações para
 348 os testes realizados sob diferentes regimes de umidade (CEO_{SAT} 30% E 60% = 2,0 mg kg⁻¹;
 349 CEO_{NEO} 30% E 60% = 0,25 mg kg⁻¹). Entretanto, a redução no número de juvenis gerados
 350 em Latossolo ocorreu a partir de uma concentração oito vezes menor na condição de
 351 45% da CRA (CEO = 0,25 mg kg⁻¹) quando comparado com o regime de umidade de 60%
 352 da CRA (CEO = 2 mg kg⁻¹) (Figura 3). De maneira geral, os valores de EC₂₀ e EC₅₀
 353 estimados para o SAT e Neossolo foram similares para as duas condições de umidade
 354 testadas em cada solo (Tabela 3). Por outro lado, em Latossolo as concentrações de
 355 efeito estimadas para o teste com 45% da CRA (EC₅₀ LATO 45% = 0,44 mg kg⁻¹; EC₂₀ LATO
 356 45% = 0,18 mg kg⁻¹) foram menores do que os valores para 60% da CRA (EC₅₀ LATO 60% =
 357 2,49 mg kg⁻¹ e EC₂₀ LATO 60% = 0,99 mg kg⁻¹)

358

359 Os ensaios de reprodução com minhocas realizados em SAT apresentaram os
 360 mesmos valores de CEO para as duas umidades testadas (CEO_{SAT} 30% E 60% = 2,0 mg kg⁻¹).
 361 Em Neossolo, o efeito do i.a. sobre a reprodução de *E. andrei* foi mais acentuado na
 362 condição de 30% da CRA (CEO = 0,4 mg kg⁻¹), em relação ao regime de 60% da CRA
 363 (CEO = 0,6 mg kg⁻¹). Os valores das concentrações de efeito estimadas para o SAT
 364 foram maiores na condição de maior umidade do solo, mas foram semelhantes para as
 365 duas umidades quando o teste foi conduzido em Neossolo (Tabela 3). De maneira geral,
 366 o número médio de juvenis *F. candida* e *E. andrei* gerados na condição de menor
 367 umidade (30% ou 45% da CRA) foi inferior ao da condição de maior umidade (60% da
 368 CRA) para os mesmos tratamentos (mesma concentração testada ou controle) em cada
 369 solo.

369



370

371

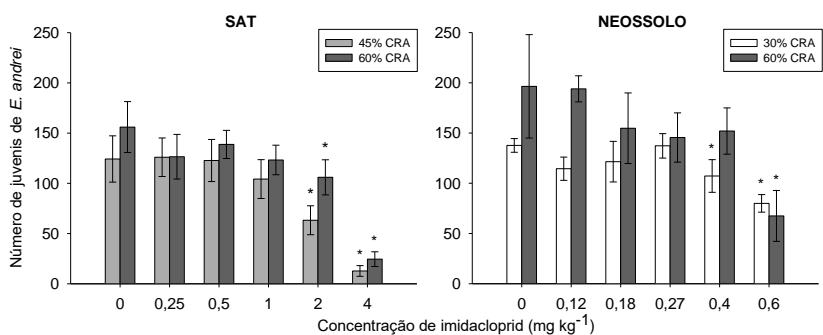
372

373

374

375

Figura 3. Número médio ($n=5$, \pm desvio padrão) de colêmbolos *F. candida* juvenis após 28 dias de exposição a diferentes concentrações de imidacloprid em SAT, Neossolo e Latossolo, sob regimes de 30% (barras brancas) ou 45% (barras cinza claras), e 60% (barras cinza escuras) da CRA dos solos. (*) indica redução significativa de sobreviventes com relação ao controle (teste de Dunnett - $p \leq 0,05$).



376

377

378

379

380

Figura 4. Número médio ($n=4$, \pm desvio padrão) de minhocas *E. andrei* juvenis geradas após 56 dias de exposição a diferentes concentrações de imidacloprid em SAT e Neossolo sob regimes de 30% (barras brancas) ou 45% (barras cinza claras), e 60% (barras cinzas) da CRA dos solos. (*) indica redução significativa de sobreviventes com relação ao controle (teste de Dunnett - $p \leq 0,05$).

Tabela 3. Parâmetros ecotoxicológicos (CENO, CEO, CL₅₀, EC₂₀ e EC₅₀) determinados com base nos testes com *F. candida* e *E. andrei*, expostos a cinco concentrações de imidacloprid, em SAT, Neossolo e Latossolo, sob diferentes regimes de umidade (30% ou 45%, e 60% da CRA).

Organismo	Endpoint	Parâmetro ecotoxicológico	Concentração de imidacloprid (mg kg ⁻¹)							
			SAT			Neossolo		Latossolo		
			30% da CRA	45% da CRA	60% da CRA	30% da CRA	60% da CRA	45% da CRA	60% da CRA	
<i>F. candida</i>	14-d mortalidade	CENO	4	(-) ^b	4	< 0,25	< 0,25	16	4	
		CEO	8	(-) ^b	8	4	4	32	8	
		CL ₅₀	23,58	(-) ^b	29,88	0,44	1,18	23,84	> 64,00	
		Limites (95%)	(-) ^a	(-) ^b	(-) ^a	(-) ^a	(-) ^a	(-) ^a	(-) ^a	
	28-d reprodução	CENO	1	(-) ^b	1	< 0,25	< 0,25	< 0,25	1	
		CEO	2	(-) ^b	2	0,25	0,25	0,25	2	
		EC ₅₀	1,74	(-) ^b	1,94	0,11	0,16	0,32	2,49	
		Limites (95%)	(1,23-2,25)	(-) ^b	(1,20-2,68)	(0,06-0,15)	(0,12-0,19)	(0,20-0,45)	(1,60-3,37)	
		EC ₂₀	0,67	(-) ^b	0,53	0,04	0,06	0,18	0,99	
		Limites (95%)	(0,29-1,04)	(-) ^b	(0,07-0,98)	(0,02-0,06)	(0,05-0,07)	(0,11-0,26)	(0,3-1,68)	
	<i>E. andrei</i>	14-d mortalidade	CENO	< 10,00	(-) ^b	< 10,00	0,8	0,4	(-) ^b	(-) ^b
			CEO	10	(-) ^b	10	1,6	0,8	(-) ^b	(-) ^b
CL ₅₀			7,56	(-) ^b	10,04	0,87	0,85	(-) ^b	(-) ^b	
Limites (95%)			(3,94-9,27)	(-) ^b	(8,50-11,12)	(0,85-0,91)	(0,83-0,87)	(-) ^b	(-) ^b	
56-d reprodução		CENO	(-) ^b	1	1	0,27	0,4	(-) ^b	(-) ^b	
		CEO	(-) ^b	2	2	0,4	0,6	(-) ^b	(-) ^b	
		EC ₅₀	(-) ^b	1,96	2,77	0,68	0,53	(-) ^b	(-) ^b	
		Limites (95%)	(-) ^b	(1,57-2,34)	(2,27-3,27)	(0,54-0,82)	(0,38-0,68)	(-) ^b	(-) ^b	
		EC ₂₀	(-) ^b	1,17	1,85	0,48	0,28	(-) ^b	(-) ^b	
		Limites (95%)	(-) ^b	(0,76-1,59)	(1,36-2,33)	(0,36-0,60)	(0,12-0,44)	(-) ^b	(-) ^b	

^a Os dados obtidos não permitiram o cálculo de intervalos de confiança de 95%.

^b Ensaio não realizado.

1 4 DISCUSSÃO

2
3 Os dados obtidos para os ensaios de mortalidade e reprodução realizados com
4 SAT (*E. andrei* e *F. candida*) e Latossolo (*F. candida*), indicaram que a situação de menor
5 umidade nos respectivos solos pode levar à maior mortalidade e menor reprodução dos
6 organismos testados. Tendo em vista que uma das principais rotas de exposição de
7 alguns organismos edáficos aos pesticidas é pela absorção da água dos poros do solo
8 (Peijnenburg, et al., 2012), o efeito mais pronunciado do i.a. nos testes com menor
9 umidade pode estar relacionado com uma maior concentração do contaminante na água
10 dos poros nesta condição, quando comparado com os testes realizados a 60% da CRA,
11 nos quais o contaminante pode estar mais diluído na solução do solo (Bandow et al.,
12 2014a).

13 Nos testes de reprodução, foram observados maiores números de juvenis nos
14 controles dos testes com 60% da CRA em SAT (para *F. candida* e *E. andrei*), em
15 Latossolo (para *F. candida*) e em Neossolo (para *E. andrei*), quando comparados com a
16 condição de menor umidade (30% ou 45% da CRA) (Figuras 3 e 4). Neste sentido,
17 situações de estresse hídrico associados à contaminação por imidacloprid, podem
18 representar maior risco para a fauna edáfica, já que uma maior inibição da reprodução
19 destes organismos foi observada em cenários como este.

20 Os valores de CEO obtidos para o Latossolo indicaram que a sobrevivência de
21 colêmbolos em 45% da CRA foi afetada em uma concentração quatro vezes maior do
22 que observado para o Latossolo em 60% da CRA (Tabela 3). Uma possível explicação
23 para isso é o menor número de sobreviventes encontrado no controle de 45% quando
24 comparado com o encontrado para o controle na umidade de 60%, influenciando
25 estatisticamente nos valores de CEO obtidos. Para os ensaios de toxicidade crônica com
26 *F. candida*, embora os valores de CE₂₀ e CE₅₀ para o Neossolo e SAT tenham sido
27 semelhantes, o que, em geral indica que a toxicidade foi similar entre os solos, há de se
28 considerar que o desempenho reprodutivo das espécies foi distinto entre os solos, uma
29 vez que no controle do SAT a média de juvenis foi 280 e no controle do Neossolo a média
30 de juvenis foi 247. No mesmo sentido, para o ensaio de reprodução com *F. candida* em
31 SAT, embora os valores de CE₅₀ tenham sido similares para as duas umidades testadas,
32 é evidente um decréscimo na geração de juvenis para a situação de seca do solo
33 considerando todas as concentrações testadas. Para as duas situações observadas, foi
34 possível avaliar que interpretar apenas os valores de ECs pode levar a uma subestimação
35 do verdadeiro efeito ocorrido no solo, pois além dos impactos atribuídos ao pesticida,
36 deve ser levado em conta que, para a primeira situação, a população geral do solo seria
37 menor em Neossolo, quando comparado com o SAT e, para a segunda situação, a
38 população seria mais afetada na situação de maior restrição hídrica, quando comparada
39 com a situação de maior conforto hídrico.

40 Alguns estudos avaliaram a reprodução de *Folsomia candida* em solos submetidos
41 a diferentes teores de umidade (Van Gestel e Van Diepen, 1997; Crouau et al., 1999;
42 Bandow et al., 2014) e, de maneira geral, os autores verificam que a performance
43 reprodutiva desta espécie foi mais acentuada em níveis de umidade do solo entre 53 %
44 e 74 % da CRA, intervalo que caracteriza conforto hídrico para os organismos. De
45 maneira semelhante, Reinecke e Venter (1987) verificaram que a faixa de umidade ótima

46 para a geração de casulos e juvenis de *Eisenia fetida* situa-se entre 65% e 70% da CRA
47 do solo. Os efeitos da umidade do solo observados por estes autores, em concordância
48 com os resultados deste trabalho, indicam que a umidade recomendada pelas diretrizes
49 que regem quanto à realização de ensaios ecotoxicológicos, de 40 % a 60% da CRA do
50 solo (ISO, 1999; ISO, 2012), não reportam a umidade ecológica ideal para a espécie de
51 colêmbolos *F. candida* e para as espécies de minhocas *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*,
52 Neste sentido, a iminente restrição de umidade que se prevê devido às mudanças
53 climáticas poderá atuar como um fator de estresse adicional aos organismos edáficos
54 (Bandow et al., 2014b).

55 De maneira geral, os efeitos mais severos do imidacloprid sobre os parâmetros
56 biológicos de ambas espécies foram observados em Neossolo. Entretanto, uma clara
57 influência do teor de umidade não pode ser constatada neste solo, já que os valores de
58 CEO (mortalidade e reprodução), EC_{50} e EC_{20} para os ensaios realizados com
59 colêmbolos, assim como os valores de CL_{50} , CEO (reprodução), EC_{50} e EC_{20} obtidos para
60 os ensaios com minhocas, foram semelhantes para as diferentes umidades adotadas
61 (Tabela 3). Estes resultados indicam que provavelmente há outro fator com maior poder
62 de modelar a toxicidade do i.a. neste solo, que se sobrepõe ao efeito da umidade.
63 Assumindo que a biodisponibilidade de pesticidas na solução do solo é também
64 influenciada pelas propriedades físicas e químicas do solo (Styrishave et al., 2010), o
65 menor teor de argila e a baixa CTC do Neossolo (Tabela 2), em relação aos demais, faz
66 com que este solo tenha baixa capacidade de adsorver o contaminante na fase sólida,
67 fazendo com que baixas concentrações do i.a. possam ter sido suficientes para saturar a
68 matriz do solo, elevando a concentração do contaminante na água dos poros, mesmo em
69 situações de maior disponibilidade hídrica.

70 Os valores de EC_{20} dos testes de toxicidade crônica em SAT foram superiores às
71 concentrações potencialmente presentes no ambiente (PEC) apresentadas para solos
72 naturais ($PEC_{NEOSSOLO} = 0,16 \text{ mg kg}^{-1}$, $PEC_{LATOSSOLO} = 0,24 \text{ mg kg}^{-1}$). Entretanto, os valores
73 de EC_{20} derivados dos testes em Neossolo são próximos (para os testes com *E. andrei*)
74 ou até mesmo inferiores (para os testes com *F. candida*) à PEC calculada para este solo
75 (Tabela 2). Em Latossolo, o valor de EC_{20} para *F. candida* foi superior à PEC quando esta
76 espécie foi testada na condição de umidade ideal (60% da CRA); entretanto, quando os
77 colêmbolos foram expostos ao i.a. em 45% da CRA, o EC_{20} diminuiu para um valor
78 inferior à PEC ($EC_{20} = 0,18 \text{ mg kg}^{-1}$). Estes resultados indicam que a redução da umidade
79 do solo pode potencializar o risco ecológico associado à exposição de *F. candida* ao
80 imidacloprid em solos naturais tropicais argilosos.

81 Lakowski et al. (2010) estudaram as interações entre diversas substâncias tóxicas
82 (ex. metais, pesticidas, herbicidas, fungicidas, fármacos, entre outros) com fatores
83 naturais de temperatura, oxigênio dissolvido e umidade do ar e do solo, em uma ampla
84 gama de espécies bioindicadoras, incluindo enquitreídeos, colêmbolos, crustáceos, e
85 puderam verificar que a umidade, na condição de estresse hídrico, aumentou a toxicidade
86 das substâncias (mortalidade e redução da reprodução) em cerca de 52%. Bandow et al.
87 (2014a) avaliaram a resposta das espécies de colêmbolos *F. candida* e *Sinella curvisetta*
88 expostos a Lambda-cyhalothrin em solo artificial com composição recomendada pela
89 OECD 232/2009 sob diferentes regimes de umidade e de temperatura e verificaram que
90 a temperatura não influenciou a toxicidade do pesticida testado, enquanto que a umidade
91 mostrou-se um fator significativo na inibição da reprodução das duas espécies testadas,

92 indicando que situações de estresse hídrico, associados a contaminação pelo pesticida
93 testado, podem levar a uma diminuição da população destes organismos no solo. Højer
94 et al. (2001) constatou que colêmbolos *F. candida* tiveram expressiva redução de
95 tolerância à seca, apresentando maiores índices de mortalidade, quando submetidos a
96 diferentes concentrações de 4-nonilfenol. González-AClaraz & Van Gestel (2016)
97 verificaram que a baixa umidade do solo, associada à exposição a metaloides e às
98 características físicas do solo afetaram negativamente a sobrevivência de *Enchytraeus*
99 *crypticus*.

100 As conclusões obtidas a partir dos estudos recém citados, ainda que realizados
101 com organismos, contaminantes e solos diferentes, reportam ao problema da umidade
102 do solo contextualizado no presente estudo. As interações entre os contaminantes,
103 compartimentos ambientais e o clima são complexas, e que as mudanças previstas nos
104 padrões de precipitação e consequente diminuição da umidade do solo podem
105 representar ameaças às populações edáficas, principalmente quando associada com a
106 contaminação do solo por pesticidas (Lima et al., 2011; Bandow et al., 2014a; Bandow et
107 al., 2014b; Ogungbemi e Van Gestel 2018).

108 Em países de clima tropical, como no caso do Brasil, o problema da disponibilidade
109 hídrica no solo torna-se ainda mais grave pensando em cenários futuros de mudanças
110 climáticas, já que, naturalmente, os regimes de precipitação são influenciados por um
111 período de seca anual, sem considerar ainda os padrões de temperatura normalmente
112 elevados (25°C - 28°C) (Sanchez-Bayo, F.; Hyne, R.V., 2011). Neste sentido, é
113 importante destacar que neste estudo optou-se em realizar os ensaios na temperatura
114 de 20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) a fim de garantir um melhor desenvolvimento das espécies, uma vez que
115 o objetivo deste estudo foi compreender, de forma isolada, a interação do efeito de
116 redução da umidade do solo com os tipos de solos tropicais. Contudo, sugere-se a
117 realização de um estudo subsequente, incluindo o fator temperatura, para que seja
118 possível compreender os impactos dos pesticidas em um cenário mais complexo.

119

120 **5 CONCLUSÕES**

121

122 Os ensaios ecotoxicológicos realizados indicaram que a umidade do solo
123 influencia significativamente a toxicidade do imidacloprid para *F. candida* e *E. andrei*. Esta
124 conclusão é reforçada principalmente pelos índices de reprodução e mortalidade
125 observados para os diferentes solos, que indicaram mortalidade acentuada e reprodução
126 reduzida em condições de seca para os diferentes solos testados. Concomitante a isto,
127 foi possível constatar ainda, que para algumas situações, como foi observado para
128 ensaios de toxicidade crônica com *F. candida* realizados com Neossolo, os endpoints não
129 caracterizaram parâmetros suficientes para estimar a toxicidade de contaminantes no
130 solo.

131 Os dados obtidos no presente estudo refletem a importância de considerar
132 condições aproximadas com a realidade, como as alterações nos regimes de
133 precipitação, decorrentes dos cenários de mudanças climáticas previstos para os
134 próximos anos, bem como a utilização de solos naturais, em processos de avaliação
135 ecotoxicológica. Todos estes fatores podem ser considerados como estressores

136 adicionais para organismos do solo, bem como podem influenciar na disponibilidade de
137 contaminantes no solo, interferindo na sua mobilidade e toxicidade.

138

139 REFERÊNCIAS

140

141 Alves, P.R.L. et al., 2014. Seed Dressing Pesticides on Springtails in Two
142 Ecotoxicological Laboratory Tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**
143 105(1): 65–71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.010>.

144

145 Alves, P.R.L. et al., 2013. Earthworm Ecotoxicological Assessments of Pesticides Used
146 to Treat Seeds under Tropical Conditions. **Chemosphere** 90(11): 2674–82.

147

148 Alves P.R.L., Cardoso E.J.B.N., 2016. Overview of the standard methods for soil
149 ecotoxicology testing. In: Larramendy ML, Soloneski S, editores. Invertebrates -
150 Experimental Models in Toxicity Screening. 1ed. **Rijeka**: InTech – Open Access
151 Publisher. p. 35-56.

152

153 Bandow, C., Coors A., Karau, N., Römbke, J., 2014a. Interactive Effects of Lambda-
154 Cyhalothrin, Soil Moisture, and Temperature on *Folsomia candida* and *Sinella*
155 *curviseta* (Collembola). **Environmental Toxicology and Chemistry** 33(3): 654–61.
156 <http://doi.wiley.com/10.1002/etc.2479>.

157

158 Bandow, C., Karau, N., Römbke, J., 2014b. Interactive Effects of Pyrimethanil, Soil
159 Moisture and Temperature on *Folsomia candida* and *Sinella curviseta* (Collembola).
160 **Applied Soil Ecology** 81: 22–29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.04.010>.

161

162 Barmentlo, S.H. et al., 2017. Influence of climate change on the multi-generation toxicity
163 to *Enchytraeus crypticus* of soils polluted by metal/metalloid mining wastes.
164 **Environmental Pollution** 222:101-108.
165 <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.078>.

166

167 Brady, N.C.; Weil, R.R., 2013. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**.
168 3.ed. Bookman.

169

170 Buffin D., 2003. Imidacloprid. *Pesticide News*. 62:22-23.

171

172 Crouau, Y., P. Chenon, C. Gisclard., 1999. “The Use of *Folsomia candida* (Collembola,
173 Isotomidae) for the Bioassay of Xenobiotic Substances and Soil Pollutants. **Applied**
174 **Soil Ecology** 12(2): 103–11.

175

176 DeCLour, I., Spanoghe, P., Uyttendaele, M., 2015. “Literature Review: Impact of Climate
177 Change on Pesticide Use. **Food Research International** 68: 7–15.
178 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.030>.

179

- 180 Douglas, M.R., Tooker, J.F., 2015. "Large-Scale Deployment of Seed Treatments Has
181 Driven Rapid Increase in Use of Neonicotinoid Insecticides and Preemptive Pest
182 Management in U.S. Field Crops. **Environmental Science and Technology** 49(8):
183 5088–97.
184
- 185 EMBRAPA, 2014. **Panorama da contaminação ambiental por agrotóxicos e nitrato**
186 **de origem agrícola no Brasil: cenário 1992/2011.** Brasil.
187
- 188 Garcia, M.V.B., 2004. **Effects of Pesticides on Soil Fauna:** Development Of
189 Ecotoxicological Test Methods for Tropical Regions. Ecology and Development
190 Series, vol. 19. University of Bonn, Germany.
191
- 192 González, A.C., Laraz, M. N., Van Gestel, C.A.M., 2016. Toxicity of a Metal(Loid)-
193 Polluted Agricultural Soil to *Enchytraeus crypticus* Changes under a Global
194 Warming Perspective: Variations in Air Temperature and Soil Moisture Content.
195 **Science of the Total Environment** 573: 203–11.
196 <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.061>.
197
- 198 Højer, R., Bayley, M., Damgaard, C.F., Holmstrup, M., 2001. Stress Synergy between
199 Drought and a Common Environmental Contaminant: Studies with the Collembolan
200 *Folsomia candida*. **Global Change Biology** 7(4): 485–94.
201
- 202 IPCC. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. In: Stocker, T.F.; Qin, D.;
203 Plattner, G.-K.; Tignor, M.; Allen, S.K.; Boschung, J.; Nauels, A.; Xia, Y.; Bex, V.;
204 Midgley, P.M. (eds.). **Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment**
205 **Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.** IPCC - , Cambridge
206 University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013. 1535
207 p.
208
- 209 ISO, 1999. Soil Quality – **Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia***
210 ***candida*) by Soil Pollutants.** International Organization for Standardization,
211 Genève (ISO:11267).
212
- 213 ISO, 2012. Soil quality - **Effects of pollu-tants on earthworms (*Eisenia fetida*) - Part**
214 **2: Determination of effects on reproduction.** by Soil Pollutants. International
215 Organization for Standardization, Genève (ISO:11268:2).
216
- 217 Laskowski, R. et al. 2010. Interactions between Toxic Chemicals and Natural
218 Environmental Factors - A Meta-Analysis and Case Studies. **Science of the Total**
219 **Environment** 408(18): 3763–74.
220
- 221 Lima, M.P.R., Soares, A.M.V.M, Loureiro, S., 2011. Combined Effects of Soil Moisture
222 and Carbaryl to Earthworms and Plants: Simulation of Flood and Drought
223 Scenarios. **Environmental Pollution** 159(7): 1844–51.
224 <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.03.029>.
225

- 226 Long, S.M., Reichenberg, F., Lister, L.J., Hankard, P.K., Townsend, J., Mayer, P.,
227 Wright, J., Holmstrup, M., Svendsen, C., Spurgeon, D. Combined chemical
228 (fluoranthene) and drought effects on *Lumbricus rubellus* demonstrate the
229 applicability of the independent action model for multiple stressor assessment.
230 **Environ Toxicol Chem** 2009;28:629–36.
231
- 232 Luo, Y., et al., 1999. Toxicological Study of Two Novel Pesticides on Earthworm *Eisenia*
233 *fetida*. **Chemosphere** 39(13): 2347–56.
234
- 235 Nadal, M. et al., 2015. Climate Change and Environmental Concentrations of POPs: A
236 Review. **Environmental Research** 143: 177–85.
237 <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.10.012>.
238
- 239 Nunes, M.E.T., Daam, M.A., Espíndola, E.L.G., 2016. Survival, Morphology and
240 Reproduction of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) as Affected by Vertimec®18
241 EC (a.i. Abamectin) in Tests Performed under Tropical Conditions. **Applied Soil**
242 **Ecology** 100: 18–26.
243
- 244 OECD, 1984. **Guideline for Testing of Chemicals No. 207**: Earthworm Acute Toxicity
245 Test. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris.
246
- 247 Ogungbemi, A.O., Van Gestel, C.A.M., 2018. Extrapolation of Imidacloprid Toxicity
248 between Soils by Exposing *Folsomia candida* in Soil Pore Water. **Ecotoxicology**
249 27(8): 1107–15. <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-018-1965-x>.
250
- 251 Peijnenburg, W., et al., 2012. Evaluation of exposure metrics for effect assessment of
252 soil invertebrates. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.** 42:1862–1893.
253
- 254 Reinecke, A. J., Venter, J.M., 1987. Moisture Preferences, Growth and Reproduction of
255 the Compost Worm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). **Biology and Fertility of Soils**
256 3(1–2): 135–41.
257
- 258 Sanchez-Bayo, F.; Hyne, R.V., 2011. Comparison of environmental risks of pesticides
259 between tropical and nontropical regions. **Integr Environ Assess Manag.** 7(4):577-
260 86. doi: 10.1002/ieam.189.
261
- 262 Styriehave, Bjarne et al., 2010. Influence of Soil Type and Organic Matter Content on
263 the Bioavailability, Accumulation, and Toxicity of α -Cypermethrin in the Springtail
264 *Folsomia candida*. **Environmental Toxicology and Chemistry** 29(5): 1084–90.
265
- 266 Vaikkinen, Anu et al., 2015. Analysis of Neonicotinoids from Plant Material by
267 Desorption Atmospheric Pressure Photoionization-Mass Spectrometry. **Rapid**
268 **Communications in Mass Spectrometry** 29(5): 424–30.
269
- 270 Van Gestel, C. A.M., and A. M.F. Van Diepen., 1997. The Influence of Soil Moisture
271 Content on the Bioavailability and Toxicity of Cadmium for *Folsomia candida* Willem

- 272 (Collembola: Isotomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety** 36(2): 123–
273 32.
274
- 275 Van Gestel, C.A.M., 2012. Soil Ecotoxicology: State of the Art and Future Directions.
276 **ZooKeys** 176(SPECIAL ISSUE): 275–96.
277
- 278 Van Gestel, C.A.M. et al., 2017. Multigeneration Toxicity of Imidacloprid and Thiacloprid
279 to *Folsomia candida*. **Ecotoxicology** 26(3): 320–28.
280 <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-017-1765-8>.
281
- 282 Wang, C.J. et al., 2016. Imidacloprid Exposure Suppresses Neural Crest Cells
283 Generation during Early Chick Embryo Development. **Journal of Agricultural and**
284 **Food Chemistry** 64(23): 4705–15.