



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**  
**CAMPUS CHAPECÓ**  
**CURSO DE AGRONOMIA**

**TÂNIA TONIOLO**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE FIPRONIL EM SOLOS  
TROPICAIS: EFEITOS SOBRE *Folsomia candida* (COLLEMBOLA)**

**CHAPECÓ**

**2020**

**TÂNIA TONIOLO**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE FIPRONIL EM SOLOS  
TROPICAIS: EFEITOS SOBRE *Folsomia candida* (COLLEMBOLA)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito parcial para obtenção  
de título de Bacharel em Agronomia da  
Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves

**CHAPECÓ  
2020**

## **Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Toniolo, Tânia

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE FIPRONIL EM SOLOS  
TROPICAIS: EFEITOS SOBRE *Folsomia candida* (COLLEMBOLA) /  
Tânia Toniolo. -- 2020.

36 f.

Orientador: Doutor em Ciências - Solos e Nutrição de  
Plantas Paulo Roger Lopes Alves

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
Bacharelado em Agronomia, Chapecó, SC, 2020.

1. Ecotoxicologia Terrestre; Tratamento químico de  
sementes.. I. Alves, Paulo Roger Lopes, orient. II.  
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

TÂNIA TONIOLO

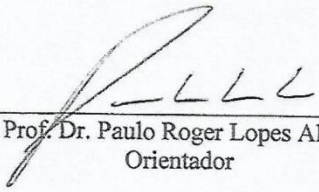
**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE FIPRONIL EM SOLOS TROPICAIS:  
EFEITOS SOBRE *Folsomia candida* (COLLEMBOLA)**

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves

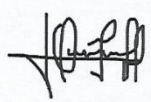
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:  
17/08/2020

BANCA EXAMINADORA




---

Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves  
Orientador



---

Prof. Dr. Jorge Luis Mattias  
1º Examinador



---

Prof. Dr. Marco Aurélio Tramontin da Silva  
2º Examinador

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Moacir Toniolo (em memória) e Rosali Donzelli Toniolo, e a meu irmão, Patrik Toniolo, pelo carinho, apoio, incentivo, e compreensão nos momentos de minha ausência.

Ao professor Paulo Roger Lopes Alves, por me conceder a oportunidade na Iniciação Científica, pela orientação neste trabalho, pela atenção e paciência de sempre, e pelos valiosos ensinamentos.

Aos colegas, Thuanne, Felipe, Aline, Willian, Jéssica, Adriano e Eduarda do Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da UFFS, pela ajuda na realização deste trabalho, pelos ensinamentos, e pelos bons momentos vividos no laboratório.

As minhas amigas, Fernanda e Sandra, pelas conversas e risadas, pelo apoio nos momentos difíceis, pela parceria, e pelos conhecimentos compartilhados.

Ao CNPq, pela bolsa de Iniciação Científica.

Aos professores do curso de Agronomia da UFFS, pelos ensinamentos, e pela ajuda em vários momentos durante a graduação.

Aos colegas do curso de Agronomia da UFFS, pelo compartilhamento de experiências ideias e opiniões.

Aos familiares, amigos e colegas, pelas palavras de incentivo e apoio, e por me ajudarem nos momentos em que precisei.

A Deus, pelas infinitas possibilidades.

Muito obrigada!

## RESUMO

Fipronil é um inseticida utilizado em formulações comerciais para o tratamento químico de sementes. Este ingrediente ativo (i.a.) possui modo de ação sobre o sistema nervoso central de insetos, bloqueando a atividade do neurotransmissor GABA. Apesar de sua eficiência no controle de pragas agrícolas, vários estudos ecotoxicológicos demonstraram o potencial tóxico do i.a. sobre espécies não-alvo do solo, as quais apresentam funções essenciais no ecossistema terrestre. Porém, a toxicidade e risco ecológico das formulações para o tratamento de sementes com fipronil ainda não é totalmente conhecida em solos tropicais brasileiros. Para estudar o perigo/risco ambiental de fipronil para uma espécie de invertebrados não-alvo do solo, foi avaliado o efeito deste i.a., na reprodução (toxicidade crônica) de colêmbolos *Folsomia candida* em SAT (Solo Artificial Tropical), Neossolo e Latossolo. Os ensaios foram realizados de acordo com as recomendações da norma ISO 11267/2014, utilizando concentrações crescentes do i.a., através da formulação comercial para tratamento de sementes Shelter® (0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg kg<sup>-1</sup>) e um tratamento controle (sem contaminante). A formulação comercial contendo fipronil apresentou toxicidade para colêmbolos em todos os solos, porém, este efeito foi maior em Neossolo (CE<sub>50</sub> = 0,20 mg kg<sup>-1</sup>), seguido por SAT (CE<sub>50</sub> = 0,39 mg kg<sup>-1</sup>) e Latossolo (CE<sub>50</sub> = 1,28 mg kg<sup>-1</sup>). O risco ecológico da formulação para *F. candida* foi significativo em todos os solos (Quociente de Perigo – QP >1) avaliados, sendo o maior risco verificado em Neossolo > SAT > Latossolo. Quando calculado por meio da Razão Toxicidade-Exposição (RTE), o risco ecológico não foi significativo apenas em Latossolo. Os resultados sugerem que a toxicidade pode ser menor em solos que apresentam principalmente altos teores de argila e silte, possivelmente por causa da retenção química que pode ocorrer com a molécula de fipronil no solo e, conseqüentemente, menor disponibilidade aos organismos não-alvo. Através das metodologias de risco ecológico (QP e RTE), verificou-se que a exposição de colêmbolos pode apresentar maiores riscos em solos com menores teores de argila e silte como em Neossolo. Desta maneira, mais estudos deveriam ser realizados, como avaliações em nível de semi-campo ou de campo para confirmar se estes efeitos ocorrerão em condições mais realistas de exposição. Pode-se concluir que ocorrem diferenças de toxicidade do fipronil na reprodução de *F. candida* entre os solos tropicais.

Palavras chave: Ecotoxicologia Terrestre; Tratamento de Sementes; Fauna Edáfica; Colêmbolos; Fenilpirazóis.

## ABSTRACT

Fipronil is synthetic insecticide used in commercial formulations as seed dressing. This active ingredient (a.i.) acts on insect central nervous system by blocking the neurotransmitter GABA. Despite its efficiency in controlling agricultural pests, several ecotoxicological studies have demonstrated its toxic potential for non-target soil species, which plays important functions in the terrestrial ecosystem. However, the toxicity and ecological risk of the formulations containing this insecticide are not yet fully known on Brazilian tropical soils. In order to study the environmental hazard/risk of fipronil for a non-target invertebrate species in the soil, this work assessed the effects of this a.i. on the reproduction (chronic toxicity) of springtails *Folsomia candida* in TAS (Tropical Artificial Soil), Entisol and Oxisol. The assays were performed according to ISO 11267/2014 by using increasing concentrations of a.i., through Shelter®, a seed dressing commercial formulation (0.25; 0.5; 1.0; 2.0 and 4.0 mg kg<sup>-1</sup>) and a control treatment (without contaminant). The commercial formulation containing fipronil was toxic to springtails in all soils, however, this effect was even greater in Entisol (EC<sub>50</sub> = 0.20 mg kg<sup>-1</sup>), followed by SAT (EC<sub>50</sub> = 0.39 mg kg<sup>-1</sup>) and Oxisol (EC<sub>50</sub> = 1.28 mg kg<sup>-1</sup>). The ecological risk formulation for *F. candida* was significant in all tested soils (Hazard Quotient – HQ >1), being the highest risk also verified in Entisol > TAS > Oxisol. When calculated the Toxicity-Exposure Ratio (TER), no ecological risk was found only in Oxisol. The results suggest that toxicity may be lower in soils that present mainly high levels of clay and silt, probably because of the chemical retention of fipronil molecule in the soil, and consequently lower availability for non-target organisms. Through the ecological risk methodologies, it was found that the exposure of springtails can present higher risks in soils with lower clay and silt content as in Entisol, therefore, more studies should be carried out, such as evaluations at semi-field or field level to confirm if these effects will occur under more realistic exposure conditions. It can be concluded that differences toxicity of fipronil occur in reproduction of *F. candida* between tropical soils.

Keywords: Terrestrial ecotoxicology; Seed treatment; Edaphic fauna; Springtails; Phenylpyrazoles.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	11
3.1 TRATAMENTO DE SEMENTES E FIPRONIL .....	11
3.2 IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS NO AMBIENTE .....	13
3.3 FIPRONIL NO SOLO .....	14
3.4 O USO DE ORGANISMOS EDÁFICOS COMO BIOINDICADORES DA POLUIÇÃO DO SOLO.....	16
3.5 ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE PARA AVALIAR OS IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS .....	17
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	19
4.1 SOLOS-TESTE .....	19
4.2 ORGANISMOS-TESTE.....	20
4.3 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS .....	21
4.4 AVALIAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS .....	21
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	30
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	31



## 1. INTRODUÇÃO

Com a demanda na produção de alimentos no mundo, ocorreu a modernização na agricultura, e com isso houve um acréscimo gradual no uso de agrotóxicos, refletindo em aumentos anuais de vendas em países em desenvolvimento (FAO, 2017). O Brasil, em 2018, comercializou 549.280,44 toneladas de ingredientes ativos (i.a.) de agrotóxicos e afins, com um incremento de 1,7%, em relação ao ano anterior. As classes de uso mais vendidas foram herbicidas e inseticidas (IBAMA, 2020a).

Dentre os inseticidas comercializados, estão os empregados no tratamento químico de sementes, que possuem como objetivo impedir ou dificultar o ataque de insetos-praga na germinação e na fase inicial de emergência das plântulas no campo (MACHADO *et al.*, 2006).

O fipronil é um dos inseticidas sintéticos empregados no tratamento químico de sementes. Seu modo de ação é sobre o sistema nervoso central de insetos, inibindo a permeabilidade da membrana das células nervosas ao íon cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) e bloqueando o neurotransmissor ácido gama amino butírico (GABA), o qual é o responsável pelo reestabelecimento de repouso das células após um impulso nervoso (GALLO, *et al.*, 2002; FAO, 2009).

Apesar de sua eficiência no controle de insetos via aplicação terrestre, vários estudos ecotoxicológicos comprovaram o potencial tóxico do fipronil em espécies não-alvo, como as abelhas e organismos aquáticos (PISA *et al.*, 2015). Além disso, quando o fipronil é utilizado no revestimento de sementes, grande parte do produto permanece em contato direto com o solo e, conseqüentemente, com os organismos edáficos (SIMON-DELSON *et al.*, 2015), sendo que estes, apresentam funções essenciais no ecossistema terrestre, como a ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica (MO), controle biológico de pragas e doenças, e decomposição de xenobióticos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Estudos de Zortéa *et al.* (2018a; 2018b) observaram que baixas concentrações de fipronil via fármaco veterinário, reduz em 50% a reprodução de colêmbolos (*Folsomia candida*), em Solo Artificial Tropical (SAT -  $\text{CE}_{50} = 0,29 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Neossolo ( $\text{CE}_{50} = 0,14 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e Latossolo ( $\text{CE}_{50} = 0,26 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Essas diferenças de toxicidade principalmente entre os dois solos naturais no estudo indicam que, as características e as propriedades dos solos podem influenciar na toxicidade da molécula.

É possível também que os efeitos observados por Zortéa *et al.* (2018a; 2018b), sejam similares às formulações de fipronil para tratamento de sementes, no qual ainda não foi avaliado o risco ecológico em solos tropicais, mas que já foi avaliado a toxicidade apenas em SAT, a partir de concentrações próximas às potencialmente presentes no solo (ALVES *et al.*, 2014).

Cerca de 98% das sementes de soja e milho híbrido são tratados com inseticidas no Brasil, e entre as moléculas utilizadas está o fipronil (NUNES, 2016) assim, torna-se necessário estudar a toxicidade e o risco ecológico de formulações de fipronil utilizadas no tratamento de sementes sobre a fauna terrestre com solos naturais de regiões tropicais, para poder auxiliar a determinar com maior segurança o risco ecológico e os limites de exposição para às espécies edáficas. Além disso, as características físicas (textura) e os parâmetros químicos (pH, capacidade de troca de cátions [CTC], MO, entre outros) dos solos brasileiros podem influenciar na disponibilidade de fipronil e, conseqüentemente sua toxicidade para *F. candida* (ALVES, *et al.*, 2013; GARCIA *et al.*, 2008; ZÓRTEA *et al.*, 2018a; 2018b). O Brasil ainda possui grandes lacunas em relação aos estudos sobre o efeito e biodisponibilidade de contaminantes nos diferentes tipos de solos tropicais nacionais, pois a Resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) não exige ensaios ecotoxicológicos crônicos com organismos edáficos para determinar os limites de exposição dos organismos aos agrotóxicos no solo (SISINNO *et al.*, 2019).

## 2. OBJETIVOS

Os objetivos para realização deste trabalho foram divididos em geral e específicos.

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial tóxico e o risco ecológico de fipronil para colêmbolos em três solos tropicais distintos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos do fipronil sobre a reprodução de colêmbolos *F. candida*, em Solo Artificial Tropical (SAT), Latossolo e Neossolo;
- Determinar a CENO (maior concentração testada sem efeito observado), CEO (menor concentração testada com efeito observado), CE<sub>50</sub> e CE<sub>10</sub> (concentração que causa redução de 50% e 10%, no número de juvenis, respectivamente) para a exposição de *F. candida* nos três solos testados;
- Calcular e comparar o risco ecológico de fipronil para colêmbolos nos diferentes tipos de solos testados.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

Os itens a seguir discutem assuntos sobre o tratamento químico de sementes, aspectos relacionados ao inseticida fipronil, impactos dos agrotóxicos no meio ambiente, assim como o uso de organismos edáficos como bioindicadores do solo e o uso da ecotoxicologia terrestre para avaliar os impactos dos agrotóxicos sobre a fauna edáfica.

#### 3.1 TRATAMENTO DE SEMENTES E FIPRONIL

A ocorrência de doenças e insetos-praga associadas às sementes pode reduzir o poder germinativo e diminuir a produtividade da cultura. Neste sentido, o tratamento de sementes tornou-se uma prática comum e crescente no Brasil (NUNES, 2016), a qual consiste na aplicação de produtos químicos, biológicos e/ou agentes físicos diretamente sobre as sementes de diversas culturas, principalmente grãos. O tratamento pode ser protetor ou funcional. O primeiro visa o controle de pragas, já o segundo tem como finalidade garantir o desempenho das sementes através da peletização, aplicação de corantes, fitormônios, e micronutrientes (MACHADO *et al.*, 2006).

O tratamento protetor tem ação bactericida, fungicida e/ou inseticida, e garante a proteção contra o ataque de patógenos ou insetos-praga no solo, o que propicia maior germinação e uniformização na emergência das plântulas (PAULSRUD *et al.*, 2001). Após à germinação, parte da substância aplicada no revestimento da semente é distribuída pelo xilema da plântula, protegendo a parte aérea por três a quatro semanas após a emergência, já a outra parte é perdida no solo através do fluxo de água (KOHL *et al.*, 2019).

O tratamento de semente é uma das práticas de menor custo (aproximadamente 2,2%) na implantação da lavoura (RICHETTI; GOULARTI, 2018), e deve ser considerado como uma ferramenta de manejo integrado de pragas (MIP), sendo uma combinação de práticas cujos objetivos são diminuir perdas de produtividade. Além disso, evitar a resistência de pragas ou desenvolvimento de novas, minimizar efeitos negativos ao meio ambiente, e evitar ou minimizar resíduos nos alimentos (FURLAN *et al.*, 2018; PAULSRUD *et al.*, 2001).

Essa prática pode ser realizada na propriedade agrícola “on farm” ou através do tratamento de sementes industrial (TSI). Na safra de soja 2016/2017, 98,2% das sementes foram tratadas com fungicidas, dos quais 25,6% foram TSI e 72,6% *on farm* (RICHETTI; GOULARTI, 2018). Para impedir ou dificultar a ação de pragas, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) autoriza misturas formuladas com inseticidas e fungicidas,

como, por exemplo: Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil (RICHETTI; GOULARTI, 2018). Em relação ao tratamento industrial, as culturas de maior destaque no Brasil são milho, soja, cereais de inverno, feijão, e girassol, e as principais moléculas de inseticidas utilizadas para este propósito são fipronil, tiametoxam, imidacloprid, clotianidina, e tiodicarbe (NUNES, 2016).

O fipronil, é um i.a. utilizado em várias formulações comerciais de inseticidas. É pertencente à classe dos fenilpirázois, sendo um produto altamente tóxico (classe toxicológica II) (ANVISA, 2019). A molécula é usada em mais de 70 países e em mais de 100 culturas diferentes (CASE, 2013). Este i.a. é considerado de amplo espectro e, por isso, é recomendada para uso agrícola (controle de “vaquinha”, “tamanduá da soja”, “broca-do-colo”, “torrãozinho”, cupim, entre outros), veterinário (controle de pulgas e carrapatos), e não-agrícola (controle de baratas) (FAO, 2009).

Além do tratamento de sementes (algodão, amendoim, arroz, cevada, feijão, girassol, milho, pastagens, sorgo, soja e trigo), o fipronil também possui registro para aplicação foliar em plantas adultas (cultura do algodão, arroz, eucalipto e soja), mudas em viveiros (araucária, eucalipto e seringueira), no solo (cultura da batata, cana-de-açúcar e milho), e ainda na água de irrigação para a cultura do arroz. É encontrado nos mais diversos tipos de formulações como isca em gel e em grânulos, pó seco, suspensão concentrada, líquido e líquido premido (aerossol) (ANVISA, 2019).

Em alguns países, como por exemplo, na Itália, o uso do fipronil foi proibido para o tratamento de sementes devido aos impactos ambientais em organismos não-alvo. No Brasil, atualmente, a molécula passa por uma reavaliação ambiental, porém, seu uso ainda é permitido, e as vendas em 2018, chegaram a 1.689,71 toneladas de i.a. (IBAMA, 2020a).

Segundo a Instrução Normativa (IN) nº 1 de dezembro de 2012, é proibido a aplicação de fipronil durante a floração das culturas independentemente da tecnologia empregada. Porém, são autorizadas aplicações terrestres e aéreas para as culturas de algodão, soja, cana-de-açúcar, arroz e trigo, desde que utilizadas técnicas para reduzir a deriva e aviso prévio para os apicultores em um raio de 6 km (SDA/MAPA, 2012). Em relação ao tratamento de sementes com fipronil no Brasil, a referida IN não possui nenhuma restrição, porém, o produto só deve ser utilizado se possuir o registro para a cultura.

### 3.2 IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS NO AMBIENTE

Os agrotóxicos começaram a ser usados em larga escala na agricultura a partir da década de 40, com o objetivo de controlar plantas daninhas (herbicidas), insetos (inseticidas) e doenças (fungicidas, bactericidas) que podem ocorrer no desenvolvimento das plantas cultivadas no campo, afetando diretamente as suas produtividades (FAO, 2018; 2017). Os países que mais utilizam agrotóxicos por hectare são Colômbia (15,8 kg ha<sup>-1</sup>), China (14,8 kg ha<sup>-1</sup>), e Brasil (4,4 kg ha<sup>-1</sup>) (FAOSTAT, 2020). No Brasil, as moléculas mais utilizadas em 2018 foram os herbicidas glifosato, 2,4-D, atrazina e dicloreto de paraquate, o fungicida mancozebe, e os inseticidas acefato e imidacloprid (IBAMA, 2020a).

Quando introduzidas no ambiente, as moléculas de agrotóxicos podem passar por processos de retenção (sorção e absorção), de transformação (degradação química e biológica), de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e de absorção pelas plantas, podendo serem distribuídas através da água, ar e solo (SPADOTTO *et al.*, 2004; 2006) e, em algumas situações, causar efeitos negativos aos diversos organismos que entram em contato com essas moléculas (BIJLEVELD VAN LEXMOND *et al.*, 2014).

No ecossistema terrestre, a utilização indevida de agrotóxicos pode causar a poluição do solo que é caracterizada pela presença de substâncias sintéticas em concentrações maiores que as admissíveis no ambiente e que, conseqüentemente, causam efeitos aos organismos não-alvo (FAO, 2018).

Entre os agrotóxicos que podem causar impactos no ambiente estão os inseticidas utilizados no tratamento de sementes (ex. tiametoxam, imidacloprid e fipronil), onde alguns estudos já relataram a morte de insetos não-alvo como abelhas quando em contato com a poeira levantada no processo de semeadura (BONMATIN *et al.*, 2015; FURLAN *et al.*, 2018). Além da translocação do i.a através do sistema vascular da planta até o pólen das flores quando realizada a pulverização com esses inseticidas (PISA *et al.*, 2015). No solo os agrotóxicos como o fipronil podem causar diminuição na decomposição de MO por conta da alta toxicidade para microartrópodes (CORTET *et al.*, 2002), diminuição da reprodução de colêmbolos *F. candida*, e em altas concentrações letalidade de minhocas e redução da reprodução de enquitreídeos (ZORTÉA *et al.*, 2018b).

No ecossistema aquático o fipronil apresenta baixa solubilidade e alta persistência podendo provocar letalidade em peixes e em ninfas de libélulas, e infertilidade em crustáceos (PISA *et al.*, 2017; CARY *et al.*, 2004).

Pelas razões citadas acima, para fazer o registro de agrotóxicos e posteriormente comercializá-los no Brasil, uma série de estudos são realizados, como: avaliação de eficiência agrônômica, atribuída ao MAPA; toxicologia humana (Classificação e Avaliação Toxicológica), atribuída à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); e periculosidade ambiental (inclui os ensaios ecotoxicológicos), atribuída ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) (BRESSAN, 2015).

Para a Classificação do Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA), são necessários dados e informações em relação as propriedades físicas e químicas dos agrotóxicos, e a toxicidade para microrganismos, peixes, aves, plantas, algas, microcústeos, insetos não-alvo e organismos do solo (BRESSAN, 2015). Em relação aos ensaios com os organismos do solo, normalmente, para atender as normas solicitadas, são utilizados para testes, os microrganismos e as minhocas, sendo que para o segundo, somente é avaliado a mortalidade (toxicidade aguda) (IBAMA, 2020b). Já na Europa, são utilizados outros organismos do solo, que também possuem representatividade por serem sensíveis as alterações ambientais, além de ensaios crônicos (SISINNO *et al.*, 2019).

Neste sentido, a determinação dos efeitos ambientais dos agrotóxicos no Brasil possui grande potencial de avanço, através da utilização de outros organismos do solo, como colêmbolos e também avaliação de outros parâmetros como reprodução, para prever melhor o risco dos agrotóxicos nos solos tropicais (CARNIEL *et al.*, 2019).

### 3.3 FIPRONIL NO SOLO

A maior parte dos agrotóxicos chega ao solo através de pulverizações terrestres com objetivo de atingir patógenos, insetos e/ou plantas daninhas (SPADOTTO, 2006). Porém, devido à complexidade dos solos, vários fatores podem afetar o destino dessas substâncias como, as propriedades físicas e a composição química do solo e das moléculas, diversidade e quantidade das populações de microrganismos, presença ou ausência de plantas, práticas de manejo do solo, e condições ambientais, como temperatura e precipitação (SAINI; RANI; KUMARI, 2014).

O fipronil chega ao solo predominantemente através do tratamento de sementes, pulverizações, e iscas granuladas. Seu tempo de meio-vida ( $T_{1/2}$ ) depende da umidade, temperatura, conteúdo de matéria orgânica, textura e pH do solo (BONMATIN *et al.*, 2015), sendo que temperatura e umidade mais elevada, favorecem e aceleram o processo de degradação. Os valores de  $T_{1/2}$  podem variar de 19 a 47 dias em Latossolo Vermelho e de 43 a

74 dias para Neossolo Quartzarênico (SCORZA JÚNIOR; FRANCO, 2013). Em relação ao pH, a molécula permanece estável em solos ácidos (pH = 5,5) (SIMON-DELSO *et al.*, 2015)

No solo o fipronil é facilmente adsorvido, pois apresenta coeficiente de sorção alto ( $K_{oc} = 800$ ) e também é pouco móvel ( $\log K_{ow} = 4,0$ ) (GIORIO *et al.*, 2017; AMARAL, 2012). O elevado conteúdo de MO e argila são os grandes responsáveis pela retenção da molécula no solo (ROBEA *et al.*, 2018).

Em condições de campo (solo argiloso), alguns autores verificaram que, após uma hora de aplicação de fipronil ( $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ ), observou-se uma concentração de  $0,122 \text{ mg i.a. kg}^{-1}$  de solo. Porém, essas quantidades de resíduos diminuíram para  $0,108$ ,  $0,081$ , e  $0,002 \text{ mg kg}^{-1}$  no solo coletado após 1, 3, e 90 dias do tratamento, respectivamente (SAINI; RANI; KUMARI, 2014). Devido à complexidade dos solos e da molécula reações ocorreram para reduzir as concentrações de fipronil no solo e aumentar a formação de seus metabólitos como fipronil sulfona (oxidação) fipronil sulfeto (redução) e fipronil amida (hidrólise) (RAVETON *et al.*, 2007). Além disso a degradação do fipronil é três vezes mais rápida em solos que apresentam microrganismos quando comparado a solos estéreis (GUNASEKARA *et al.*, 2007).

Em relação as formulações de fipronil para tratamento de sementes, cerca de 7% é absorvido pela plântula e o restante permanece no solo, próximo a superfície, onde ocorreu a semeadura (RAVETON *et al.*, 2007). Neste sentido, considerando que o destino da molécula é predominantemente o solo, o fipronil pode apresentar riscos aos diversos organismos da fauna edáfica, principalmente efeitos de alta toxicidade transgeracional (OLIVEIRA 2017) e redução da reprodução de *F. candida* em baixas concentrações, em Neossolo (ZORTÉA *et al.*, 2018a).

Para minhocas são conhecidos efeitos das concentrações de fipronil (formulação concentrada para tratamento de sementes – FS) em SAT maiores que  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  (ALVES *et al.*, 2013). Porém, em um solo arenoso (55% de areia e 3,22% de MO), estudos verificaram que a molécula de fipronil e seus metabólitos (fipronil sulfeto e sulfona) causam acumulação nos tecidos de oligoquetas, e conseqüentemente, grande propensão de biomagnificação da cadeia alimentar (QIN *et al.*, 2015).

A partir dos estudos citados acima, verifica-se que o fipronil no solo pode causar impactos negativos a fauna edáfica, porém, em algumas situações seu efeito pode ser minimizado, considerando os atributos dos solos, e as várias reações químicas e biológicas que ocorrem neste ambiente.



### 3.4 O USO DE ORGANISMOS EDÁFICOS COMO BIOINDICADORES DA POLUIÇÃO DO SOLO

A diversidade e abundância dos organismos podem ser usados para avaliar os impactos ambientais dos poluentes no solo (BARETTA *et al.*, 2019), e possuem objetivo de conectar as informações relacionadas aos atributos abióticos (físico e químico) com as transformações da vegetação acima do solo, sendo que as mais utilizadas são biomassa microbiana, mineralização de N, e densidade de minhocas (BUNEMANN *et al.*, 2018). Mas além disso, outra maneira que os organismos podem ser usados para indicar os efeitos de poluentes no solo é através de ensaios ecotoxicológicos terrestres, e os principais organismos utilizados são: minhocas, enquitreídeos, colêmbolos e isópodos terrestres (VAN GESTEL, 2012; CARDOSO; ALVES, 2012)

Devido a elevada capacidade de resposta, a biota pode ser considerada um dos indicadores mais sensíveis, quando ocorrem alterações e mudanças nas condições ambientais do solo, pois considerando o uso e o manejo, os solos reagem lentamente a essas mudanças, podendo ocorrer danos irreversíveis (BUNEMANN *et al.*, 2018).

Os colêmbolos *F. candida* (organismos artrópodes e ápteros) são utilizados como bioindicadores em ensaios ecotoxicológicos terrestres, pois possuem grande importância ecológica (controle microbiano e contribuição na fertilidade do solo), ciclo de vida curta, alta diversidade no ecossistema, alta capacidade de reprodução, elevada sensibilidade às mudanças que ocorrem no solo (em relação as propriedades químicas), são fáceis de criar e manter em laboratório, e suas respostas aos poluentes podem representar as de diferentes classes de organismos edáficos (BARETTA *et al.*, 2019; OLIVEIRA FILHO; BARETTA, 2016; GREENSLADE; VAUGHAN *et al.*, 2003; JANSCH *et al.*, 2006).

Esses artrópodes tem sido utilizados em diversos estudos ecotoxicológicos para avaliar a poluição no solo ocasionada principalmente por inseticidas (BANDEIRA *et al.*, 2020; ZORTÉA *et al.*, 2018a; 2018b), fungicidas (CARNIEL *et al.*, 2019; ALVES *et al.*, 2014), herbicidas (SANTOS *et al.*, 2012), dejetos suínos (SEGAT, 2016), lodo de esgoto (NATAL-DA-LUZ *et al.*, 2011) e metais (ALVES *et al.*, 2018). A resposta desses organismos aos poluentes, em ensaios ecotoxicológicos, podem ser usados para indicar níveis de estresse ambiental e classificação de risco ecológico das substâncias no solo (VAN STRAALLEN, 2002).

Considerando que os organismos edáficos são responsáveis pela ciclagem de nutrientes, decomposição de MO, contribuição na estabilidade de agregados através da liberação de compostos, abertura de galerias, degradação de poluentes, e controle biológico de pragas e doenças (CARDOSO; ANDREOTE, 2016), avaliar o potencial do impacto das atividades

antrópicas (incluindo o uso de agrotóxicos) sobre a fauna do solo é importante para definir limites de preservação dos sistemas de produção agrícola.

### 3.5 ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE PARA AVALIAR OS IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS

A ecotoxicologia estuda as interações entre substâncias químicas tóxicas e os organismos vivos no ambiente (CARDOSO; ALVES, 2012). Os objetivos desta área de estudo são a compreensão dos efeitos das substâncias a longo prazo no ecossistema, compreensão dos processos de exposição dos organismos ao contaminante, entendimento do modo de ação da molécula sobre alguma espécie individualmente, e observação dos efeitos nos níveis mais elevados da cadeia biológica (VAN GESTEL, 2012). A ecotoxicologia permite também estabelecer parâmetros para remediação ambiental e fornecer limites aceitáveis de xenobióticos no ambiente (VAN GESTEL, 2012).

Atualmente, as metodologias dos testes ecotoxicológicos terrestres são padronizadas por normas da Organização Internacional de Normalização (ISO), Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), entre outras. Em geral, os ensaios são classificados de acordo com o tempo de exposição dos organismos ao contaminante (toxicidade aguda ou crônica), os efeitos observados (mortalidade, bioacumulação, e redução de crescimento), e o efeito resposta (letal ou subletal) (KAPANEN; ITAKVAARA, 2001).

Para facilitar os estudos e a padronização dos testes, o solo artificial tropical (SAT) proposto por Garcia (2004), auxiliou no desenvolvimento da ecotoxicologia terrestre no Brasil (NIVA *et al.*, 2016). Porém, para aumentar a relevância ecológica, vários estudos atualmente têm empregado solos naturais de diversas ordens, os quais apresentam novas perspectivas (mais realistas) sobre a avaliação do potencial tóxico de substâncias químicas nos organismos edáficos (NIVA *et al.*, 2016).

Em relação as substâncias utilizadas para os estudos terrestres, destacam-se os agrotóxicos (VAN GESTEL, 2012). Estudos avaliando o impacto de cinco formulações de agrotóxicos destinados ao tratamento de sementes em SAT encontraram a menor CE<sub>20</sub> para imidaclorid (0,010 mg kg<sup>-1</sup>), fipronil (0,120 mg kg<sup>-1</sup>) e carboxin + thiram (0,373 mg kg<sup>-1</sup>), quando comparado com captan (> 1mg kg<sup>-1</sup>) e tiametoxam (> 1mg kg<sup>-1</sup>) (ALVES *et al.*, 2014).

Outros estudos também observaram os efeitos de imidacloprid através de ensaios ecotoxicológicos terrestres com colêmbolos e minhocas em SAT, Neossolo e Latossolo, e destacaram a importância dos solos naturais para avaliar os efeitos dos agrotóxicos no solo,

visto que houve diferença de toxicidade entre os solos utilizados (Ex. colêmbolos:  $CE_{50\text{ SAT}} = 0,80$ ,  $CE_{50\text{ Neossolo}} = 0,09$  e  $CE_{50\text{ Latossolo}} = 0,83\text{ mg kg}^{-1}$ ). Além disso, o estudo demonstrou o risco ecológico do inseticida para as espécies, destacando que, em todos os solos avaliados, ocorreu risco, porém, o impacto foi seis vezes superior em Neossolo (BANDEIRA *et al.*, 2020).

Através dos testes ecotoxicológicos é também possível calcular o risco ecológico dos agrotóxicos para as espécies expostas. Estudos observaram o efeito de mancozeb (fungicida) sobre colêmbolos, minhocas e enquitreídeos, em Latossolo e Nitossolo. Através da razão toxicidade-exposição (RTE), os autores observaram efeitos significativos do risco ecológico somente em Latossolo para colêmbolos e enquitreídeos, e não observaram resultados significativos para minhocas. Além dos ensaios com solos naturais, os autores também sugerem a realização de testes ecotoxicológicos com mais de um organismo do solo (CARNIEL *et al.* 2019).

Em geral, esses ensaios laboratoriais citados acima com agrotóxicos são realizados em uma condição de “pior cenário” e servem como base para a realização de testes em condições ecologicamente mais realistas (considerando a variabilidade natural e as interações complexas), como em semi-campo e campo (JANSCH *et al.*, 2006). Em semi-campo os testes são realizados com colunas intactas de solo e com comunidades naturais. Em campo, é realizado com solo não modificado, e com comunidades naturais e introdução de organismos, sendo que o único teste padronizado com invertebrados é utilizado apenas para avaliar agrotóxicos (caso apresente riscos significativos em ensaios laboratoriais), e utiliza comunidades naturais de minhocas, onde são avaliados abundância, biomassa, e composição de espécies (RÖMBKE; SOUSA, 2019).

Com base no exposto, a realização de testes ecotoxicológicos terrestres em laboratório, com algumas condições mais realistas de exposição, como o uso de solos tropicais naturais, pode auxiliar no entendimento de alguns processos que ocorrem em situações reais no campo e, como vantagem, esses ensaios são facilmente realizados, quando comparado aos de campo (RÖMBKE; SOUSA, 2019).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram realizados três ensaios de toxicidade crônica com *F. candida* para avaliar a toxicidade de fipronil em um solo artificial (SAT) e em dois solos naturais, Latossolo e Neossolo.

### 4.1 SOLOS-TESTE

O SAT foi preparado em laboratório, o qual é uma adaptação do solo artificial OECD n° 207, proposta por Garcia (2004), composto por 75% de areia fina, 20% de argila caulínica e 5% de fibra de coco. O pH do SAT foi ajustado com  $\text{CaCO}_3$  para uma faixa entre 5,5 a 6,5.

Os solos naturais, Latossolo e Neossolo foram coletados nos Municípios de Palmitos (SC - 27° 04' S 53 09' O) e Araranguá (SC - 29° 00' S 49° 31' O), respectivamente, em áreas sem histórico de contaminação por pesticidas. As amostras para a realização dos ensaios foram retiradas de uma profundidade de 0-20 cm do perfil do solo em seguida foram secas ao ar, peneiradas (# 2 mm), e desfaunadas (ALVES *et al.*, 2013).

As análises químicas e físicas dos três solos, foram realizadas de acordo com o Manual de Análises de Solo, Plantas e Outros Materiais (TEDESCO *et al.*, 1995), pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), em Chapecó-SC (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização química e física do SAT, Neossolo e Latossolo utilizado nos testes crônicos com colêmbolos (*F. candida*).

Parâmetros	SAT	Latossolo	Neossolo
MO % (m/v)	1,4 ± 0	3,2 ± 0,8	2,2 ± 0,1
P (mg dm <sup>-3</sup> )	23,4 ± 4,8	4,0 ± 2,1	4,8 ± 1,0
K (mg dm <sup>-3</sup> )	422 ± 48,1	222 ± 2,8	42,0 ± 2,8
Ca (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,2 ± 0,1	8,4 ± 0,4	0,6 ± 0,1
Mg (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,1 ± 0,3	1,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Al (cmolc dm <sup>-3</sup> )	< 0,1	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0
H + Al (cmolc dm <sup>-3</sup> )	1,8 ± 0,4	5,5 ± 0,2	4,0 ± 1,3
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	0,9 ± 0,1	8,0 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Fe (g dm <sup>-3</sup> )	>5,0	>5	>5,0
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	<2,5	>50	<2,5
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	0,6 ± 0,1	18,8 ± 0,6	1,1 ± 0,1
CTC <sub>pH 7</sub> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	3,3 ± 0,2	16,7 ± 0,3	5,2 ± 0,1
CTC <sub>efetiva</sub> (cmolc dm <sup>-3</sup> )	3,3 ± 0,2	10,8 0,3	1,5 ± 0,1
Saturação por bases (%)	65,0 ± 6,6	64,2 ± 4,2	22,2 ± 3,3
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	143 ± 0	355 ± 14,1	41,5 ± 2,2
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	185 ± 0	330 ± 15,6	20,5 ± 1,4
Areia (g kg <sup>-1</sup> )	672 ± 0	315 ± 1,4	938 ± 4,2
CRA (100 %)	46,3 ± 1,7	47,3 ± 1,3	31,6 ± 1,1

Valores expressos em média ± desvio padrão; n = 2. MO = Matéria orgânica; CTC = Capacidade de troca de cátions; CRA = Capacidade de retenção de água

#### 4.2 ORGANISMOS-TESTE

A criação dos organismos-teste, assim como os ensaios ecotoxicológicos, foram realizados conforme as recomendações da ISO 11267 (ISO, 2014). Colêmbolos *F. candida* foram criados em laboratório, em recipientes plásticos contendo um substrato composto por uma mistura de carvão ativado, água e gesso na proporção de 1:6:10 (p:p:p). Os organismos foram mantidos em uma sala com temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12: 12 h e, semanalmente, foram alimentados com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). A indução da

reprodução dos colêmbolos e coleta de ovos foram realizadas também semanalmente com o objetivo de obter organismos com idade sincronizada entre 10 e 12 dias.

#### 4.3 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados no Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó (SC), e constituiu-se em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis tratamentos (cinco concentrações + controle), seis repetições para Latossolo e SAT e cinco repetições para Neossolo. Os solos receberam cinco concentrações crescentes do i.a fipronil, formulação comercial Shelter® FS - 250 g i.a. L<sup>-1</sup> (0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg kg<sup>-1</sup>) e um tratamento controle (somente água destilada). A contaminação dos solos ocorreu por meio de solução de água destilada contaminada com as concentrações do i.a., cujo volume foi calculado para atingir 60% da capacidade de retenção de água (CRA) dos solos. As concentrações de fipronil foram determinadas com base na literatura (ALVES *et al.*, 2014), e a partir da realização de ensaios prévios (ISO 11267, 2014).

As unidades experimentais foram constituídas por um recipiente cilíndrico de vidro (aproximadamente 4 cm de diâmetro e 7 cm de altura), que receberam 30 g de solo úmido (contaminado ou solo controle), 10 colêmbolos com idade sincronizada entre 10 a 12 dias e 2 mg de levedura (ofertado como alimento). Em seguida, os recipientes foram hermeticamente fechados e mantidos em ambiente com temperatura e luminosidade controladas (nas mesmas condições de criação dos organismos-teste). Semanalmente, os recipientes foram abertos para aeração e reposição da perda de água pela diferença de peso. Após 14 dias de início do ensaio, foi adicionado a cada unidade experimental 2 mg de levedura.

#### 4.4 AVALIAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

Decorridos 28 dias do início do ensaio, o conteúdo presente em cada réplica foi transferido para um recipiente plástico, o qual foi submerso em água juntamente com algumas gotas de tinta preta para promover a flutuação e contraste dos organismos sobreviventes. Em seguida, os recipientes com o conteúdo de cada unidade foi fotografado com vista superior, em alta resolução, para facilitar a contabilização dos juvenis e adultos por meio do software ImageJ®, conforme descrito por Alves *et al.* (2014).

A homogeneidade de variâncias (homocedasticidade) e a normalidade dos dados foi testada pelos métodos de Bartlett e Shapiro Wilk, respectivamente, para verificar se o conjunto de dados atendiam às pressuposições para a análise de variância (ANOVA). Quando atendidas as pressuposições, os dados do número de organismos sobreviventes foram submetidos a ANOVA e diferenças significativas entre o controle e as concentrações testadas foram comparadas pelo teste de Dunnet ( $p \leq 0,05$ ). Os dados em Neossolo foram transformados em Logaritmo ( $n^\circ$  juvenis + 1) para atender às pressuposições da ANOVA. A CEO (menor concentração testada com efeito observado) e CENO (maior concentração testada sem efeito observado) foram determinadas com base nos resultados do teste de Dunnet. Os valores de  $CE_{50}$  e  $CE_{10}$  (concentração de efeito em 50% e 10% da população, respectivamente) foram determinados através de modelos de regressão não lineares (ENVIRONMENTAL CANADA, 2007). Todas as análises foram realizadas no software Statistica 7.0<sup>®</sup>.

As concentrações previstas no ambiente (CPA), foram calculadas considerando a densidade dos solos (SAT e Latossolo =  $1 \text{ g cm}^{-3}$ , e Neossolo =  $1,5 \text{ g cm}^{-3}$ ), profundidade de semeadura (5 cm), quantidade de sementes de soja ( $64 \text{ kg ha}^{-1}$  – cultivar BRS 232) e a recomendação do produto comercial Shelter<sup>®</sup> para o tratamento de sementes de soja (50 g i.a./100 Kg de sementes), conforme descrito em Alves *et al.* (2013).

O cálculo do risco ecológico da exposição da *F. candida* ao fipronil nos diferentes solos foi realizado através de duas metodologias: 1) Razão Toxicidade-Exposição (RTE), onde o valor da  $CE_{10}$  foi dividido pela CPA ( $RTE = CE_{10}/CPA$ ); 2) Quociente de Perigo (QP), que foi calculado pela divisão do valor da CPA pela concentração sem efeito tóxico potencial (CSETP) ( $QP = CPA/ CSETP$ ). A CSETP foi obtida dividindo a  $CE_{10}$  por um fator de 100 ( $CSETP = CE_{10}/100$ ). Foi considerado como risco ecológico significativo quando os valores de RTE e QP foram  $< 5$  e  $> 1$ , respectivamente (RENAUD *et al.*, 2018; EC, 2003).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os critérios de validação dos ensaios de toxicidade crônica com colêmbolos, de acordo com a ISO 11267 (ISO, 2014), foram atendidos. Os tratamentos controle apresentaram Coeficiente de Variação (CV) menor que 30%, sobrevivência dos adultos maior que 80% e média de juvenis maior que 100 indivíduos.

Os valores do pH de todos os solos foram similares entre o início e o fim dos ensaios, no período de 28 dias. Os valores da umidade do SAT e do Latossolo também não se alteraram e, permaneceram próximas ao padrão recomendado (entre 50-60% da CRA), estabelecido pela norma (ISO, 2014; Tabela 2).

Tabela 2. Média dos valores de pH e umidade do solo (% de água) no início e fim (após 28 dias) dos ensaios, em SAT, Latossolo e Neossolo.

Parâmetros	SAT	Latossolo	Neossolo
pH <sub>KCL</sub> inicial	5,9 ± 0,03	4,83 ± 0,05	4,1 ± 0,04
pH <sub>KCL</sub> final	5,9 ± 0,01	5,30 ± 0,01	4,4 ± 0,05
Umidade inicial	26,98 ± 0,3	28,73 ± 0,8	18,53 ± 3,7
Umidade final	26,96 ± 0,4	30,58 ± 1,2	n.d

Valores expressos em média ± desvio padrão; n = 6; n.d = não determinado.



Nas condições deste estudo, o fipronil, através da formulação utilizada no tratamento de sementes, causou redução do número de juvenis gerados pelos colêmbolos *F. candida* em todos os solos testados. Em SAT e Neossolo, houve diferença significativa em relação ao controle a partir da primeira concentração testada (CEO = 0,25 mg kg<sup>-1</sup>). Porém, em Latossolo, os efeitos tóxicos significativos iniciaram a partir da segunda concentração testada (CEO = 0,5 mg kg<sup>-1</sup> - Figura 1).

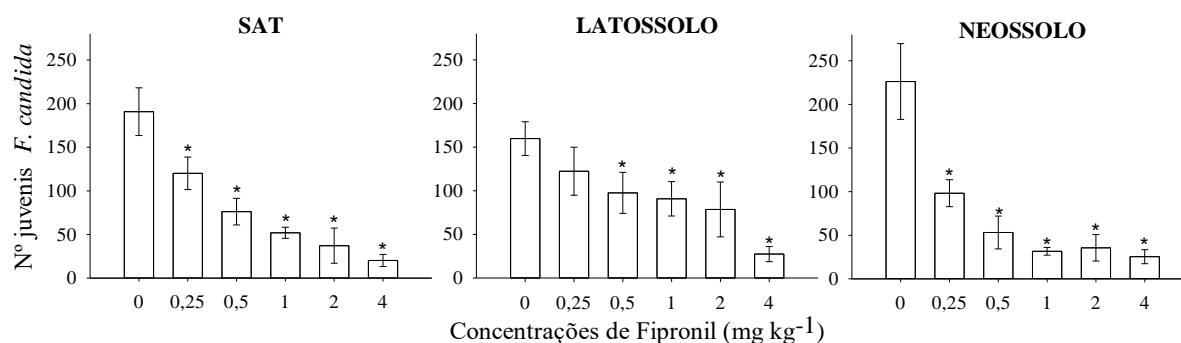


Figura 1. Número médio de juvenis *F. candida* gerados em SAT, Latossolo e Neossolo, submetidos às concentrações crescentes de fipronil. Asteriscos (\*) indicam redução significativa do número de juvenis (*F. candida*) em relação ao controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). (⌈) Desvio padrão. Concentrações expressas em mg de fipronil por kg solo seco (mg kg<sup>-1</sup>).

A CENO do SAT e Neossolo, não puderam ser determinadas, devido às concentrações mais baixas já causarem efeitos significativos em relação ao controle. Os valores estimados da CE<sub>50</sub> e CE<sub>10</sub> (Tabela 3), foram maiores em Latossolo seguido por SAT e por fim Neossolo.

Tabela 3. Parâmetros ecotoxicológicos (CENO, CEO, CE<sub>50</sub>, CE<sub>10</sub>) calculados com base em ensaios de toxicidade crônica com *F. candida*, em SAT, Latossolo e Neossolo, submetidos a concentrações crescentes de fipronil (mg kg<sup>-1</sup>).

Parâmetros	SAT	Latossolo	Neossolo
CENO	< 0,25	0,25	< 0,25
CEO	0,25	0,5	0,25
CE <sub>50</sub>	0,39 (0,30 - 0,48)	1,28 (0,65 - 1,91)	0,20 (0,16 - 0,25)
CE <sub>10</sub>	0,13 (0,09 - 0,17)	0,5 (0,004 - 1,06)	0,06 (0,05-0,08)

O intervalo de confiança (IC) está entre parênteses.

As concentrações previstas no ambiente (CPA) foram iguais para Latossolo e SAT, e inferior para Neossolo, por conta da diferença de densidade entre os solos (Tabela 4). A Razão

Toxicidade-Exposição (RTE) da CPA indicou risco significativo de fipronil para os colêmbolos em SAT (2,03) e Neossolo (1,41), mas não indicou risco em Latossolo (7,81). Quando o risco foi avaliado pela metodologia do Quociente de Perigo (QP), observou-se risco significativo em todos os solos testados e, conseqüentemente, necessidades de futuras investigações da CPA de fipronil, com maiores valores para Neossolo, seguido por SAT e Latossolo (Tabela 4).

Tabela 4. Concentração prevista no ambiente (CPA) de fipronil em SAT, Latossolo e Neossolo e valores de risco ecológico Razão Toxicidade-Exposição (RTE) e Quociente de Perigo (QP) para *F. candida*.

Parâmetros	SAT	Latossolo	Neossolo
CPA	0,064	0,064	0,043
RTE	2,03*	7,81	1,41*
CSETP	0,0013	0,005	0,0006
QP	49,23*	12,80*	71,11*

CPA: Concentrações expressas em mg de fipronil por kg solo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ );

RTE < 5 = risco significativo para *F. candida* (\*);

CSETP: fator de segurança ( $\text{CE}_{10} / 100$ );

QP > 1, = risco significativo e a necessidade de investigações futuras (\*).

Neste estudo, foi observado os efeitos negativos do fipronil sobre a redução da reprodução de colêmbolos *F. candida*. A toxicidade da molécula também foi observada por Alves *et al.* (2014), Zortéa *et al.* (2018a; 2018b;) Oliveira (2017) e San Miguel, Raveton e Ravanel (2008). Além dos efeitos observados em colêmbolos, há estudos que demonstram os efeitos de fipronil em outras espécies bioindicadores de qualidade do solo. Alves *et al.* (2013) não encontraram toxicidade para minhocas em testes crônicos em SAT, enquanto Zórtea *et al.* (2018b) observaram diferenças significativas na reprodução de *Eisenia andrei* em SAT contaminado com  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , porém, estes autores não encontraram efeitos em Latossolo. Desta maneira, é provável que a toxicidade de fipronil para as oligoquetas é muito menor, quando comparada às observadas para colêmbolos neste estudo e na literatura (ALVES *et al.*, 2014; ZÓRTEA *et al.*, 2018b), em virtude do modo de ação da molécula especialmente sobre artrópodes.

Sabe-se que o fipronil atua no bloqueio do neurotransmissor GABA, levando ao bloqueio dos canais de cloro, hiperexcitação e morte de insetos (GALLO, *et al.*, 2002; FAO, 2009). Porém, estudos indicam que o fipronil também pode atuar como um desregulador endócrino, na expressão do receptor de ecdisona, que está ligado a maturação sexual e ecdise

em artrópodes, ocasionando redução da oviposição, pelas fêmeas (GAERTNER *et al.*, 2012; CARY *et al.*, 2004). Assim, é possível que os efeitos na reprodução de *F. candida* sejam explicados em parte pela ação do fipronil.

É provável que as vias de contato entre o fipronil e os colêmbolos sejam por meio da cutícula, pela absorção da água nos poros do solo por meio do tubo ventral, e a partir da ingestão de alimentos contaminados no solo (SAN MIGUEL, RAVETON E RAVANEL, 2008), o que possivelmente pode ocorrer quando realizado a semeadura de sementes tratadas com fipronil em condições de campo (PISA *et al.*, 2014; BONMATIN *et al.*, 2014). Além disso, verificou-se que as propriedades e características dos solos utilizados influenciaram no potencial tóxico da molécula para a espécie testada.

Em nossos estudos, a menor toxicidade do fipronil em Latossolo quando comparado com SAT e Neossolo (Tabela 3) pode estar relacionada com o conjunto de partículas de argila e MO formando um complexo coloidal, onde ocorre ligações químicas entre os átomos eletronegativos do fipronil tais como F, Cl, O e N com os coloides do solo (SINGH; SRIVASTAVA; SRIVASTAVA, 2016; 2014). Desta maneira é possível que ocorra menor contato entre a molécula de fipronil e os colêmbolos na solução do solo e conseqüentemente menor toxicidade a esses organismos em Latossolo.

As argilas possuem elevada superfície específica e tendem a adsorver certos tipos de compostos, deixando pouca quantidade remanescente na solução do solo (BRADY; WEIL, 2013). Neste sentido, o fipronil em Neossolo (4% de argila) pode ter ficado mais disponível na solução e, por isso, ter causado maior toxicidade aos organismos, em comparação ao SAT e Latossolo.

Outra propriedade que pode ter auxiliado na retenção de fipronil pelas argilas em Latossolo e SAT foi a capacidade de retenção de água (CRA) desses solos. Estudos observaram que ocorre um aumento da adsorção de fipronil quanto menor é a relação solo:água (S:A). O SAT e Latossolo apresentaram menor relação S:A devido a maior CRA nesses solos, quando comparado ao Neossolo (Tabela 1), assim é possível que em algumas situações ocorra a desagregação das partículas de solo na presença de água e aumente a superfície de adsorção principalmente da argila, e conseqüentemente maior adsorção e menor toxicidade de fipronil em Latossolo e SAT (BOBÉ; COSTE; COOPER, 1997).

Aliado ao conteúdo de argila, a adsorção do fipronil nos solos também pode ser favorecida pela MO (MANDAL; SINGH, 2013). Por causa do fipronil apresentar coeficiente de partição alto ( $\log K_{ow}$  4,00) e um valor médio de coeficiente de adsorção à matéria orgânica do solo ( $K_{oc} = 800$ ), a molécula tende a ter propriedades lipofílicas, e é capaz de se ligar as

partículas da MO (GIORIO *et al.*, 2017). Como o Latossolo, foi o que apresentou maiores conteúdos de MO (3,2%), em parte, a baixa toxicidade para os organismos pode estar ligada também ao fato do i.a. ter se ligado à MO do solo, e ter diminuído seu poder tóxico, como observado também nos estudo de Alves *et al.* (2014), que não determinaram CE<sub>50</sub> de fipronil (formulação comercial Standak® para tratamento de sementes) para colêmbolos em SAT, sendo que a maior concentração testada foi de 1 mg kg<sup>-1</sup>, indicando menor toxicidade, em relação aos resultados deste estudo (Tabela 3) visto que os de Alves *et al.* (2014) utilizaram um SAT com 5% a mais de fibra de coco (10%), quando comparado ao SAT deste estudo (5 % de fibra de coco).

Como o teor de MO do Neossolo e SAT foram baixos (Tabela 1), a contribuição da MO na retenção do fipronil possivelmente é menor nesses solos, quando comparado ao efeito da argila + silte observado em SAT (30% argila + silte), do que em Neossolo (6% argila + silte) pois estudos demonstram que o fipronil apresenta constante de sorção na fração mineral do solo (K<sub>d</sub>) maior em solos com conteúdo elevado de argila + silte (SPOMER; KAMBLE, 2010). Resultados similares do conteúdo de argila + silte foram encontrados por Bandeira *et al.* (2020) ao avaliar a toxicidade de imidacloprid em solos tropicais.

A CTC<sub>efetiva</sub> (Tabela1), que demonstra a capacidade do solo em reter cátions sob condições naturais de pH, a qual é principalmente influenciada pelos teores de argila e MO, também pode ser um indicativo da retenção do fipronil no solo, especialmente em Latossolo, já que este apresentou CTC<sub>efetiva</sub> maior que SAT e Neossolo (Tabela 1). Desta maneira, é possível que solos com elevada CTC<sub>efetiva</sub> tenham menor impacto na toxicidade de fipronil sobre a reprodução de colêmbolos (SINGH; SRIVASTAVA; SRIVASTAVA, 2014).

Zortéa *et al.* (2018a; 2018b) também observaram os efeitos de fipronil similares aos nossos, com baixos valores de CE<sub>50</sub> para Neossolo (0,14 mg kg<sup>-1</sup> IC: 0,11-0,16), quando comparado ao SAT (0,29 mg kg<sup>-1</sup> IC: 0,22- 0,37) e Latossolo (0,26 mg kg<sup>-1</sup> IC: 0,18-0,35), demonstrando o efeito da textura e da MO, como os principais fatores que contribuem para minimizar o efeito do i.a. para os organismos.

Quando o fipronil é a base do fármaco, a molécula é liberada no ambiente lentamente, através da urina e das fezes dos animais (COUTINHO *et al.*, 2005), ao contrário do que ocorre quando este é utilizado no tratamento de sementes, onde o inseticida entra em contato direto com o solo e com os organismos ali presentes, desta maneira a exposição ao contaminante torna-se ainda mais problemática no segundo caso, pois a liberação pode ser rápida, dependendo da umidade e do fluxo de água no solo (GIORIO *et al.*, 2017).

Neste sentido, embora alguns valores de  $CE_{50}$  encontrados por Zortéa *et al.* (2018a; 2018b) sejam relativamente menores do que os aqui encontrados (especialmente, em Latossolo), o risco ecológico de fipronil nas formulações de tratamento de sementes é provavelmente maior, do que quando usado em formulações de medicamentos veterinários, visto que as concentrações previstas no ambiente (CPA) nestes casos provavelmente serão menores nos solos (ALVES *et al.*, 2019), em relação à CPA devido ao manejo de tratamento químico de sementes (Tabela 4).

Com outra formulação agrícola de fipronil (REGENT® 800 - granulada), aplicado sobre um solo natural (11,06% MO, pH 5,5, 35% de argila, CRA 69,8%) Oliveira (2017) observou que, após 35 dias de exposição, houve redução do número de juvenis na concentração de 0,26  $mg\ kg^{-1}$ , porém, quando os mesmos juvenis foram utilizados para novos testes (multigeração), a diminuição da reprodução foi observada na dose de 0,13  $mg\ kg^{-1}$ . Desta forma, é possível que as novas gerações de organismos tornem-se ainda mais sensíveis ao fipronil no ambiente (WALKER; STORY; HOSE, 2016), além disso, a ação da molécula poderá ser mais intensa principalmente em solos mais arenosos em comparação aos argilosos, como observado neste estudo de reprodução.

Quando utilizado o fipronil puro (99,3% de pureza), em um solo recomendado pela ISO 11267 (10% turfa, 20% argila caulínica, 70% areia) San Miguel, Raveton e Ravanel, (2008) observaram redução da reprodução de *F. candida* a partir da concentração de 0,335  $mg\ kg^{-1}$ , próximo ao observado em nosso trabalho em SAT (tabela 3). Os mesmos autores determinaram um quociente de perigo (QP) baseado no tratamento de sementes de girassol (RAVETON *et al.* 2007) e identificaram QP significativo e inaceitável na maior parte da zona radicular (0 – 20 cm do solo) para os colêmbolos, o que também ocorreu em nosso estudo com a cultura da soja (Tabela 4).

Neste estudo, em virtude das concentrações mais baixas testadas já causarem efeitos em *F. candida*, a CENO de SAT e Neossolo não puderam ser determinadas. Contudo, Zórtea *et al.* (2018a; 2018b), determinaram a CENO de fipronil em 0,15 e 0,08  $mg\ kg^{-1}$  em SAT e Neossolo, respectivamente. Isto indica que, provavelmente, os efeitos negativos de fipronil sobre os colêmbolos em Neossolo se iniciem em concentrações ainda menores do que aquelas utilizadas no ensaio deste estudo, próximas à CPA, como verificado através do quociente de perigo (QP) significativo em todos os solos analisados, com valores de 71, 49 e 12 vezes superior ao limite ( $> 1$ ) para Neossolo, SAT e Latossolo, respectivamente (Tabela 4).

As diferenças de QP entre os solos tropicais indicam que em Neossolo o risco de fipronil é superior aos outros solos por consequência da elevada toxicidade observada (Tabela 3). Os

valores de QP significativo em nosso estudo, nos de Biswas *et al.* (2019) e San Miguel, Raveton e Ravanel, (2008), indicam que o risco do fipronil para colêmbolos não deve ser negligenciado, visto que pode persistir por até 30 dias após a aplicação do produto no campo com  $0,20 \text{ mg kg}^{-1}$  (BISWAS *et al.*, 2019), o que possivelmente também pode ocorrer com o fipronil via tratamento de sementes no solo.

Em relação a razão toxicidade-exposição (RTE), o fipronil não apresentou diferença significativa para Latossolo, mas apresentou para SAT e Neossolo, e isso deve-se as características desse solo que minimizam os efeitos de toxicidade e consequentemente da RTE.

As diferenças de risco de fipronil da RTE e QP demonstram que o Neossolo representa maior risco para a espécie por conta principalmente da baixa porcentagem de argila+silte e consequentemente menor retenção da molécula e maior disponibilidade na solução do solo. Carniel *et al.* (2019), também observaram em seu estudo com o fungicida mancozeb, que em um solo apresentou diferença significativa da RTE (Latossolo) e outro não (Nitossolo) por conta principalmente da relação textural entre eles.

Com base nestes valores de risco, é possível ainda inferir que as classificações ambientais para as formulações comerciais de inseticidas para o tratamento químico de sementes podem subestimar o verdadeiro perigo ambiental das moléculas, e demonstram a necessidade da introdução de ensaios ecotoxicológicos terrestres “sensíveis” para tal determinação. Além disso, mais estudos deveriam ser realizados, como avaliações em nível de semi-campo ou de campo para confirmar se os efeitos do fipronil ocorrerão em condições mais realistas de exposição.

## 6. CONCLUSÕES

- Fipronil causa redução do número de juvenis em colêmbolos *F. candida* em SAT, Latossolo e Neossolo, indicando que há diferenças na toxicidade do i.a. entre os solos.
- A CENO em Latossolo foi de 0,25 mg kg<sup>-1</sup>, em SAT e Neossolo não foi possível fazer a determinação. A CEO foi determinada em 0,25 mg kg<sup>-1</sup> para SAT e Neossolo e em 0,5 mg kg<sup>-1</sup> para Latossolo. As concentrações de CE<sub>50</sub> e CE<sub>10</sub> apresentaram menores valores em Neossolo, seguido por SAT e Latossolo.
- Através das metodologias de risco ecológico (QP e RTE), verificou-se que a exposição de colêmbolos pode apresentar maiores riscos em Neossolo.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, L. R. P. *et al.* Aplicação da substância teste. *In*: NIVA, C.C. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 153-157.
- ALVES, P. R. L. *et al.* Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. **Chemosphere**. [s. l.], v. 90, p. 2674-2682, 2013.
- ALVES, L. R. P. *et al.* Ecotoxicological impact of arsenic on earthworms and collembolans as affected by attributes of a highly weathered tropical soil. **Environ Sci Pollut Res**. [s. l.], v. 25, p. 13217-13225, 2018.
- ALVES, P. R. L. *et al.* Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. [s. l.], v. 105, p. 65-71, 2014.
- AMARAL, R. B. **Investigação do comportamento eletroquímico do inseticida fipronil e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica**. 2012. (Doutorado em ciências) – Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2012.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Fipronil, 2019. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/F43+%E2%80%93Fipronil/cee42727-46ab-44a2-b88e-10ea4e8faab9>. Acesso em: 25 jan. 2020.
- BANDEIRA, O. F. *et al.* Toxicity of imidacloprid to the earthworm *Eisenia andrei* and collembolan *Folsomia candida* in three contrasting tropical soils. **Journal of Soils and Sediments**. [s. l.], 2020. p. 11.
- BARETTA, D. *et al.* Ecotoxicologia terrestre com ênfase na fauna edáfica. *In*: NIVA, C.C. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 23-36.
- BIJLEVELD VAN LEXMOND, M. *et al.* Worldwide integrated assessment on systemic pesticides. Global collapse of the entomofauna: exploring the role of systemic insecticides. **Environ Sci Pollut Res**. [s. l.], v. 49, p. 343-352, 2014.
- Biswas, S. *et al.* Simultaneous determination and risk assessment of fipronil and its metabolites in sugarcane, using GC-ECD and confirmation by GC-MS/MS. **Food Chemistry**. v. 272, p. 559–567, 2019
- BOBÉ, A.; COSTE, M. C.; COOPER, J. F. Factors Influencing the Adsorption of Fipronil on Soils. **J. Agric. Food Chem**. [s. l.], v. 45, p. 4861-4865, 1997.
- BONMATIN J. M. *et al.* Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environ Sci Pollut**. [s. l.], v. 22, p. 35-67, 2015.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. Elementos da Natureza e Propriedades dos Solos. *In*: BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Organismos e Ecologia do Solo**. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2013 p. 356-396.



- BRESSAN, M. Agrotóxicos (legislação federal). **Embrapa**. Paraná, 2015, 70 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355202/1529289/Agrot%C3%B3xicos+-+Legisla%C3%A7%C3%A3o+Federal+-+Marcelo+Bressan.pdf/7fa2f519-2945-a6a6-dbe5-c141c487693c>. Acesso em: 15 jan. 2020.
- BUNEMANN *et al.* Soil quality – A critical review. **Soil Biology and Biochemistry**. [s. l.], v. 120, p. 105-125, 2018.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ALVES, P. R. L. Soil Soil Ecotoxicology. *In*: GHOSIA, B (ed). **Ecotoxicology**. InTech, 2012. p. 27–50.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. Microbiologia do solo. *In*: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Introdução a biologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. p. 9-22.
- CARNIEL, L. S. C. *et al.* The fungicide mancozeb affects soil invertebrates in two subtropical Brazilian soils. **Chemosphere**. [s. l.], v. 232, p. 180-185, 2019.
- CARY, T. L. *et al.* Phenylpyrazole Insecticide Fipronil Induces Male Infertility in the Estuarine Meiobenthic Crustacean *Amphiascus tenuiremis*. **Environ. Sci. Technol.** [s. l.], v. 38, p. 522-528, 2004
- CASE, P. The insecticide fipronil poses a "high acute risk" to bees when used as a seed treatment for maize, according to the European Food Safety Agency (EFSA). **Gale Academic Onefile**. [s. l.], 2013.
- CORTET, J *et al.* Effects of pesticides on organic matter recycling and microarthropods in a maize field: use and discussion of the litterbag methodology. **European Journal of Soil Biology**. [s. l.] v. 38, p. 261–265, 2002
- COUTINHO, C. *et al.* Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 65-72, 2005.
- EC. European Commission. Technical Guidance Document on Risk Assessment. In Support of Commission Directive 93/67/EEC. Commission Regulation (EC) No 1488/94 and Directive 98/8/EC Joint Research Center, 2003.
- ENVIRONMENTAL CANADA**. Guidance Document on Statistical Methods for Environmental Toxicity Test. Environmental Protection Series, EPS 1/RM/46, Canada, Ottawa, 2007.
- FURLAN, L. *et al.* An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 3: alternatives to systemic insecticides. **Environmental Science and Pollution Research**. [s. l.], 2018, 23 p.
- FAO**. Food and agriculture organization of the united nations: Soil Pollution: a hidden reality. Rome. 142 p. 2018.
- FAO**. Food and agriculture organization of the united nations: Global assessment of the impact of plant protection products on soil functions and soil ecosystems, Rome. 2017. 40 p.

**FAO.** Food and agriculture organization of the united nations: Specifications and evaluations for agricultural pesticides: Fipronil. 2009.

**FAOSTAT.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. Pesticides Use. 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/RP>. Acesso em: 27 jan. 2020.

**GARCIA, M.V. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions.** 2004. 291 f. Tese (Doutorado em Agricultura) - Rheinische Friedrich Wilhelms, Universität Bonn, 2004.

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

GAERTNER, K. Identification and expression. Of the ecdysone receptor in the harpacticoid copepod, *Amphiascus tenuiremis*, in response to fipronil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. [s. l.], v. 76 , p. 39–45, 2012

GALLO, D. *et al.* **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920 p.

GIORIO, C. *et al.* An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 1: new molecules, metabolism, fate, and transport. **Environ Sci Pollut Res**. [s. l.], p. 1 - 33, 2017.

GREENSLADE, P.; VAUGHAN, G. T. A comparison of Collembola species for toxicity testing of Australian soils. **Pedobiologia**. [s. l.], v. 47, p. 171 - 179, 2003.

GUNASEKARA, S. A. *et al.* Environmental fate and toxicology of fipronil. **J. Pestic. Sci.** [s. l.], v. 32, n. 3, p. 189–199, 2007.

**IBAMA.** Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis: Avaliação ambiental para registro de agrotóxicos, seus componentes e afins de uso agrícola. 2020. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/avaliacao-ambiental/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola#requisitocompetencia>. Acesso em: 02 jan. 2020a

**IBAMA.** Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis: Relatório de comercialização de agrotóxicos. 2020. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 02 jan. 2020b

**ISO 11267.** International Organization for Standardization. Soil Quality e Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. Geneva, Switzerland, 2014.

JANSCH, S. *et al.* Effects of pesticides on soil invertebrates in model ecosystem and field studies: a review and comparison with laboratory toxicity data. **Environmental Toxicology and Chemistry**. [s. l.], v. 25 p. 2490-2501, 2006.

KAPANEN A.; ITAVAARA M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 49, p. 1-16, 2001.

KOHL, K. L. *et al.* Tracking neonicotinoids following their use as cotton seed treatments. **PeerJ Life & Environment**. [s. l.], 2019, 16 p.

MACHADO, J. C. *et al.* **Tratamento de sementes no controle de fitopatógenos e pragas**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte: Embrapa, v.27, n.232, p.76 – 87, maio/jun, 2006.

MANDAL, K.; SINGH, B. Persistence of fipronil and its metabolites in sandy loam and clay loam soils under laboratory conditions. **Chemosphere**. [s. l.], v. 91, p. 1596-1603, 2013.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, M. J. O. Os organismos do solo. *In*: MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, M. J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006, p. 17-82.

NATAL-DA-LUZ, T. *et al.* Toxicity to *Eisenia andrei* and *Folsomia candida* of a metal mixture applied to soil directly or via an organic matrix. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. [s. l.], v. 74, p. 1715-1720, 2011.

NIVA, C. C. *et al.* Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course. **Environ Sci Pollut Res**. [s. l.], v. 23, p. 11363–11378, 2016.

NUNES, J.C.S. Tratamento de sementes de soja, como um processo industrial no Brasil. **SEED NEWS**, XX ed., jan. 2016. Disponível em: <https://seednews.com.br/edicoes/artigo/334-tratamento-de-sementes-de-soja-como-um-processo-industrial-no-brasil-edicao-janeiro-2016>. Acesso em: 27 jan. 2020.

OLIVEIRA, D. **Toxicidade multigeracional do fipronil para *Folsomia candida* em solo natural tropical**. 2017. (Mestrado Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Tecnologia, Limeira, 2017.

OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; BARETTA, D. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos? **Revista Scientia Agraria**. Curitiba, v. 17, p. 21-40, 2016.

PAULSRUD, E. B. *et al.* **Seed Treatment**. University of Illinois Board of Trustees - Urbana, Illinois: 2001, p. 33.

PISA, L. W. *et al.* Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science And Pollution Research**. [s. l.], v. 22, p.68-102, 2015.

QIN, F. *et al.* Enantioselective bioaccumulation and toxic effects of fipronil in the earthworm *Eisenia foetida* following soil exposure. **Pest Manag Sci**. [s. l.], v. 71, p. 553 - 561, 2015.

RAVETON, R. *et al.* Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation. **Chemosphere**. [s. l.], v. 69, p. 1124 - 1129, 2007.

RENAUD M, A. *et al.* Effects of the neonicotinoids acetamiprid and thiacloprid in their commercial formulations on soil fauna. **Chemosphere**. [s. l.], v. 194, P. 85–93, 2018.

RICHETTI, A.; GOULART, A. C. P. Adoção e custo do tratamento de sementes na cultura da soja. **Embrapa**. Dourados, Comunicado Técnico 247, 2018, 8 p.

ROBEA, M. A. *et al.* Fipronil: mechanisms of action on various organisms and future relevance for animal models studies. **Journal of Survey in Fisheries Sciences**. [s. l.], v. 5, p. 20 - 31, 2018.

RÖMBKE, J.; SOUSA, J. P. Métodos para ensaios ecotoxicológicos em níveis hierárquicos avançados: abordagens de semi-campo e campo. In: NIVA, C.C. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 231 – 245.

SAN MIGUEL, A.; RAVETON, M.; RAVANEL, P. L. G. Phenylpyrazoles impact on *Folsomia candida* (Collembola). **Soil Biology & Biochemistry**. [s. l.], v. 40, p. 2351 - 2357, 2008.

SANTOS, M. J. G. *et al.* Pesticide application to agricultural fields: effects on the reproduction and avoidance behaviour of *Folsomia candida* and *Eisenia andrei*. **Ecotoxicology**. [s. l.], v. 21, p. 2113 - 2122, 2012.

SAINI, S.; RANI, M.; KUMANI, B. Persistence of fipronil and its metabolites in soil under field conditions. **Environ Monit Assess**. [s. l.], v. 186, p. 69 - 74, 2014.

SEGAT, J. C. **Avaliação ecotoxicológica da aplicação de dejetos líquidos de suínos em solos subtropicais**. 2016. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2016.

SCORZA JÚNIOR, R. P.; FRANCO, A. A. A temperatura e umidade na degradação de fipronil em dois solos de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**. Santa Maria, 2013, 17 p.

SIMON-DELISO, N. *et al.* Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**. [s. l.], v.22, p.5-34, 2015.

SPOMER, A. S., KAMBLESINGH, S. T. Sorption and Desorption of Fipronil in Midwestern Soils. **Bull Environ Contam Toxicol**. [s. l.], v. 84, p. 264–268, 2010.

**SDA/MAPA**. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento secretaria de defesa agropecuária: Instrução normativa conjunta nº 1, de 28 de dezembro de 2012. Dispõe sobre a aplicação dos ingredientes ativos Imidacloprido, Clotianidina, Tiametoxam e Fipronil. Disponível em: <http://www2.cultura.gov.br/site/wp-content/uploads/2012/02/INSTRU%3%87%C3%83O-NORMATIVA-1-de-09-02-2012.pdf>. Acesso em: 21 dez 2019.

SINGH, A.; SRIVASTAVA, A.; SRIVASTAVA, P. C. Sorption–desorption of fipronil in some soils, as influenced by ionic strength, pH and temperature. **Pest Manag Sci**. [s. l.], v. 72, p. 1491 -1499, 2016.

SINGH, A.; SRIVASTAVA, A.; SRIVASTAVA, P. C. Sorption Kinetics of Fipronil on Soils. **Bull Environ Contam Toxicol**. [s. l.], v. 93, p. 758 -763, 2014.

SISINNO, C. L. S. *et al.* Importância e aplicações dos ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas. In: NIVA, C.C. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 45-59.

SPADOTTO, C. A. *et al.* Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, 2004. 29 p.

SPADOTTO, C. A. Avaliação de riscos ambientais de agrotóxicos em condições brasileiras. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, 2006. 20 p.

STATSOFT, I. **STATISTICA (Data Analysis Software System)**, 2004.

TEDESCO, J. M. *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais. Manual de Métodos de Análise de Solos**. Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2. ed., 1995, 170 p. Disponível em: <file:///D:/User/Downloads/Tedesco-et-al-1995.pdf>. Acesso em: 06 mar. 2020.

VAN GESTEL, A. M. C. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. **ZooKeys**. [s. l.], v. 176, p. 275-296, 2012.

VAN STRAALEN N. M. C. Theory of ecological risk assessment based on species sensitivity distributions. In: POSTHUMA, L.; SUTER, G.; TRAAS, T. P (eds.). **Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology**. CRC Press, 2002, p. 37-48.

WALKER, P.W.; STORY, P.G.; HOSE, G.C. Comparative effects of pesticides, fenitrothion and fipronil, applied as ultra-low volume formulations for locust control, on non-target invertebrate assemblages in Mitchell grass plains of south-west Queensland, Australia. **Crop Prot.** [s. l.], v. 89, p. 38-46, 2016.

ZÓRTEA, T. *et al.* Ecotoxicological effect of fipronil and its metabolites on *Folsomia candida* in tropical soils. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. [s. l.], v. 62, p. 203 - 209, 2018a.

ZÓRTEA, T. *et al.* Ecotoxicological effects of fipronil, neem cake and neem extract in edaphic organisms from tropical soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. [s. l.], v. 166, p. 207 - 214, 2018b.