

ANA CAROLINA FRANÇA

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE SOLO SOBRE O POTENCIAL TÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRID SOBRE MINHOCAS E COLÊMBOLOS

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. Paulo Roger Lopes Alves**

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 04 / 12 / 2019

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves – UFFS



Prof. Dr. Jorge Luis Mattias – UFFS



Prof. Dr. Marco Aurélio Tramontin da Silva - UFFS



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL – UFFS

CAMPUS CHAPECÓ

CURSO DE BACHAREL EM ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA

ANA CAROLINA FRANÇA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE SOLOS SOBRE O
POTENCIAL TÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRID SOBRE MINHOCAS E
COLÊMBOLOS**

CHAPECÓ

2019

ANA CAROLINA FRANÇA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE SOLOS SOBRE O
POTENCIAL TÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRID SOBRE MINHOCAS E
COLÊMBOLOS**

Artigo científico apresentado ao curso de Engenharia
Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da
Fronteira Sul como requisito parcial para aprovação
na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves

CHAPECÓ

2019

AValiação DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE SOLOS SOBRE O POTENCIAL TÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRID SOBRE MINHOCAS E COLÊMBOLOS

ANA CAROLINA FRANÇA¹, PAULO ROGER LOPES ALVES².

¹Estudante do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS);

²Professor do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul.

RESUMO

O tratamento de sementes com o imidacloprid tem sido uma técnica utilizada como controle de pragas agrícolas durante a fase inicial de desenvolvimento das plantas cultivadas no Brasil. Entretanto apesar deste ingrediente ativo (i.a.) controlar as pragas agrícolas, o imidacloprid pode atingir os insetos não alvo do solo, que desempenham importantes serviços ecossistêmicos. A maioria dos estudos sobre os impactos deste i.a. para bioindicadores de qualidade do solo tem sido realizada em solos artificiais, os quais podem não representar com fidelidade os efeitos que ocorrem em solos naturais, distanciando os resultados da realidade. Devido a isso, torna-se fundamental a realização de ensaios que avaliem os efeitos negativos do imidacloprid sobre a fauna do solo em solos naturais Brasileiros. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos tóxicos e o risco ecológico de imidacloprid para colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e minhocas da espécie *Eisenia andrei*, em três tipos de solo: Solo Artificial Tropical (SAT), Neossolo e Latossolo. Para isso, foram realizados ensaios de toxicidade crônica com ambas as espécies, seguindo as diretrizes das normas ISO 11268-2:2012 para ensaios com minhocas e ISO 11267:1999 para colêmbolos. Foram verificadas reduções na reprodução das espécies testadas, em todos os solos, quando expostas ao i.a. Entretanto, para ambas as espécies, a maior toxicidade foi observada em Neossolo ($CE_{50} = 0,21 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,09 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente). Além disso, a partir do cálculo do risco ecológico foi evidenciado risco significativo da exposição destas espécies a este i.a. em todos os solos testados e, portanto, alertando para a necessidade de investigações futuras. Os resultados obtidos indicaram que os diferentes tipos de solos influenciam significativamente na toxicidade crônica do imidacloprid, evidenciando que em Neossolo o i.a. foi mais tóxico para os organismos do que para os demais solos testados, além disso este estudo evidencia a necessidade da realização de ensaios ecotoxicológicos em solos naturais, para obter classificações de periculosidade ambiental mais realistas para as formulações de agrotóxicos utilizados no Brasil.

Palavras-chave: Ecotoxicologia terrestre; Solos naturais; Neonicotinóides, *Eisenia andrei*, *Folsomia candida*.

INFLUENCE OF DIFFERENT SOIL TYPES ON THE TOXIC POTENTIAL OF IMIDACLOPRID INSECTICIDE ON EARTHWORMS AND COLLEMBOLANS

ABSTRACT

Seed dressing with imidacloprid has been used to control agricultural pests during the early development phase of plants grown in Brazil. However, although this active ingredient (a.i.) controls agricultural pests, imidacloprid can also affect non-target soil, that perform important ecosystem services. Most studies on the impacts of this a.i. for soil quality bioindicators have been performed on artificial soils, which may not represent its effects in Brazilian natural soils, resulting in lower ecological relevance. Because of this, testing to assess the negative effects of imidacloprid on soil fauna in natural soils is essential. The objective of this study was to assess the toxic effects and ecological risk of imidacloprid for *Folsomia candida* and *Eisenia andrei* earthworms in three soil types: Tropical Artificial Soil (TAS), Entisol and Oxisol. For this, chronic toxicity assays were performed with both species, according to the guidelines of the ISO 11268-2: 2012 for earthworms and ISO 11267: 1999 for collembolans. Reductions in reproduction of the tested species were observed in all soils when exposed to the a.i. However, for both species, the highest toxicity was observed in Entisol ($EC_{50} = 0.21 \text{ mg kg}^{-1}$ and 0.09 mg kg^{-1} , respectively). In addition, significant exposure risk for these species to this a.i. has been evidenced in all soils tested and, therefore, which warns the need for further investigation. These results indicate that the different soil types can significantly influence the chronic toxicity of imidacloprid, being the highest toxicity observed in Entisol. In addition, we highlighting the need for ecotoxicological assays in natural soils, to achieve more realistic environmental hazard classifications for pesticide formulations used in Brazil.

Keywords: Soil Ecotoxicology; Natural soils; Neonicotinoid; *Eisenia andrei*; *Folsomia candida*.

1. INTRODUÇÃO

O modelo de produção agrícola brasileiro é principalmente baseado no sistema de cultivo convencional, o qual utiliza agrotóxicos para controlar pragas, o que devido a extensão do país e volume agrícola produzido, proporcionou que o país fosse reconhecido como o maior consumidor de agrotóxicos no mundo (PIGNATI, 2017). A agricultura já vem sendo apontada como uma das atividades produtivas responsáveis pela degradação do meio ambiente, devido a utilização de técnicas intensivas de uso do solo em conjunto com a aplicação de insumos químicos (tal como os agrotóxicos) visando a alta produtividade das culturas (CAMPANHOLA, BETTIOL, 2003).

O tratamento químico de sementes com agrotóxicos tem sido utilizado para o controle de pragas na fase inicial de desenvolvimento das plantas cultivadas (DOUGLAS; TOOKER, 2015). Entre as diversas moléculas utilizadas para este fim, destaca-se o imidacloprid, um inseticida neonicotinóide de ação sistêmica altamente eficaz para o controle de insetos alvo (ELBERT et. al., 2008). Apesar de sua eficiência no controle de pragas no início da cultura, alguns estudos demonstraram efeitos negativos deste ingrediente ativo (a.i.) sobre os organismos não-alvo da fauna do solo (OGUNGBEMI, VAN GESTEL, 2018), que desempenham serviços essenciais para o funcionamento dos ecossistemas terrestres (LAVELLE, 2006). Entretanto, em geral, os estudos que demonstram a toxicidade de imidacloprid para a fauna do solo têm sido realizados em condições de temperatura (20°C) e substrato (solo artificial) padronizadas (ALVES et al. 2013, ALVES et al. 2014, MABUBU et al., 2017, ZHANG, ZHANG, WANG, 2014, GE et al., 2018, CAPOWIEZ, BÉRARD, 2006), às quais simulam aquelas de países de clima temperado e, portanto, não representam com fidelidade o perigo desta molécula para os organismos, quanto expostos em solos naturais do Brasil (NIVA et al., 2016, NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017)

Neste sentido, torna-se evidente a necessidade de se avaliar o efeito tóxico desta substância em cenários de exposição mais realistas para o Brasil, por exemplo, sobre condições de temperatura mais elevadas (simulando a temperatura de regiões sob climas tropical/subtropicais) e utilizando solos naturais brasileiros. Uma vez que os valores de toxicidade para as espécies edáficas podem ser diferentes de acordo com o tipo de solo utilizado na avaliação, bem como podem variar de acordo com as variáveis climáticas (CHELINHO et al., 2011, NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017)

Nesse sentido, o objetivo foi avaliar a influência que três diferentes tipos de solo tropicais brasileiros [Solo Artificial Tropical (SAT), Neossolo Quartzarênico e Latossolo Vermelho] podem ter sobre o potencial de toxicidade crônica e o risco do inseticida imidacloprid para colêmbolos *Folsomia candida* e minhocas *Eisenia andrei*, em ambiente laboratorial simulando temperatura atmosférica da região de clima tropical.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados ensaios de toxicidade crônica para avaliar os efeitos sobre a reprodução de colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e minhocas da espécie *Eisenia andrei*. Para isso houve a necessidade de realizar a criação e sincronização dos organismos selecionados para os testes, bem como foram coletados/produzidos os solos para os ensaios de toxicidade.

2.1 Organismos teste

A criação dos organismos foi realizada no Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó (SC), em ambiente com temperatura ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) e luminosidade (fotoperíodo de 12h) controlados, conforme recomendado pelas normas da ISO 11267 (ISO, 1999) e ISO 11268-2 (ISO, 2012).

A criação dos colêmbolos foi realizada em recipientes plásticos contendo uma mistura de gesso, água e carvão ativado na proporção de 10:7:1, respectivamente. Duas vezes por semana, os organismos foram ser alimentados com levedura granulada seca (*Saccharomyces cerevisiae*) e a umidade dos meios de cultivo foi ajustada com algumas gotas de água destilada sobre o alimento. Conforme a ISO 11267 (ISO, 1999). Os testes ecotoxicológicos foram realizados com colêmbolos sincronizados com idade entre 10 e 12 dias.

As minhocas foram criadas em recipientes plásticos com tampas perfuradas (para garantir a aeração do meio), contendo um substrato constituído por uma mistura de esterco de cavalo seco e peneirado, fibra de coco seca, areia fina, na proporção de 2:1:0,1, respectivamente. Para esta mistura, foram adicionados ao substrato 2200 mL de água destilada. Uma vez por semana foi corrigida a umidade do meio e introduzido o alimento constituído por 10g de mingau de aveia em flocos. Para os ensaios ecotoxicológicos, foram utilizadas as

minhocas que possuam clitelo aparente e peso entre 250 a 600 mg, as quais foram aclimatadas no solo teste por pelo menos 24 horas antes do início do ensaio.

2.2 Solos teste

Os bioensaios foram realizados com três tipos de solo, sendo um artificial, produzido em laboratório, e dois naturais coletados em diferentes locais em Santa Catarina.

O Solo Artificial Tropical (SAT) utilizado foi uma adaptação proposta por Garcia (2004) do solo artificial OECD (1984), para utilização em condições de clima tropical. Este solo é composto por areia fina, argila caulínica e pó de fibra de coco na proporção de 75:20:5, respectivamente. Após a mistura e homogeneização o pH do SAT foi corrigido com CaCO_3 para os valores entre 5,5 e 6,5, quando necessário.

Os solos naturais utilizados nos bioensaios foram um Neossolo Quartzarênico (arenoso) coletado no município de Araranguá (SC) e um Latossolo Vermelho (argiloso), coletado no município de Palmitos (SC). As amostras foram coletadas em locais sem histórico de contaminação, na camada superficial de 0 a 20 cm de profundidade, e posteriormente peneiradas (# 2 mm) e desfaunadas através de três ciclos de congelamento e descongelamento ($-10 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$)

As análises dos solos foram realizadas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) de Chapecó (SC), de acordo com a metodologia proposta por Tedesco et al. (1995), e os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Caracterização física e química dos solos SAT, Neossolo e Latossolo antes da contaminação.

Parâmetro	SAT	Neossolo	Latossolo
pH água (1:1)	6,2 ± 0,1	4,5 ± 0,1	5,4 ± 0,0
MO % (m/v)	1,4 ± 0,0	2,2 ± 0,1	3,2 ± 0,6
P (mg dm ⁻³)	23,4 ± 4,8	4,8 ± 1,0	4 ± 1,5
K (mg dm ⁻³)	422,0 ± 48,1	42,0 ± 2,8	222 ± 2
Ca (cmol dm ⁻³)	1,2 ± 0,1	0,6 ± 0,1	8,4 ± 0,3
Mg (cmol dm ⁻³)	1,1 ± 0,3	0,5 ± 0,1	1,75 ± 0,1
Al (cmol dm ⁻³)	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,1
H + Al (cmol dm ⁻³)	1,8 ± 0,4	4,0 ± 1,3	601 ± 58,5
Cu (mg dm ⁻³)	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1	7,95 ± 0,1
Fe (g dm ⁻³)	>5,0	>5,0	>5,0
Mn (mg dm ⁻³)	<2,5	<2,5	>50,0
Zn (mg dm ⁻³)	0,6 ± 0,1	1,1 ± 0,1	18,8 ± 0,4
CTC (cmol dm ⁻³)	3,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	10,8 ± 0,3
Saturação por bases (%)	65,0 ± 6,6	22,2 ± 3,3	64,2 ± 3
Argila (g kg ⁻¹)	143,0 ± 0,0	83,0 ± 0,0	355,0 ± 1
Silte (g kg ⁻¹)	185,0 ± 0,0	<1	330 ± 1,1
Areia (g kg ⁻¹)	672,0 ± 0,0	938,0 ± 4,1	316,5 ± 0,1
CRA (%)	46,3 ± 1,7	31,6 ± 1,1	53 ± 1,4

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

2.3 Substância teste

A substância a ser testada foi o ingrediente ativo (i.a) imidacloprid, em sua formulação comercial para o tratamento de sementes Much 600 FS® (600 g L⁻¹).

As concentrações, expressas em mg de i.a. kg⁻¹ de solo seco, adotadas nos ensaios (Tabela 1) foram determinadas com base em testes preliminares (Alves et al., 2013; Alves et al., 2014; Van Gestel et al., 2017), sendo que concentrações utilizadas para o ensaio realizado com Neossolo com a espécie *E. andrei* foram diferentes das demais, devido a testes preliminares demonstrarem que nas concentrações mais baixas adotadas para os demais teste houve alta

toxicidade. Antes do início dos ensaios, as amostras de solo foram contaminadas por meio de soluções contendo as diferentes concentrações do i.a. ou apenas água destilada (no caso dos tratamentos controle), em seguida, o conteúdo foi homogeneizado em sacos plásticos.

Com base nos cálculos descritos por Alves et al. (2013), as concentrações potencialmente presentes no ambiente (CPA) foram estimadas assumindo uma densidade aparente de 1 g cm^{-3} para o SAT e Latossolo e $1,5 \text{ g cm}^{-3}$ para Neossolo e considerando uma incorporação do inseticida na profundidade de 0 a 5 cm do perfil. Para o cálculo da CPA foi considerada a recomendação comercial do Much 600 FS® para sementes de soja: 200 mL do inseticida para tratar 100 kg de sementes, resultando uma quantia de $120 \text{ g i.a ha}^{-1}$.

Tabela 1. Concentrações de imidacloprid (mg de i.a kg^{-1} de solo seco) previstas no ambiente (CPA) e utilizadas nos testes de toxicidade crônica realizados em SAT, Latossolo e Neossolo, para cada organismo teste (*F. candida* e *E. andrei*)

Solo	CPA (mg kg^{-1})	Organismo	Imidacloprid (mg kg^{-1})
SAT	0,24	<i>F. candida</i>	0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4.
		<i>E. andrei</i>	0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4.
Latossolo	0,24	<i>F. candida</i>	0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4.
		<i>E. andrei</i>	0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4.
Neossolo	0,16	<i>F. candida</i>	0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4.
		<i>E. andrei</i>	0; 0,119; 0,178; 0,267; 0,4; 0,6.

2.4 Teste de toxicidade crônica

Foram realizados testes de reprodução com minhocas (*E. andrei*) e colêmbolos (*F. candida*), nos três tipos de solo, objetos desta análise.

Os ensaios foram realizados em ambiente controlado de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e luminosidade (fotoperíodo de 12h). A umidade do solo foi mantida em valores próximos de 60% da capacidade de retenção de água de cada solo (CRA). Para isto, foi preparada uma solução aquosa com um volume pré-calculado de água contendo o contaminante na concentração desejada. Para os controles, o mesmo volume de água foi utilizado, mas sem a presença do contaminante.

Os ensaios com colêmbolos foram realizados com cinco réplicas, enquanto os ensaios realizados com minhocas foram realizados com quatro réplicas. As unidades experimentais foram abertas semanalmente para permitir trocas gasosas do meio e para a realização da correção da umidade do solo, a partir da diferença de peso.

Os testes de reprodução com *Folsomia candida* foram realizados seguindo as recomendações da norma ISO 11267 (ISO, 1999). Os ensaios foram conduzidos em recipientes de vidro com fechamento hermético, com dimensões de aproximadamente 4 cm de diâmetro e 9 cm de altura, em que foram adicionados 30g de solo contaminado ou solo controle. Em cada unidade experimental foram adicionados 10 organismos com idade sincronizada entre 10 a 12 dias. Os organismos foram alimentados com 2 mg fermento biológico no início do ensaio e após 14 dias de andamento do ensaio. A avaliação final foi realizada depois de 28 dias do início do ensaio, em que o conteúdo de cada réplica foi submerso em água com tinta de caneta, para permitir a flotação e a visualização dos organismos sobreviventes. Após este procedimento, cada réplica em análise foi fotografada por um ângulo superior, permitindo a contagem dos juvenis por meio do software ImageJ (Schneider et al., 2012), conforme descrito em Alves et al. (2014).

Os ensaios com minhocas *Eisenia andrei* foram realizados seguindo a ISO 11268-2 (ISO, 2012). Os ensaios foram conduzidos em recipientes plásticos, com dimensões de 15 cm de diâmetro e 10 cm de altura, e com tampas perfuradas (para permitir as trocas gasosas). Em cada unidade experimental, foram adicionados 600 g de solo úmido (controle ou contaminado). Foram inseridas 10 minhocas adultas em cada recipiente. O alimento, esterco equino úmido (5:5 esterco/água), foi inserido no início do ensaio e a cada sete dias. Após 28 dias do início do teste, as minhocas adultas foram removidas, contabilizadas e pesadas. Durante os 28 dias seguintes, apenas o solo, os casulos e os eventuais juvenis gerados permaneceram nos recipientes. Após 56 dias do início do ensaio, as unidades experimentais foram inseridas em banho maria ($60 \pm 5^\circ\text{C}$) durante uma hora, de modo a estimular que os juvenis se deslocassem

até a superfície, assim permitindo a contagem dos organismos gerados durante o período inicial do teste.

2.5 Análise de dados

A homocedasticidade e a normalidade dos dados dos testes de toxicidade crônica foram verificadas pelos testes de Bartlett e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente, e quando necessário, transformações logarítmicas foram aplicadas para atender as pressuposições. Os resultados dos testes foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando diferenças significativas ($P < 0.05$) foram detectadas, os tratamentos com diferentes concentrações de imidacloprid foram comparados com o tratamento controle por meio do teste de Dunnett, utilizando o software Statistica®. A partir disso, os valores de CENO (maior concentração testada sem efeito observado) e CEO (menor concentração testada com efeito observado) foram determinados. Além disso, as concentrações que causam efeito de redução da reprodução das espécies em 10%, 20% e 50% (CE_{10} , CE_{20} e CE_{50} , respectivamente) foram estimadas através de regressão não-linear, utilizando os modelos propostos por Environment Canada (2007), através do software Statistica.

Além disso, foram calculadas as Concentrações Sem Efeito Tóxico Potencial (CSETP) dividindo a menor CE_{10} obtida para cada solo pelo fator de avaliação de 100 (EC 2003), como descrito em Renaud et al. (2018). Para estimar o risco ecológico do imidacloprid para ambas as espécies da fauna terrestre em solos tropicais, o valor da CPA foi comparado com a CE_{10} e a CSETP, respectivamente, através de duas abordagens diferentes: 1) Razão Toxicidade-Exposição (RTE), obtida dividindo a CE_{10} pela CPA ($RTE=CE_{10}/CPA$) conforme descrito em CE (2002); 2) Quociente de Perigo (QP), obtido através da divisão da CPA pela CSETP ($QP=CPA/CSETP$), de acordo com as diretrizes para a avaliação de riscos de substâncias novas e existentes, propostas pela Comissão Europeia (CE 2003). Considerou-se risco significativo para as espécies testadas quando $QP > 1$ ou $RTE < 5$.

3. RESULTADOS

3.1 Parâmetros físicos e químicos

O Latossolo apresentou os maiores teores de matéria orgânica (MO), argila, silte e capacidade de troca catiônica (CTC), enquanto que o Neossolo apresentou o maior teor de areia, menor percentual de silte, menores percentuais de saturação por bases e CTC. No solo artificial (SAT) foram encontrados os maiores valores de pH e os menores teores de MO.

3.2 Validação dos ensaios ecotoxicológicos

Os critérios de validação para todos os testes de toxicidade crônica, estabelecidos pela ISO 11267 (ISO, 1999) e ISO 11268-2 (ISO, 2012) foram atendidos: foi observado um número médio de juvenis de *F. candida* gerados no tratamento controle de 315 (± 50) para os testes realizados com SAT, 210 (± 47) com Neossolo e 352 (± 80) com Latossolo. Nos ensaios realizados com *E. andrei* o número médio de juvenis gerados foi de 163 (± 36) para os testes realizados com SAT, 215 (± 10) com Neossolo e 106 (± 6) com Latossolo. Em todos os ensaios de toxicidade crônica, o número de adultos no tratamento controle foi superior a 80% e 90% para *F. candida* e *E. andrei*, respectivamente. Além disso, os coeficientes de variação obtidos para todos os ensaios foram menores que 30%.

3.3 Ensaios de toxicidade crônica com *F. candida*

Nos ensaios realizados com Neossolo e Latossolo, o efeito de redução na reprodução dos colêmbolos (Figura 1) teve início em concentrações iguais de imidacloprid ($CEO_{NEO} = 0,25 \text{ mg kg}^{-1}$ e $CEO_{LATO} = 0,25 \text{ mg kg}^{-1}$), sendo que para o SAT este efeito teve início em uma concentração oito vezes maior ($CEO_{SAT} = 2 \text{ mg kg}^{-1}$). Os menores valores de CE_{20} e CE_{50} estimados para os testes realizados foram observados em Neossolo, seguido por Latossolo, e por último em SAT, onde foi identificado a menor toxicidade (Tabela 3).

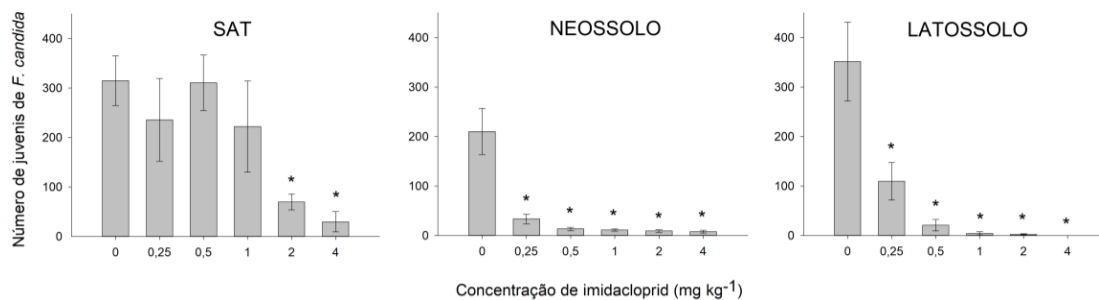


Figura 1. Número médio (\pm desvio padrão, n=5) de colêmbolos *F. candida* juvenis geradas após 28 dias de exposição a diferentes concentrações de imidacloprid em SAT, Neossolo e Latossolo. (*) indica redução significativa de sobreviventes com relação ao controle (teste de Dunnett – $p \leq 0,05$).

Tabela 3. Parâmetros ecotoxicológicos (CENO, CEO, CE₁₀, CE₂₀ e CE₅₀) determinados com base nos ensaios com *F. candida* e *E. andrei*, expostos a cinco concentrações de imidacloprid, em SAT, Neossolo e Latossolo

Organismo	Parâmetro ecotoxicológico	Concentração de imidacloprid (mg kg ⁻¹)		
		SAT	Neossolo	Latossolo
<i>F. candida</i>	CENO	1	<0,25	<0,25
	CEO	2	0,25	0,25
	CE ₅₀	1,46	0,09	0,19
	Limites (95%)	(1,07-1,84)	(0,06-0,11)	(0,13-0,25)
	CE ₂₀	0,96	0,03	0,11
	Limites (95%)	(0,56-1,37)	(0,02-0,04)	(0,04-0,19)
	CE ₁₀	0,76	0,018	0,086
	Limites (95%)	(0,33-1,18)	(0,013-0,023)	(0,0087-0,16)
<i>E. andrei</i>	CENO	1	<0,119	<0,25
	CEO	2	0,119	0,25
	CE ₅₀	1,89	0,21	0,59
	Limites (95%)	(1,36-2,42)	(0,12-0,32)	(0,35-0,83)
	CE ₂₀	0,98	0,057	0,15
	Limites (95%)	(0,48-1,48)	n.d.	(0,04-0,26)
	CE ₁₀	0,66	0,027	0,066
	Limites (95%)	(0,20-1,13)	n.d.	n.d.

n.d. – os dados obtidos não permitiram a determinação dos limites de confiança a 95%

3.4 Ensaios de toxicidade crônica com *E. andrei*

Os ensaios conduzidos em solos naturais, Neossolo e Latossolo, apresentaram efeito de redução na reprodução das minhocas em concentrações menores ($CEO_{NEO} = 0,119 \text{ mg kg}^{-1}$ e $CEO_{LATO} = 0,25 \text{ mg kg}^{-1}$) do que aquelas em que o mesmo efeito foi observado em SAT ($CEO_{SAT} = 2,0 \text{ kg}^{-1}$). Com base nos valores de CE_{50} (Tabela 3), verificou-se que, o efeito na reprodução foi cerca de 9 vezes e 3 vezes maior para Neossolo e Latossolo, respectivamente, em comparação com o SAT. Quando comparados apenas os solos naturais (com base nos valores de CE_{50}), observou-se que, em Neossolo, a toxicidade de imidacloprid teve o dobro de intensidade daquela observada em Latossolo.

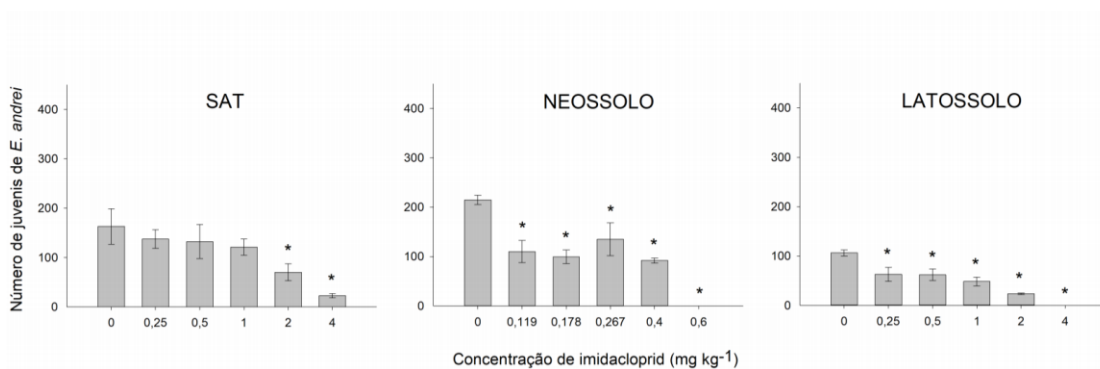


Figura 2. Número médio ($n=5$, \pm desvio padrão) de minhocas *E. andrei* juvenis geradas após 56 dias de exposição a diferentes concentrações de imidacloprid em SAT, Neossolo e Latossolo. (*) indica redução significativa de sobreviventes com relação ao controle (teste de Dunnett – $p \leq 0,05$).

Através da abordagem RTE e QP foi verificado risco ecológico para ambas as espécies em todos os solos testados.

Tabela 4. Risco ecológico para a exposição ao imidacloprid em Solo Artificial Tropical (SAT), Neossolo e Latossolo, estimado a partir da Razão Toxicidade-Exposição (RTE) e o Quociente de Perigo (QP).

Solo	Espécies testadas	CSTR ^a (mg kg ⁻¹)	RTE ^b	QP ^c
SAT	<i>F. candida</i>	0,0066	3,17 ^d	36,36 ^e
	<i>E. andrei</i>		2,75 ^d	
Neossolo	<i>F. candida</i>	0,00018	0,11 ^d	889,89 ^e
	<i>E. andrei</i>		0,17 ^d	
Latossolo	<i>F. candida</i>	0,00066	0,36 ^d	363,64 ^e
	<i>E. andrei</i>		0,28 ^d	

^a CSTR = menor CE10 / 100

^b RTE = CE10 / CPA

^c QP = CPA / CSTR

^d RTE < 5, indica um significativo risco para as espécies testadas

^e QP > 1, indica significativo risco e a necessidade de investigações futuras

4. DISCUSSÃO

O maior número de juvenis de *F. candida* produzido no controle do ensaio realizado com o Latossolo, pode estar relacionado aos maiores teores de matéria orgânica e CRA deste solo (Tabela 2). Os colêmbolos, em geral, preferem solos com maior material orgânico, devido a se alimentarem de fungos e leveduras que se desenvolvem no processo de decomposição da matéria orgânica (BROWN et al., 2009; OLIVEIRA FILHO, BARETTA, 2016). Além disso, as comunidades da fauna do solo são sensíveis a acidez (LAVELLE, CHAUVEL, FRAGOSO, 1995), e o Latossolo apresentou um pH maior do que ao comparado com o Neossolo.

Por outro lado, o maior número de juvenis de *E. andrei* produzidos no controle do ensaio realizado com Neossolo, possivelmente está ligado ao seu maior teor de areia, que conseqüentemente, favorece a criação de maior número de macroporos no solo e facilita o desenvolvimento das minhocas (STEFFEN et al., 2013). Podemos considerar, que a espécie *F.*

candida se adaptou melhor ao Latossolo, enquanto que a espécie *E. andrei* ao Neossolo, devido às suas maiores taxas de reprodução nestes solos.

Embora neste estudo tenha sido verificada uma diferença no potencial reprodutivo das espécies nos diferentes solos, outros autores não identificaram grandes variações para estas espécies para os mesmos tipos de solo. O desenvolvimento reprodutivo nos tratamentos controle dos ensaios realizados com a espécie *F. candida* encontrado por Zortéa et al. (2018) para Latossolo e Neossolo, variou entre 120-160 juvenis e entre 130-160 juvenis, respectivamente. Maccari (2014), encontrou um desenvolvimento reprodutivo para a espécie *F. candida* e *E. andrei* para ambos os solos de aproximadamente 200 e 60 juvenis, respectivamente.

Segundo Alves et al. (2014), observaram que o imidacloprid causou mortalidade e redução na reprodução sobre a espécie de colêmbolos *F. candida* em SAT, com valores de CL₅₀ (concentração letal para 50% dos organismos) e CE₂₀ de 20,96 mg kg⁻¹ e 0,01 mg kg⁻¹, respectivamente. De acordo com os autores, esta molécula se mostrou mais tóxica do que outros inseticidas (Fiponil e Thiametoxam) e fungicidas (Captan e Carboxin + Thiram) estudados. Já os autores Mabubu et al. (2017), observaram que o imidacloprid foi mais tóxico que o thiacloprid, causando mortalidade e redução na reprodução sobre a espécie de colêmbolos *F. candida* em SAT, com valores de CL₅₀ de 0,84 mg kg⁻¹ e CE₅₀ de 0,82 mg kg⁻¹. No presente estudo, os valores de CE₂₀ e CE₅₀ para SAT foram superiores aos reportados na literatura citada (0,96 mg kg⁻¹ e 1,46 mg kg⁻¹, respectivamente), contudo, quando estes são comparados aos valores encontrados para os demais solos avaliados no estudo, verifica-se que o valor do CE₂₀ foi reduzido em aproximadamente oito vezes para Latossolo, e 32 vezes para Neossolo, e o valor de CE₅₀ foi reduzido em aproximadamente oito vezes para Latossolo e 16 vezes para Neossolo (Tabela 3), indicado um grande aumento da toxicidade nos solos naturais.

Além disso, de acordo com Zhang, Zhang e Wang (2014), o imidacloprid pode ser tóxico para a espécie de minhoca *E. fetida* a nível bioquímico, o qual é mais sensível com o aumento da sensibilidade com o aumento do tempo de exposição ao inseticida. Já Ge et al. (2018) estimaram que este ingrediente ativo pode reduzir pela metade (CE₅₀) a reprodução de minhocas da espécie *E. fetida* expostas a 0,7 mg kg⁻¹ ao imidacloprid em SAT. Alves et al. (2013) também observaram alta toxicidade de formulações comerciais para o tratamento de sementes com imidacloprid sobre a espécie de minhocas *E. andrei* em SAT, obtendo um CE₅₀ de 4,07 mg kg⁻¹ indicando que, mesmo nas concentrações recomendadas para o manejo de pragas (0,23 mg kg⁻¹), a substância poderia causar dano significativo às populações no solo. No

presente estudo, o valor de CE_{50} para SAT foi $1,89 \text{ mg kg}^{-1}$, inferior a literatura citada, entretanto, comparando com os valores encontrados para os demais solos avaliados no estudo, verifica-se que o CE_{50} foi mais reduzido em (aproximadamente três vezes) Latossolo e (nove vezes) em Neossolo, reforçando o aumento da toxicidade nos solos naturais.

O imidacloprid e os demais inseticidas neonicotinóides, imitam a acetilcolina, um neurotransmissor excitatório, e competem pelos seus receptores. Entretanto o imidacloprid não é degradado pela acetilcolinesterase, enzima responsável pela interrupção do impulso da acetilcolina, e assim a ativação dos receptores de acetilcolina é prolongada, gerando uma grande excitação do sistema nervoso central devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos (TOMIZAWA; CASIDA, 2003; SIMON-DELSO, 2015). Os efeitos de concentrações sub-letais de inseticidas nos insetos podem se manifestar através da redução da oviposição, aumento do período de desenvolvimento de estágios iniciais ou a diminuição da expectativa de vida, além disso a influência sobre a reprodução pode estar ligada a alterações comportamentais, principalmente durante o estágio reprodutivo (HAYNES, 1998)

Com base nos resultados do presente estudo, é possível perceber que a toxicidade do i.a foi alterada nos diferentes tipos de solo, sendo que os valores de CE_{50} para os ensaios em Neossolo ($0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,21 \text{ mg kg}^{-1}$, para *F. candida* e *E. andrei*, respectivamente) foram menores em comparação com os valores obtidos para os ensaios com SAT e Latossolo (Tabela 3), indicando que em Neossolo o imidacloprid é mais tóxico a estas espécies. Embora não tenham sido encontrados dados de avaliações ecotoxicológicas terrestres de imidacloprid em solos naturais das regiões tropicais e subtropicais, os autores Zortéa et al. (2018) verificaram que também houve maior toxicidade do inseticida fipronil em solos naturais brasileiros, em comparação aos testes realizados em SAT e atribuíram as diferenças às propriedades dos solos.

Neste estudo, a diferença de toxicidade observada entre os solos também deve estar relacionada às propriedades dos solos. O fato de o Neossolo ser o solo com menor teor de argila, silte e CTC entre os solos testados provavelmente deve ter resultado numa maior biodisponibilidade do imidacloprid para as espécies. É amplamente aceito que a CTC, pH, teor de argila e teor de matéria orgânica são os parâmetros do solo que mais influenciam na toxicidade de poluentes (VAN GESTEL, RADEMAKER, VAN STRAALLEN, 1995; LOCK, JANSSEN, DE COEN, 2000; BODY, WILLIAMS, 2003; SIMINI et al. 2004; FILSER, WIEGMANN, SCHRÖDER, 2014).

O pH influencia na mobilidade de moléculas no solo, sendo que a adsorção do imidacloprid nos solos tende a diminuir com o aumento do pH, indicando que pode haver menor

biodisponibilidade em solos com baixo pH (PING et al., 2010, SHENG et al., 2005). Entretanto, no caso do presente estudo, a biodisponibilidade do imidacloprid parece ter sido modulada principalmente pelo teor de silte e argila, uma vez que os valores de toxicidade (Tabela 3) encontrados em solos naturais com pH semelhante (3,9 vs. 4,2), mas com texturas claramente diferentes (Tabela 1), variou por praticamente uma ordem de magnitude.

Além das mudanças no potencial tóxico (perigo) da molécula nos diferentes tipos de solo, verificou-se que o valor de CE₂₀ (Tabela 3) obtido para o ensaio com colêmbolos em SAT foi superior às concentrações potencialmente presentes no ambiente (CPA) apresentadas para este solo. Entretanto, os valores de CE₂₀ obtidos para Latossolo e Neossolo, foram menores do que as suas respectivas CPA (CPA_{NEOSSOLO}= 0,16 mg kg⁻¹, CPA_{LATOSSOLO}= 0,24 mg kg⁻¹). Esses resultados indicam que pode existir um maior risco a exposição ao imidacloprid em solos naturais do que em solo artificial, o que evidencia a necessidade do uso de solos naturais nas avaliações de toxicidade exigidas para a liberação comercial deste tipo de moléculas.

A partir dos resultados de RTE e QP (Tabela 4) obtidos através da metodologia proposta pela Comissão Europeia (EC (2002); EC (2003)), foi evidenciado que, para as espécies *E. andrei* e *F. candida* expostas ao imidacloprid em todos os solos testados, existe um significativo risco e a necessidade de investigações futuras. Resultados similares foram observados por Carniel et al. (2019) ao avaliar o risco de uma formulação comercial contendo o fungicida mancozeb. Os autores verificaram que os valores de risco da formulação para *F. candida* e *E. andrei* também diferiram entre dois diferentes solos tropicais, reforçando a hipótese de que a avaliação de risco ecológico dos pesticidas deveria considerar os atributos dos solos em que eles podem ser aplicados.

5. CONCLUSÃO

Os ensaios ecotoxicológicos realizados indicaram que o tipo de solo influencia significativamente no potencial tóxico do imidacloprid para *F. candida* e *E. andrei*. Houve diferença significativa dos efeitos tóxicos sobre a reprodução entre os solos, evidenciando que o imidacloprid foi mais tóxico para os organismos em Neossolo, do que em Latossolo ou SAT, devido às distintas propriedades dos solos que podem ter influenciado na disponibilidade do ingrediente ativo.

O presente estudo evidenciou também a existência de significativos riscos as espécies testadas, revelando a necessidade de investigações futuras sobre a toxicidade de imidacloprid em diferentes solos, para obter classificações de periculosidade ambiental mais realistas para as formulações de agrotóxicos utilizados no Brasil.

REFERÊNCIAS

ALVES, P. R. L., et al. Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 105, p. 65-71, 2014.

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

BODY, W. A., WILLIAMS, P. L. Availability of metals to the nematode *Caenorhabditis elegans*: toxicity based on total concentrations in soil and extracted fractions. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 22, n. 5, p. 1100-1106, 2003.

BROWN, G. G., et al. A importância da meso e macrofauna do solo na fertilidade e como bioindicadores. **Embrapa Florestas – Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2009.

CAPOWIEZ, Y., BÉRARD, A. Assessment of the effects of imidacloprid on the behavior of two earthworm species (*Aporrectodea nocturna* and *Allolobophora icterica*) using 2D terraria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, n. 2, p. 198-206, 2006.

CARNIEL, L. S. C., et al. The fungicide mancozeb affects soil invertebrates in two subtropical Brazilian soils. **Chemosphere**, v. 232, p 180-185, 2019.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2003.

CHELINHO, S., et al. Improving Ecological Risk Assessment in the Mediterranean Area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two Oligochaeta species. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 30, p. 1050-1058, 2011.

DOUGLAS, M. R., TOOKER, J. F. Large-Scale deployment of seed treatments has driven rapid increase in use of neonicotinoid insecticides and preemptive pest management in U.S. field crops. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 8, p. 5088-5097, 2015.

ELBERT, A. et al. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**. v. 64, n. 11, p. 1099-1105, 2008.

ENVIRONMENT CANADA. Guidance Document on Statistical Methods for Environmental Toxicity Tests. Environmental Technology Centre, Canada, 2007.

EC (EUROPEAN COMMISSION). Working Document - Guidance Documento in Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC. 2002.

EC (EUROPEAN COMMISSION). Technical Guidance Documento n Risk Assessment – Part II. 2003

FILSER, J., WIEGMANN, S., SCHRÖDER, B. Collembola in ecotoxicology – Any News or just boring routine?. **Applied Soil Ecology**, v. 83, p 193-199, 2014.

GARCIA, M.V.B. **Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions.** Cuvillier Verlag, 2004.

GE, J. et al. Sub-lethal effects of six neonicotinoids on avoidance behavior and reproduction of earthworms (*Eisenia fetida*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 162, p. 423-429, 2018.

HAYNES, K. F. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. **Annual review of entomology**, v. 33, n. 1, p. 149-168, 1988.

SCHNEIDER, C. A., RASBAND, W.S., ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, vol. 9, p. 671-675, 2012.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). 11267: **Soil Quality - Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants**, International Organization for Standardization, 1999.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). 11268-2: **Soil quality - Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) - Part 2: Determination of effects on reproduction by soil pollutants**. International Organization for Standardization, 2012

LAVELLE, P., et al. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**. v. 42, 2006.

LAVELLE, P., CHAUVEL, A., FRAGOSO, C. Faunal activity in acid soils. In: **Plant-Soil Interactions at Low pH: Principles and Management**. Springer, Dordrecht, p. 201-211, 1995.

LOCK, K., JANSSEN, C. R., DE COEN, W. M. Multivariate test designs to assess the influence of zinc and cádmium bioavailability in soils on the toxicity to *Enchytraeus albidus*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 19, n. 11, p. 2666-2671, 2000.

MACCARI, A. P. Avaliação ambiental do uso de dejetos de suínos por meio de ensaios ecotoxicológicos em solos do estado de Santa Catarina. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014.

MABUBU, J. I. et al. Ecotoxicity of the Neonicotinoid Insecticides Imidacloprid and Thiacloprid to the Soil-Dwelling Arthropod *Folsomia candida* (Collembola). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 90, n. 4, p. 323-334, 2017.

NIVA, C. C., et al. Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 11, p. 11363–11378, 2016.

NIEMEYER, J. C.; CHELINHO, S.; SOUSA, J. P. Soil ecotoxicology in Latin America: Current research and perspectives. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 7, p. 1795–1810, 2017.

OECD. Guideline for Testing of Chemicals No. 207: Earthworm Acute Toxicity Test. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris, 1984.

OGUNGBEMI, A. O., VAN GESTEL, C. A. Extrapolation of imidacloprid toxicity between soil by exposing *Folsomia candida* in soil pore water. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 8, p. 1107-1115, 2018.

OLIVEIRA FILHO, L.C. J., BARETTA, D. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos? **Scientia agraria**, v. 17, n. 2, p. 21-40, 2016.

PIGNATI, W. A, et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3281-3293, 2017.

PING, L. et al. Imidacloprid adsorption by soils treated with humic substances under different pH and temperature conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 1935-1940, 2010.

RENAUD, M., et al. Effects of the neonicotinoids acetamiprid and thiacloprid in their commercial formulation on soil fauna. **Chemosphere**, v. 194, p. 85-93, 2018.

SHENG, G. et al. Influence of pH on pesticide sorption by soil containing wheat residue-derived char. **Environmental Pollution**, v. 134, p. 457-463, 2005.

SIMINI, M., et al. **Assessing TNT toxicity in soils with contrasting characteristics using soil invertebrate toxicity tests**. Edgewood Chemical Biological Center Aberdeen Proving Ground Md, 2004.

SIMON-DELISO et al. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n.1, p. 5-34, 2015.

STEFFEN, G. P. K. et al. Importância ecológica e ambiental das minhocas. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 36, n. 2, p. 137-147, 2013.

TEDESCO, M. J., et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Ufrgs, 1995.

TOMIZAWA, M., CASIDA, J. E. Selective Toxicity of neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 339-364, 2003.

VAN GESTEL, C.A.M., et al. Multigeneration Toxicity of Imidacloprid and Thiacloprid to *Folsomia candida*. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 3, p. 320-328, 2017.

VAN GESTEL, C. A. M., RADEMAKER, M. C. J.; VAN STRAALLEN, N. M. Capacity controlling parameters and their impact on metal toxicity in soil invertebrates. In: **Biogeochemistry of pollutants in soils and sediments**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1995.

ZHANG, Q., ZHANG, B., WANG, C. Ecotoxicological effects on the earthworm *Eisenia fetida* following exposure to soil contaminated with imidacloprid. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 21, p. 12345-12353, 2014.

ZORTÉA, T. et al. Ecotoxicological effect of fipronil and its metabolites on *Folsomia candida* in tropical soils. **Environmetal Toxicology and Pharmacology**, v. 62, p. 203-209, 2018.