

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA
CAMPUS CHAPECÓ

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**EFEITO ECOTOXICOLÓGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS SOBRE
COLÊMBOLOS *Folsomia candida***

JULIANE BRANCALIONE

ORIENTADORES

Prof. Dr. Marlon Luiz Neves Da Silva

Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves

Abril - 2022

JULIANE BRANCALIONE


**“EFEITO ECOTOXICOLÓGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
PLANTAS SOBRE COLÊMBOLOS *Folsomia candida*”**

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.

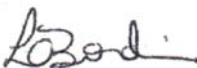
Orientador: **Prof. Marlon Luiz Neves da Silva**

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e
aprovado pela banca em: 07/04/2022


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 MARLON LUIZ NEVES DA SILVA
Data: 12/04/2022 13:47:40-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

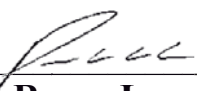
Prof. Dr. Marlon Luiz Neves da Silva– UFFS



Prof. Dr. Leandro Bordin - UFFS

Documento assinado digitalmente
 ANDRE LUIZ RADUNZ
Data: 08/04/2022 14:37:23-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. André Luiz Radunz – UFFS



Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves - UFFS

EFEITO ECOTOXICOLÓGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS SOBRE COLÊMBOLOS *Folsomia candida*

Juliane Brancalione¹, Marlon Luiz Neves da Silva², Paulo Roger Lopes Alves²

RESUMO

Para suprir a demanda mundial de alimentos, o emprego de pesticidas na agricultura vem sendo cada vez mais utilizado. Entretanto, a aplicação de agrotóxicos pode trazer prejuízos aos ecossistemas. Nesse sentido, alguns estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de se buscar alternativas ao uso dos pesticidas sintéticos como, por exemplo, o uso dos óleos essenciais de origem vegetal. Existem estudos com algumas espécies do gênero *Eucalyptus* analisando a toxicidade em organismos não-alvo do solo, entretanto, para as espécies estudadas aqui, ainda não existem informações. Dessa forma, este estudo avaliou o potencial tóxico de sete óleos essenciais de diferentes espécies de *Eucalyptus* para colêmbolos da espécie *F. candida* em Solo Artificial Tropical (SAT). Realizaram-se ensaios de toxicidade crônica sob a temperatura de 20 ± 2 °C com concentrações crescentes de cada óleo (3,125; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg kg⁻¹). Verificou-se que quatro dos sete óleos não apresentaram toxicidade (*E. saligna*, *E. grandis*, *E. benthamii* e *E. grancam*) significativa e três apresentaram toxicidade (*E. urograndis*, *E. dunnii* e *E. urocam*) significativa. A concentração que causa redução em 50% da reprodução dos organismos em relação ao controle (CE₅₀) foi estimada para os três óleos que apresentaram toxicidade, sendo 35,4, 41,8 e 42,6 mg kg⁻¹ para o *E. urocam*, *E. dunnii* e *E. urograndis* respectivamente. Os resultados mostraram que há diferença de toxicidade entre diferentes espécies do gênero *Eucalyptus*, evidenciando a necessidade de maiores análises acerca dos diferentes tipos de óleos essenciais que possam vir a ser utilizados como biopesticidas, em especial os óleos do gênero *Eucalyptus*, visto que há pouca informação a respeito. Além disso, a utilização de óleos essenciais para este fim deve ser feita com atenção, pois podem ser nocivos às espécies não-alvo do solo.

Palavras-chave: Ecotoxicologia terrestre. Fauna do solo. Biopesticidas. *Eucalyptus*.

ABSTRACT

To meet the world demand for food, the use of pesticides in agriculture has been increasingly used. However, the application of pesticides can harm ecosystems. In this sense, some studies have been developed to seek alternatives to the use of synthetic pesticides, such as the use of essential oils of plant origin. There are studies with some species of the genus *Eucalyptus* analyzing toxicity in non-target organisms in the soil, however, for the species studied here, there is still no available data. This study evaluated the toxic potential of seven essential oils from different species of *Eucalyptus* to springtails of the species *F. candida* in Tropical Artificial Soil (SAT). Chronic toxicity tests were carried out at a temperature of 20 ± 2 °C with increasing concentrations of each oil (3.125; 6.25; 12.5; 25 and 50 mg kg⁻¹). It was found that four of the seven oils did not show significant toxicity (*E. saligna*, *E. grandis*, *E. benthamii* and *E. grancam*) and three

¹ Discente do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, SC, Brasil.

² Docentes orientadores do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, SC, Brasil.

showed significant toxicity (*E. urograndis*, *E. dunnii* and *E. urocam*). The concentration that causes a 50% reduction in the reproduction of organisms in relation to the control (EC50) was estimated for the three oils that showed toxicity, being 35.4, 41.8 and 42.8 mg kg⁻¹ for *E. urocam*, *E. dunnii* and *E. urograndis* respectively. The results showed that there is a difference in toxicity between different species of the genus *Eucalyptus*, highlighting the need for further analysis of the different types of essential oils that can be used as biopesticides, especially oils of the *Eucalyptus* genus since there is few information available. respect. In addition, the use of essential oils for this purpose must be done with care, as they can be harmful to non-target species in the soil.

Keywords: Terrestrial ecotoxicology. Soil fauna. Biopesticides. *Eucalyptus*.

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da população mundial e a demanda de alimentos, tornou-se necessário o emprego de agrotóxicos na agricultura para o controle de pragas agrícolas, de modo a aumentar a produtividade. Entretanto, o uso progressivo de agrotóxicos sintéticos causa danos ambientais comprovados, afetando a qualidade dos solos e da água, além do impacto negativo na fauna edáfica, causando diversos prejuízos nos ecossistemas (PINO-OTÍN et al., 2019).

Dentre os inúmeros agrotóxicos registrados, já tem sido verificado que inseticidas aplicados diretamente no solo podem causar morte de insetos não-alvo, além de toxicidade para organismos edáficos como colêmbolos e minhocas (BONMATIN et al., 2015; FURLAN et al., 2018; BANDEIRA et al., 2019; RITCHIE et al., 2019).

Nas últimas décadas, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de identificar substâncias que possuam capacidade de utilização na agricultura, como herbicidas naturais, reduzindo assim a utilização de defensivos químicos e minimizando os danos ao meio ambiente (GOLDFARB et al., 2009). Uma alternativa para substituir os pesticidas sintéticos e mitigar os impactos negativos no ambiente, é a substituição por biopesticidas. Tais biopesticidas, são derivados de materiais naturais como animais, plantas, bactérias e certos minerais, sendo classificados em três categorias principais: pesticidas bioquímicos, pesticidas microbianos e protetores incorporados às plantas (PIPs) (Environmental Protection Agency - EPA, 2021). Os pesticidas bioquímicos incluem extratos de plantas.

Os óleos essenciais (OE) podem ser extraídos de plantas com potencial para utilização como biopesticidas. São substâncias voláteis lipofílicas, odoríferas e líquidas que possuem aparência oleosa em temperatura ambiente, possuem grande complexidade

de hidrocarbonetos e compostos oxigenados, sendo que suas propriedades biológicas são determinadas pela sinergia de seus componentes (KOUL et al., 2008). Os constituintes presentes no OE, bem como as quantidades, são determinados pelo genótipo da planta e sofrem mudanças de acordo com as variações sazonais, ritmos circadianos (APARECIDA, MORAIS, 2009), rota metabólica e idade da planta, fatores ambientais, origem geográfica, secagem do material vegetal, horário de coleta e outros (BAKKALI et al., 2008).

Nos últimos cinco anos, as pesquisas envolvendo óleos naturais cresceram significativamente (FIERASCU et al., 2019). Em razão da sua origem natural (ex. plantas), a utilização de OE para controle de pragas tem sido considerada mais segura para os ecossistemas do que o uso de agrotóxicos sintéticos. Apesar de seu uso ser considerado menos prejudicial, quando comparado com agrotóxicos sintéticos, alguns estudos ecotoxicológicos já demonstraram que óleos essenciais também podem ser tóxicos em espécies não-alvo do solo (DALLA ROSA et al., 2017).

Desse modo, torna-se imprescindível a realização de testes ecotoxicológicos com óleos essenciais, de maneira a conhecer sua toxicidade em espécies não-alvo do solo e definir normativas adequadas à sua utilização. Por outro lado, há uma vasta gama de espécies de plantas que podem ser utilizadas para a extração dos óleos e, cada qual possui sua particularidade. Desse modo, torna-se necessário estudar cada óleo essencial isoladamente.

Através de ensaios ecotoxicológicos é possível entender as interações entre substâncias químicas tóxicas e os organismos do solo. Assim, pode-se entender os efeitos de substâncias nos ecossistemas, além dos processos de exposição dos organismos ao contaminante, sendo possível entender o modo de ação de diferentes moléculas (VAN GESTEL, 2012).

Assim, para avaliar o efeito de substâncias químicas sobre o ecossistema terrestre, espécies bioindicadoras, tal como é o caso dos colêmbolos da espécie *Folsomia candida*, vêm sendo amplamente utilizadas em estudos ecotoxicológicos. Apesar desta espécie não ser obrigatória nos testes de toxicidade para avaliação dos agrotóxicos no Brasil, segundo a portaria normativa nº 84, de 15 de outubro de 1996, do IBAMA, com base no decreto nº 98.816/90, ela tem sido recomendada por agências ambientais de outros países, como a European Food Safety Authority – EFSA (EFSA Journal, 2017), por se tratar de uma espécie edáfica com alta sensibilidade aos contaminantes e fácil manutenção em

laboratório (ALVES; CARDOSO, 2016).

Desse modo, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial tóxico de óleos essenciais de diferentes espécies de eucalipto para colêmbolos em solo padrão, determinando a CENO (maior concentração testada sem efeito observado), CEO (menor concentração testada com efeito observado), CE₅₀ e CE₁₀ (concentração que causa redução de 50% e 10%, no número de juvenis, respectivamente) para a exposição de *F. candida* no solo testado para cada espécie de eucalipto. Além disso, avaliar qual espécie de eucalipto dentre as testadas causa maior toxicidade e quais os efeitos dos óleos sobre a reprodução de colêmbolos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados no Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da UFFS, *Campus* Chapecó (SC). Neste trabalho foram realizados sete ensaios de toxicidade crônica com colêmbolos da espécie *F. candida*, a fim de avaliar os efeitos tóxicos de óleos essenciais de sete espécies de plantas do gênero *Eucalyptus*, em um Solo Artificial Tropical (SAT).

2.1 Caracterização dos Óleos

Os óleos essenciais das plantas de eucalipto foram produzidos pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, conforme descrito em Gallon et al. (2020). Foram coletadas folhas de plantas adultas de sete 'variedades', sendo quatro espécies (*Eucalyptus benthamii* Maiden e Cambage, *Eucalyptus dunnii* Donzela, *Eucalyptus saligna* Smith, *Eucalyptus grandis* Hill e Maiden) e três híbridos (*Eucalyptus urograndis* (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* ST Blake), *Eucalyptus grancam* (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh), *Eucalyptus urocam* (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus camaldulensis*)). A extração dos óleos ocorreu por hidrodestilação e, posteriormente, as amostras de óleo essencial foram analisadas por cromatografia gasosa e os resultados dos principais compostos identificados encontram-se na Tabela 1 (GALLON et al., 2020).

Tabela 1. Principais compostos identificados com a porcentagem relativa da área total no cromatograma dos óleos essenciais de sete variedades de eucalipto (espécies e híbridos).

Compound	<i>E. benthamii</i>	<i>E. dunnii</i>	Grancam	<i>E. grandis</i>	<i>E. saligna</i>	Urocam	Urograndis
<i>α-Pinene</i>	56.89	8.57	24.49	17.04	25.06	5.03	10.24
<i>Globulol</i>	10.36	6.13	-	-	3.62	-	3.64
<i>Ledol</i>	2.96	0.54	-	-	-	-	-
<i>D-limonene</i>	2.38	3.33	12.12	2.16	4.66	7.95	2.91
<i>α-Gurjunene</i>	-	-	1.07	-	-	-	15.43
<i>1,8-Cineol (eucalyptol)</i>	-	25.52	35.19	6.9	29.58	70.33	26.4
<i>ZZZ-1,4,6,9-Nonadecatetraene</i>	-	24.62	-	-	-	-	-
<i>(-)-Aromadendrene</i>	-	7.7	-	-	-	-	-
<i>α-Terpin acetate</i>	-	6.72	-	-	-	9.99	7.48
<i>Terpineol</i>	-	3.24	7.42	8.61	9.98	4.53	4.84
<i>(-)-β-Pinene</i>	-	0.63	3.67	-	-	-	-
<i>o-Cymene</i>	-	-	1.07	15.61	3.78	-	15.43
<i>3-Dodecylfuran-2,5-dione</i>	-	-	-	4.93	-	-	-
<i>Camphol</i>	-	-	2.6	-	5.61	-	1.64
<i>γ-Terpinene</i>	-	-	-	-	-	-	6.63
<i>Total</i>	72.59	87.00	87.63	55.25	82.29	97.83	94.64

Fonte: GALLON et al., 2020.

2.2 Solo-Teste

O SAT foi preparado em laboratório, sendo uma adaptação do solo artificial OECD n° 207, proposta por Garcia (2004), composto por 75% de areia fina, 20% de argila caulinitica e 5% de fibra de coco. O pH do SAT foi ajustado com CaCO₃ para uma faixa entre 5,5 a 6,5.

2.3 Organismos-Teste

Para a realização dos ensaios, manteve-se uma criação dos organismos-teste em laboratório. Os procedimentos para a criação, assim como aqueles dos ensaios ecotoxicológicos, seguiram as recomendações descritas na norma ISO 11267 (ISO, 2014). A criação dos colêmbolos da espécie *F. candida* foi realizada 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), mantidos em uma sala com temperatura de 20 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12:12 h. Os colêmbolos foram alimentados semanalmente com fermento biológico (levedura *Saccharomyces cerevisiae*). A indução da reprodução dos colêmbolos e coleta de ovos foram realizadas semanalmente com o objetivo de obter organismos com idade sincronizada entre 10 e 12 dias.

2.4 Ensaios Ecotoxicológicos

Para avaliar os efeitos de toxicidade dos OE na reprodução de *F. candida*, foram realizados ensaios de toxicidade crônica com delineamento inteiramente casualizado. Cada OE utilizado foi diluído em solvente dimetilsulfóxido (DMSO), na proporção de 1:11 (óleo: solvente), de maneira a proporcionar maior solubilidade dos óleos para a contaminação do solo. Em seguida, o solo utilizado para teste recebeu cinco concentrações crescentes de cada óleo essencial (3,125; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 mg kg⁻¹), e dois tratamentos controle (somente água destilada e outro com água destilada e solvente). Para contaminar o SAT com as concentrações dos OE, adicionou-se água destilada contaminada com as concentrações, cujo volume utilizado foi controlado para atingir 60% da Capacidade de Retenção de Água (CRA) do solo.

As unidades experimentais foram constituídas por um recipiente cilíndrico de vidro (aproximadamente 4 cm de diâmetro e 7 cm de altura), onde foram introduzidos 30 g de solo úmido (contaminado com as concentrações dos OE ou solos controles), 10 colêmbolos com idade sincronizada entre 10 a 12 dias. Os colêmbolos foram alimentados com aproximadamente 2 mg de levedura *S. cerevisiae* no início e após 14 dias do início dos ensaios. Em seguida, os recipientes foram fechados com tampas de pressão e mantidos em ambiente com temperatura e luminosidade controladas (nas mesmas condições de criação dos organismos-teste). Semanalmente, os recipientes foram abertos para permitir trocas gasosas e reposição da umidade do solo, conforme recomendações da ISO 11267 (ISO, 2012).

A avaliação dos ensaios foi feita após 28 dias decorridos, onde transferiu-se o conteúdo presente em cada réplica para um recipiente plástico, 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 foram fotografados 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).

As análises estatísticas foram realizadas no software Statistica 13.0®. homocedasticidade e a normalidade dos dados foram testadas pelos métodos de Bartlett e Shapiro Wilk, respectivamente, para verificar se o conjunto de dados atendem às pressuposições para a análise de variância (ANOVA). Atendidas as pressuposições, os dados do número de organismos sobreviventes foram então submetidos à ANOVA. Quando diferenças significativas foram observadas, as diferenças entre o controle e as concentrações testadas foram comparadas pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). A CEO (menor concentração testada com efeito observado) e a CENO (maior concentração testada sem efeito observado) foram determinadas com base nos resultados do teste de Dunnett. Por fim, os valores de CE₅₀ e CE₁₀ (concentração de efeito em 50% e 10% da população, respectivamente) foram estimados através de modelos de regressão não lineares (ENVIRONMENTAL CANADA, 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

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 no controle foi maior que 100 indivíduos. Os valores do pH do solo foram similares no início e no final dos ensaios, decorridos 28 dias. Os valores da umidade do SAT não se alteraram e, permaneceram próximos ao padrão recomendado (entre 50-60% da CRA), estabelecido pela norma (ISO, 2014), conforme 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.

Parâmetros	<i>E. urograndis</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. saligna</i>	<i>E. urocam</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. Benthamii</i>	<i>E. grancam</i>
pH inicial	5,82	5,85	5,93	5,92	5,55	5,57	5,57
pH final	5,25	5,19	5,56	5,49	5,31	5,35	5,33
umidade inicial	26,8	26,8	27,43	27,9	27,7	27,0	27,4
umidade final	27,4	27,0	27,7	27,9	29,8	28,4	28,8

Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

Nos ensaios de toxicidade crônica de *F. candida*, houve reduções significativas na reprodução para três dos sete óleos testados, quatro óleos não apresentaram reduções significativas na reprodução.

Os valores estimados da CE₅₀ e CE₁₀ (Tabela 3), foram menores na presença do óleo *E. urocam*, seguido por *E. dunnii* e *E. urograndis*, indicando que *E. urocam* foi o mais tóxico para os colêmbolos. Os demais óleos foram considerados não tóxicos para *F. candida* até a concentração de 50 mg kg⁻¹.

Para os óleos *E. saligna*, *E. grandis*, *E. benthamii* e *E. grancam* não houve diferença significativa no número de juvenis gerados na presença dos tratamentos, comparado àqueles gerados no controle e, portanto, os valores de CE₅₀ e CE₁₀ não foram estimados.

Para o óleo essencial de *E. urocam*, houve diferença significativa em relação ao controle na quinta concentração testada (CEO = 50 mg kg⁻¹). Porém, neste caso, o controle com solvente não causou redução do número de juvenis, conforme apresentado na Figura 1.

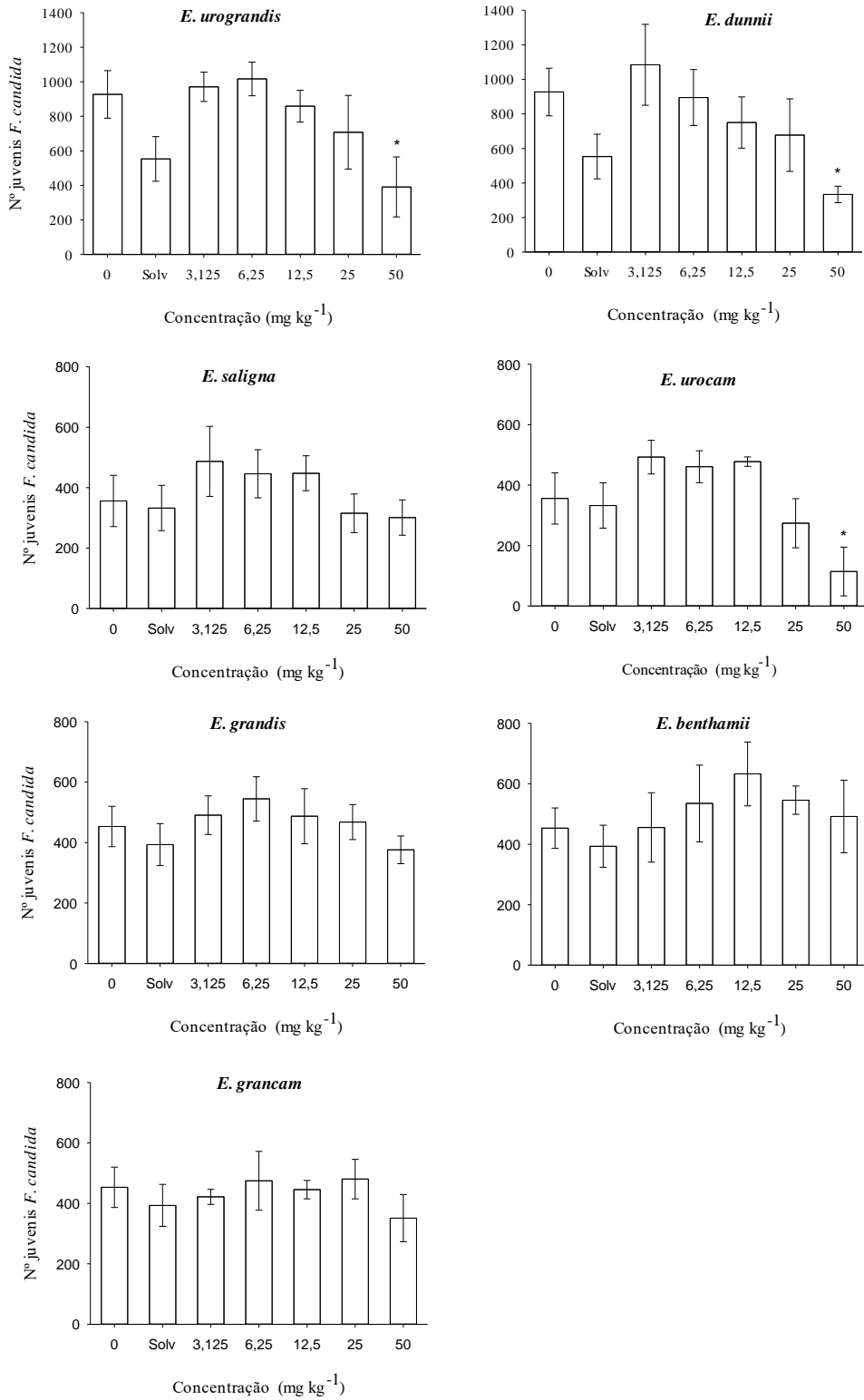
Tabela 3. Parâmetros ecotoxicológicos (CENO, CEO, CE₅₀, CE₁₀) calculados com base em ensaios de toxicidade crônica com a espécie *F. candida*, em SAT, submetidos a concentrações crescentes de óleo essencial (mg kg⁻¹).

Parâmetros	<i>E.urograndis</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. saligna</i>	<i>E. urocam</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. Benthamii</i>	<i>E. grancam</i>
CENO	25	25	50	25	50	50	50
CEO	50	50	>50	50	>50	>50	>50
CE50	42,6	41,8	n.e.	35,4	n.e.	n.e.	n.e.
CE10	16,0	8,37	n.e.	20,9	n.e.	n.e.	n.e.

n.e. – não estimado

Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

Figura 1. Número médio de juvenis *F. candida* gerados em SAT, submetidos a concentrações crescentes de óleos essenciais. Asteriscos (*) indicam redução significativa do número de juvenis (*F. candida*) em relação ao controle pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

Neste estudo, foram observados os efeitos negativos dos OE sobre a reprodução de colêmbolos da espécie *F. candida*, onde o óleo de *E. urocam* mostrou-se o mais tóxico (Tabela 3). Resultados similares foram encontrados por Martins et al. (2013), que verificaram toxicidade na reprodução de colêmbolos *F. candida* em 35 mg kg⁻¹ (CE₅₀) para o óleo de *Eucalyptus globulus*, espécie muito comum na região de Portugal, que afetou a reprodução de colêmbolos *F. candida* em concentrações de 35 mg kg⁻¹ (CE₅₀) e causou 100% de mortalidade nos organismos em 100 mg kg⁻¹. Os autores atribuem tal toxicidade aos componentes voláteis dos óleos essenciais. Segundo eles, tais compostos, quando volatilizam, criam uma película impermeável ao redor do corpo dos colêmbolos, impedindo a respiração dos organismos. Também pode ser devido à presença de substâncias com propriedades hidrofílicas e lipofílicas que podem penetrar nas células e afetar sua fisiologia. Outro aspecto interessante observado pelos autores, foi que os colêmbolos evitaram alimentos com óleos de eucalipto, provavelmente pelo fato de que os óleos essenciais induzem efeitos repulsivos em espécies de invertebrados (MARTINS et al., 2013).

GALLON et al. (2019) buscaram avaliar a eficácia das sete espécies de *Eucalyptus* utilizadas neste estudo para o controle de larvas de *Aedes aegypti*. Os óleos essenciais apresentaram atividade larvicida, onde *E. benthamii* e *E. urograndis* apresentaram maior potencial larvicida. Os autores relacionaram a mortalidade larval com os compostos encontrados nos óleos e concluíram que a mortalidade apresentou correlação com os compostos γ -terpineol, o-cymol, o-cymene, terpineol, 2,5-furandione-3-dodecyl, α -pineno, globulol, e ledol (Tabela 1). Os autores encontraram um modelo de regressão que indica que a variabilidade na mortalidade de *Aedes aegypti* pode ser atribuída ao composto α -pineno que, quando maior que 9.4 μ g ml pode causar mortalidade de 33% em média.

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos. Entretanto, as condições ambientais podem causar variações significativas (LUZÝ et al., 2020). Alguns componentes de óleos essenciais de eucalipto como citronela, citronelol, acetato de citronelilo, p-cimeno, eucamalol, limoneno, linalol, α -pineno, g-terpineno, α -terpineol, aloocimeno e aromadendeno, já possuem atividade pesticida conhecida, sendo que, neste estudo ocorre apenas a presença de α -pineno e α -terpineol (GALLON et al., 2019). Entretanto, os três óleos que causaram redução significativa na reprodução de colêmbolos contém porcentagem baixa de α -pineno e α -terpineol (Tabela 1).

Neste estudo, para os três óleos que causaram redução significativa na reprodução de colêmbolos, notou-se que os componentes α -pineno e terpineol compõem em menor quantidade, enquanto o componente α -terpino acetato ocorre somente nos óleos que causaram efeito (Tabela 1). Logo, uma maneira de explicar a toxicidade observada seria a presença destes compostos.

Os óleos de *E. urograndis* e *E. dunnii* também apresentaram toxicidade neste estudo. Entretanto, apesar da toxicidade observada nos tratamentos, o controle solvente também se mostrou tóxico aos organismos. Entretanto, as interpretações das toxicidades individuais dos óleos foram dificultadas, visto que podem ter sido influenciadas pela toxicidade do solvente, ou pode ser que os componentes destes dois óleos em específico tenham reagido com algum componente do solvente DMSO. Isto sugere que a avaliação de toxicidade desses OE deve ser utilizada com cautela e novos ensaios devem ser realizados para confirmar os efeitos aqui observados.

Pesquisas com OE de outras espécies de plantas também demonstraram toxicidade sobre colêmbolos. Volpato et al. (2016a) observaram que o óleo de canela *Cinnamomum zeylanicum* afetou significativamente a sobrevivência de *F. candida* em SAT, em concentrações de 25 mg kg⁻¹. Da mesma forma, nos testes de reprodução de colêmbolos, na dose de 25 mg kg⁻¹ a reprodução foi inexistente. Em outro estudo, Volpato et al. (2016b) não foram capazes de observar efeitos tóxicos em *F. candida* expostos ao OE de *Melaleuca alternifolia*, sendo portanto, um óleo com potencial de utilização em controle de pragas, sem afetar a fauna terrestre. Dalla Rosa et al. (2017) verificaram que há um potencial tóxico do óleo de neem (*Azadirachta indica*) para *F. candida*. Este OE é comumente utilizado na agricultura para o controle de pragas, e os autores constataram que ele foi prejudicial na reprodução da espécie em doses menores que 0,69 mg kg⁻¹, com CE₅₀=2,47 mg kg⁻¹.

A utilização de óleos essenciais como inseticidas botânicos possui vantagens em comparação com os sintéticos, como baixa toxicidade e maior seletividade contra organismos não-alvo, degradação rápida, além de ser um bem renovável (FENIBO; IJOMA; MATAMBO, 2021). Portanto, estes produtos tornam-se alternativas promissoras no controle biológico, sendo adequado à agricultura sustentável (PERES, 2015; MARANGONI et al. 2012).

Estudos têm mostrado bons resultados quanto à utilização de OE como alternativa aos inseticidas sintéticos e vem crescendo nos últimos anos (SILVA et al., 2017). Para a

seleção de novos inseticidas derivados de plantas, uma das premissas é que estes sejam eficazes e seletivos, o que pode ser confirmado através de estudos dos mecanismos das plantas. Além disto, conforme aqui demonstrado, é importante também a avaliação da toxicidade dos OE para organismos não-alvo. Os OE de eucalipto vêm sendo utilizados para controle de pragas, pois possuem atividade inseticida/repelente de insetos, acaricida, antimicrobiana e antiviral e atividade herbicida (PEREIRA, 2010), portanto, os resultados deste estudo podem ser complementares para que a sua viabilidade agrícola seja confirmada.

4 CONCLUSÃO

Os ensaios mostraram que dentre os sete óleos testados, três apresentaram toxicidade na concentração mais alta testada e os outros quatro não. A toxicidade observada dos três óleos não ficou clara quanto ao composto responsável pela mesma. Em geral, houve pequena redução na reprodução de *F. candida* em todos os óleos, porém, não de forma significativa em quatro destes. Em dois óleos houve efeito tóxico do solvente (DMSO), sendo necessário tomar cuidado ao relacionar a toxicidade somente aos óleos.

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam a necessidade de maiores análises acerca dos diferentes tipos de óleos essenciais que possam ser utilizados como biopesticidas, em especial os óleos do gênero *Eucalyptus*, visto que não há muita informação a respeito. Além disso, a utilização de óleos essenciais para este fim deve ser feita com atenção, pois podem ser nocivos às espécies não-alvo do solo.

Até onde sabe-se, este é o primeiro estudo que faz um comparativo entre estas sete espécies de plantas de eucalipto e analisa sua toxicidade sobre a fauna edáfica do solo. Estes dados mostram resultados promissores, instigando mais pesquisas sobre óleos de plantas, especialmente do gênero *Eucalyptus*.

REFERÊNCIAS

- 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.
- ALVES, P. R. L.; CARDOSO, E. Overview of the standart methods for soil ecotoxicology testing. Invertebrates - Experimental Models in Toxicity Screening. 1ed. **Rijeka: InTech**. p. 35-56, 2016.
- APARECIDA, L.; MORAIS, S. DE. QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS. v. 2, p. 4050-4063, 2009.
- 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.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BONMATIN, J. M. *et al.* Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environ Sci Pollut**. [s. l.], v. 22, p. 35-67, 2015.
- DALLA ROSA, V. M. *et al.* Ecotoxicological potential of bordeaux mixture and Neem oil on non-target soil organisms. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal Of Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 12, n. 4, p. 470-474, 30 dez. 2017.
- EPA – United States Environmental Protection Agency. **Biopesticides**. 2021. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticides/biopesticides>. Acesso em 17 jun. 2021.
- FENIBO, E. O.; IJOMA, G. N.; MATAMBO, T. Biopesticides in Sustainable Agriculture: a critical sustainable development driver governed by green chemistry principles. **Frontiers In Sustainable Food Systems**, [s.l.], v. 5, p. 1-6, 11 jun. 2021. Frontiers Media SA.
- FIERASCU, R. C. *et al.* The application of essential oils as a next-generation of pesticides: recent developments and future perspectives. **Zeitschrift Für Naturforschung C**, [s.l.], v. 75, n. 7-8, p. 183-204, 30 nov. 2019.
- 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.
- GALLON, C. **Avaliação de Óleos Essenciais de Eucalipto Sobre a Atividade Larvívora e Desenvolvimento do Mosquito *Aedes aegypti***. 2019. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Ambientais, Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, 2019.
- GALLON, C. *et al.* Chemistry matters: biological activity of eucalyptus essential oils on mosquito larval mortality. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, [s.l.], v. 168, n. 5, p. 407-415, maio 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.

GOLDFARB M. *et al.* Allelopathy: relations in the agrosystems. *Tecnol. & Ciên. Agropec.*, v.3, n.1, p.23-28, 2009.

ISO, 2014. International Standardization Organization – 11267. Soil quality - Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil contaminants. Genève, Switzerland.

LUZŮ, T. R A. *et al.* Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: culicidae) larvae. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 212, p. 105705, dez. 2020.

MARANGONI, C.; DE MOURA, N. F.; GARCIA, F. R. M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, 6: 95-112. 2012.

MARTINS, C. *et al.* Effects of Essential Oils from *Eucalyptus globulus* Leaves on Soil Organisms Involved in Leaf Degradation. **Plos One**, [s.l.], v. 8, n. 4, p. 61233, 5 abr. 2013.

PEREIRA, J. L. **Composição Química dos Óleos Essenciais de Espécies de Eucalyptus L' Herit (Myrtaceae)**. 2010. 69 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agroquímica, Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PERES, M. C.. **Nanoencapsulamento do Óleo Essencial das Folhas e Frutos de *Xylopia Aromatica* Lamm. e Sua Atividade Frente a Oviposição de *Bemisia Tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleroydidae) Biótipo B**. 2015. 98 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agroquímica, Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2015.

PINO-OTÍN, M. R. *et al.* Ecotoxicity of a novel biopesticide from *Artemisia absinthium* on non-target aquatic organisms. **Chemosphere**, [s.l.], v. 216, p. 131-146, fev. 2019.

RITCHIE, E.E. *et al.* Lethal and Sublethal toxicity of thiamethoxam and clothianidin commercial formulations to soil invertebrates in a natural soil. **Environmental Toxicology and Chemistry**. [s. l.], v.38, p. 2111 – 2120, 2019.

SINGH, H. P. *et al.* Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. **Annals Of Applied Biology**, [s.l.], v. 146, n. 1, p. 89-94, jan. 2005.

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

VOLPATO, A. *et al.* Larvicidal and insecticidal effect of *Cinnamomum zeylanicum* oil (pure and nanostructured) against mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and its possible environmental effects. **Journal Of Asia-Pacific Entomology**, [s.l.], v. 19, n. 4, p. 1159-1165, dez. 2016.

VOLPATO, A. *et al.* *Melaleuca alternifolia* Essential Oil against the Lesser Mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and Its Possible Effect on the Soil Fauna. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 41-46, mar. 2016.