

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

SABRINA OROSKI

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE UM INSETICIDA À BASE DE FIPRONIL
PARA COLÊMBOLOS DAS ESPÉCIES *Proisotoma minuta* E *Sinella curviseta* EM
SOLOS TROPICAIS**

CHAPECÓ

2022

SABRINA OROSKI

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE UM INSETICIDA À BASE
DE FIPRONIL PARA COLÊMBOLOS DAS ESPÉCIES *Proisotoma*
minuta E *Sinella curviseta* EM SOLOS TROPICAIS**

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

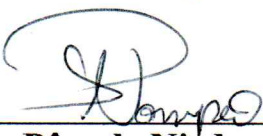
Orientador: **Prof. Dr. Marlon Luiz Neves da Silva**

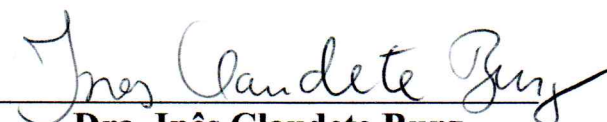
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e
aprovado pela banca em: 29 / 08 / 22

BANCA EXAMINADORA


Dr. Marlon Luiz Neves da Silva

Dr. Paulo Roger Lopes Alves


Dra. Pâmela Niederauer Pompeo


Dra. Inês Claudete Burg

AValiação ECOTOXICOLÓGICA DE UM INSETICIDA À BASE DE FIPRONIL PARA COLÊMBOLOS DAS ESPÉCIES *Proisotoma minuta* E *Sinella curviseta* EM SOLOS TROPICAIS

Sabrina Oroski*

Marlon Luiz Neves da Silva (orientador)**

Paulo Roger Lopes Alves (coorientador)**

RESUMO

O inseticida Fipronil, comumente utilizado no tratamento químico de sementes, tem causado efeitos tóxicos a espécies não-alvo do solo e, por isso, aumentando a preocupação sobre os impactos que os resíduos deste agrotóxico possa causar a alguns serviços ecossistêmicos realizados pela fauna edáfica. Os efeitos deste ingrediente ativo (i.a.) já são conhecidos para a espécie padrão ISO da classe Collembola, *Folsomia candida*, porém, é preciso avaliar se os limites estabelecidos com base nos resultados dessa espécie também são seguros às outras espécies de colêmbolos do solo, como, por exemplo, *Proisotoma minuta* e *Sinella Curviseta*, que podem ser expostas a aplicação de Fipronil nas sementes em solos tropicais. Este estudo avaliou o perigo e o risco ecológico do fipronil para a reprodução de duas espécies alternativas de colêmbolos (*P. minuta* e *S. curviseta*) em três solos tropicais, por meio de ensaios de toxicidade crônica padronizados. Os ensaios seguiram a metodologia estabelecida pela ISO 11267/2014, onde um solo artificial (SAT) e dois solos naturais (Neossolo e Latossolo) foram contaminados utilizando concentrações crescentes do i.a. fipronil contido em uma formulação comercial para tratamento de sementes (Shelter®). Fipronil apresentou maior toxicidade (baseado no CE_{50}) sobre a reprodução de *P. minuta*, comparado a *S. curviseta*. Além disso a maior toxicidade para a espécie *P. minuta* foi observada em Neossolo ($CE_{50} = 0,36 \text{ mg kg}^{-1}$) seguido por Latossolo ($CE_{50} = 0,52 \text{ mg kg}^{-1}$) e SAT ($CE_{50} = 0,90 \text{ mg kg}^{-1}$). Para *S. curviseta* a maior redução no número de juvenis também ocorreu em Neossolo ($CE_{50} = 3,16 \text{ mg kg}^{-1}$), seguido por SAT ($CE_{50} = 13,19 \text{ mg kg}^{-1}$) e Latossolo ($CE_{50} = 19,86 \text{ mg kg}^{-1}$). A partir destes dados de toxicidade, foi constatado um significativo risco ecológico de fipronil às espécies estudadas através das metodologias QP e RTE. Verificou-se que, para ambas as espécies, o risco de exposição é maior em Neossolo. Os resultados deste estudo sugerem haver diferenças entre de efeito do fipronil sobre as espécies de reprodução sexuada de colêmbolos e a espécie padrão com reprodução partenogenética (encontrados na literatura), assim como entre solos tropicais. À vista disso, sugere-se que estudos com colêmbolos de espécies alternativas em solos naturais deveriam ser levados em conta para a análise do perigo dos agrotóxicos, antes de sua comercialização, uma vez que aumentam o nível de realismo da avaliação realizada.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Collembola; Fenilpirazóis; Fauna Edáfica; Risco ecológico.

* Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental, da Universidade Federal da Fronteira Sul, e-mail:

sabrinaoroski@gmail.com;

** Professor do curso de Engenharia Ambiental, da Universidade Federal da Fronteira Sul, e-mail:

marlon.silva@uffs.edu.br;

** Professor do curso de Engenharia Ambiental, da Universidade Federal da Fronteira Sul, e-mail:

paulo.alves@uffs.edu.br;

ABSTRACT

The insecticide Fipronil, commonly used in the chemical treatment of seeds, is known to cause toxic effects on non-target species of the soil and, therefore, increasing the concern about the impacts that the residues of this pesticide can cause to some ecosystem services performed by the edaphic fauna. The effects of this active ingredient (a.i.) are already known for the ISO standard species of the Collembola class, *Folsomia candida*. However, it is necessary to assess whether the environmental limits established based on the results with this species are safe for other soil springtails species, such as *Proisotoma minuta* and *Sinella curviseta*, that can be exposed to the application of Fipronil on seeds in tropical soils. Using standardized chronic toxicity assays, this study evaluated fipronil's hazard and risk for two alternative springtail species (*P. minuta* and *S. curviseta*) in three tropical soils. The assays followed the methodology established by ISO 11267/2014, where an artificial soil (TAS) and two natural soils (Entisol and Oxisol) were contaminated using increasing concentrations of fipronil in a commercial formulation for seed treatment (Shelter®). Fipronil showed greater toxicity (based on EC₅₀) on the reproduction of *P. minuta* compared to *S. curviseta*. In addition, the greater toxicity to the species *P. minuta* was observed in Entisol (EC₅₀ = 0.36) followed by Oxisol (EC₅₀ = 0.52 mg kg⁻¹) and TAS (EC₅₀ = 0.90 mg kg⁻¹). For *S. curviseta* the greatest reduction in the number of juveniles also occurred in Entisol (EC₅₀ = 3.16), followed by TAS (EC₅₀ = 13.19 mg kg⁻¹) and Oxisol (EC₅₀ = 19.86 mg kg⁻¹). From these toxicity data, a significant risk of fipronil was found for the species studied through the HQ and TER methodologies. It was found that, for both species, the risk of exposure is greater in Entisol. The results of this study suggest that there are differences between the effect of fipronil on sexually reproducing springtails and the standard parthenogenetic reproducing species (found in the literature), as well as between tropical soils. Because of this, we suggested that studies with springtails of alternative species in natural soils should be considered to analyze the hazard of pesticides before their commercialization since they increase the realism of the assessment.

Keywords: Pesticides; Collembola; Phenylpyrazoles; Edaphic Fauna; Ecological Risk.

1 INTRODUÇÃO

Desde o desenvolvimento da agricultura moderna, houve uma expansão na indústria mundial de agrotóxicos (DE MORAIS, 2019) da qual o Brasil é um dos principais consumidores. Em 2019, foram comercializadas 620.537,98 toneladas de ingredientes ativos (i.a.) de químicos e bioquímicos, sendo os inseticidas responsáveis pela distribuição de 72.424,84 toneladas de agrotóxicos, caracterizando-se assim como uma das classes mais vendidas no país (IBAMA, 2019a).

Entre os inseticidas mais comercializados, estão as formulações à base do i.a. Fipronil que é um inseticida do grupo dos fenilpirazóis, considerado da “nova geração” devido ao seu modo de ação. Este i.a. age por meio da interferência no sistema nervoso central dos insetos, controlando as funções do neurotransmissor ácido γ - aminobutírico (GABA), atuando como

um antagonista deste receptor e, assim, causa uma superexcitação nos nervos e músculos, culminando na morte dos insetos expostos, diferindo dos inseticidas clássicos, como organofosforados e carbamatos, aos quais alguns insetos desenvolveram resistência (GUNASEKARA *et al.*, 2007).

No Brasil, o fipronil possui registro para diversas formulações de agrotóxicos, incluindo aquelas utilizadas no tratamento de sementes (DAN *et al.*, 2010), cujo método garante maior potencial para a plântula se desenvolver sadia e vigorosa, pois elimina os patógenos existentes na semente, e permanece protegendo-a dos insetos pragas existentes no solo.

Contudo, estudos recentes (GIORDANI *et al.*, 2020; HENNIG, 2021) têm demonstrado que a utilização de sementes tratadas com este i.a. pode causar a intoxicação e morte de organismos edáficos não-alvo (ex. colêmbolos), os quais são responsáveis por realizar a ciclagem dos nutrientes, decompor a matéria orgânica, controle biológico, manter a fertilidade do solo, entre outras funções (OLIVEIRA FILHO; BARETTA, 2016).

Algumas espécies sensíveis aos agrotóxicos são recomendadas pela ISO (International Organization for Standardization) para servirem como um bioindicador padrão em testes ecotoxicológicos realizados para avaliar o perigo de novas formulações de agrotóxicos. Para a classe Collembola a espécie recomendada como um padrão pela ISO é a *Folsomia candida*, que tem sido amplamente utilizada na avaliação de riscos de agrotóxicos (JANSCH *et al.*, 2006), isto devido a sua sensibilidade às substâncias/elementos tóxicos e a adaptação com a criação em laboratório.

F. candida possui reprodução partenogenética (FOUNTAIN; HOPKIN, 2005), que facilita uma maior produção de juvenis em menor tempo e, por conta disso, é esperado que se recupere mais rapidamente de estresses ambientais, já que não depende da fecundação cruzada, como outras espécies que se reproduzem de forma sexuada. Considerando que nem todas as espécies de colêmbolos possuem esta “vantagem” ecológica de recuperação da população, também é importante conhecer a toxicidade de agrotóxicos com espécies sexuadas, pois os resultados baseados em espécies partenogenéticas podem sub/super representar as respostas das demais espécies de colêmbolos no solo.

Uma alternativa à espécie padrão, reconhecida pela ISO, é a espécie *Proisotoma minuta*, a qual se adapta e reproduz bem em laboratório, além de ser ecologicamente relevante (TIAN *et al.*, 2022). Em um estudo realizado no estado do Rio de Janeiro - Brasil, foram coletadas amostras de florestas onde foi verificada a presença de *P. minuta* em 68% das amostras, enquanto *F. candida* foi encontrado em apenas 2% das amostras analisadas (BUCH *et al.*, 2016) demonstrando a abrangência desta espécie em solos brasileiros.

No estudo de Bandeira et al. (2021) foram avaliados, em SAT, o risco e a toxicidade da clotianidina em organismos edáficos não-alvo, onde foi constatado que *P. minuta* sofreu efeitos de redução em sua reprodução a partir da concentração mais baixa testada ($0,08 \text{ mg kg}^{-1}$), sendo esta mais sensível que a espécie padrão *F. candida*, que apresentou esta inibição da reprodução a partir de $0,18 \text{ mg kg}^{-1}$. Além disso, este estudo teve como conclusão que *P. minuta* foi a espécie mais sensível dentre sete outras espécies da fauna do solo analisadas, estas correspondentes a quatro diferentes grupos taxonômicos (*F. candida*, *F. fimetaria*, *S. curviseta*, *E. andrei*, *E. fetida*, *E. crypticus* e *O. nitens*).

Outra espécie alternativa de colêmbolos que vem sendo frequentemente utilizada como organismo modelo em toxicologia ambiental é a *Sinella curviseta*, a qual também apresenta boa culturabilidade em laboratório, é de fácil manuseio e, assim como *P. minuta*, se reproduz de maneira sexuada (ZHANG *et al.*, 2019). Outra característica desta espécie é que são considerados organismos epiedáficos, com pernas mais longas e furca mais bem desenvolvida, culminando numa maior mobilidade e, em virtude disto, estes organismos podem ser mais suscetíveis a fatores externos como poluição e alterações climáticas (PINTO, 2018).

Ferreira et al. (2022) buscaram avaliar espécies de colêmbolos quando expostas ao agrotóxico Clorantpril, o qual, assim como o fipronil, também é um inseticida de nova geração. Os autores observaram que *S. curviseta* apresentou menor sensibilidade ao inseticida quando comparada a *F. candida* e a *P. minuta*. Já De Lima e Silva et al. (2021) ao analisar a toxicidade do neonicotinóide tiacloprido verificaram que *S. curviseta* foi mais sensível quando comparada a espécie padrão, apresentando o valor de EC_{50} para *S. curviseta* de $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ enquanto *F. candida* obteve 2 mg kg^{-1} de concentração de efeito em 50% dos organismos. Portanto, verifica-se que a sensibilidade entre espécies pode variar de acordo com o agrotóxico ao que elas foram expostas, e que nem sempre a espécie padrão ISO representa com precisão os impactos sobre a comunidade de colêmbolos no solo.

Além disso, a toxicidade dos agrotóxicos para os colêmbolos também pode ser influenciada pelas propriedades do solo (HENNIG *et al.*, 2020). Uma porcentagem dos agrotóxicos aplicados nas culturas é incorporada ao solo e disponibilizada na solução do solo, onde podem ser adsorvidas em argilas ou na matéria orgânica (FILIZOLA, 2002). Sendo assim, solos argilosos (ex. Latossolo) tem maior capacidade de retenção/adsorção de compostos, como agrotóxicos, quando comparados a solos arenosos (ex. Neossolo).

Tendo em vista que espécies distintas de colêmbolos, e em diferentes solos, podem apresentar variação quanto a resposta de exposição à biocidas no solo (DE LIMA E SILVA *et al.*, 2021), torna-se importante avaliar se a toxicidade do fipronil observada na literatura para a

espécie padrão *F. candida* em solos tropicais, é representativa para as espécies sexuadas de colêmbolos como, por exemplo, *P. minuta* e *S. curviseta*. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar o potencial tóxico e o risco ecológico do i.a. fipronil para duas espécies alternativas de colêmbolos (*Sinella curviseta* e *Proisotoma minuta*) em três tipos de solo (Solo Tropical Artificial, Neossolo e Latossolo).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste estudo foram empregados três tipos de solos tropicais, sendo dois solos naturais (Neossolo e Latossolo) e um solo artificial (SAT) para a realização de ensaios de toxicidade crônica com duas espécies de colêmbolos: *P. minuta* e *S. curviseta*. A realização dos testes ecotoxicológicos seguiram as metodologias descritas pela ISO 11267 (ISO, 2014) para ensaios crônicos de reprodução.

2.1 SOLOS TESTE

O Solo Artificial Tropical foi produzido em laboratório, seguindo uma adaptação do solo artificial OECD que foi proposta por Garcia (2004), a qual buscou um cenário mais realista para países tropicais, cuja composição é uma mistura de 75% de areia fina, 20% de caulim, e 5% de fibra de coco. Seguindo as recomendações da ISO 11267 (ISO, 2014), o pH deste solo foi ajustado com carbonato de cálcio (CaCO_3) até se manter na faixa de 5,5 a 6,5.

Os solos naturais, Neossolo e Latossolo, foram coletados nos municípios de Araranguá (SC – 29° 00' S 49° 31' O) e Palmitos (SC – 27° 04' S 53° 09' O), respectivamente, na camada superficial do solo (profundidade de até 20 cm) em local de mata nativa sem histórico de contaminação. Após a coleta, foi realizado o peneiramento em peneira de espessura 2 mm, e a desfauna do solo, que se trata da secagem, congelamento e descongelamento do solo, de acordo com a metodologia de Alves et al. (2013). Após este procedimento, o solo passou por processo de secagem (em temperatura ambiente) e em seguida foi armazenado em local protegido de luz e à temperatura ambiente. As análises físicas e químicas dos solos (Tabela 1) foram realizadas de acordo com Tedesco et al., 1995.

Tabela 1 – Caracterização física-química dos solos SAT (Solo Artificial Tropical), Neossolo e Latossolo utilizados nos ensaios crônicos com *Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta*.

Parâmetros	SAT	Neossolo	Latossolo
MO % (m/v)	1,4 ± 0	2,2 ± 0,1	3,2 ± 0,8
Argila (g kg ⁻¹)	143 ± 0	41,5 ± 2,2	355 ± 14,1
Silte (g kg ⁻¹)	185 ± 0	20,5 ± 1,4	330 ± 15,6
Areia (g kg ⁻¹)	672 ± 0	938 ± 4,2	315 ± 1,4
CRA (100 %)	46,3 ± 1,7	31,6 ± 1,1	47,3 ± 1,3

Valores expressos em média ± desvio padrão. MO = Matéria Orgânica; CRA = Capacidade de retenção de água. Fonte: Autoria própria

2.2 ORGANISMOS-TESTE

Foram utilizadas nos testes as espécies de colêmbolos *P. minuta* e *S. curviseta*. A criação desses organismos-teste ocorreu no laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó (SC), seguindo as recomendações da criação da espécie padrão *F. candida*, conforme a ISO 11267 (ISO, 2014).

As espécies foram mantidas em meio produzido pela mistura de carvão, água e gesso, na proporção de 1:7:10 (respectivamente) que, após homogeneização, foi transferida para potes translúcidos em ambiente controlado com fotoperíodo de 12:12 horas (claro:escuro), e temperatura de 20 °C (± 2°C). A oferta de umidade se deu conforme a necessidade de cada espécie, com verificação a cada dois dias, e como alimento foi ofertado levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) por duas vezes a cada semana.

A reprodução dos colêmbolos foi acompanhada, e a coleta dos ovos ocorreu com o auxílio de pincéis umedecidos para transferência dos ovos do meio de criação para uma pedra de meio novo, onde foi observada a eclosão dos organismos. Por este processo foram obtidos organismos sincronizados, de 10 a 12 dias para o caso de *P. minuta*, e de 20 a 23 dias no caso de *S. curviseta*, visto que esta última tem menor taxa reprodutiva.

2.3 ENSAIOS DE TOXICIDADE CRÔNICA

Foram realizados seis testes crônicos, com objetivo de avaliar a reprodução de colêmbolos. Para isto, as espécies *P. minuta* e *S. curviseta* foram submetidas a doses crescentes do i.a. fipronil, em três diferentes solos (SAT, Neossolo e Latossolo). Os ensaios seguiram as orientações da ISO 11267 (ISO, 2014). A toxicidade do i.a. fipronil foi avaliada por meio da

formulação comercial Shelter®, a qual é recomendada para o tratamento químico de sementes, e contém 250 g do i.a. por litro.

Nos ensaios ecotoxicológicos, a contaminação dos solos testes (SAT, Neossolo e Latossolo) foi realizada com doses crescentes do i.a. fipronil presente na formulação comercial, cujas concentrações (Tabela 2) foram estimadas com base em testes preliminares (dados não apresentados). A contaminação se deu por meio de solução aquosa (agrotóxico Shelter® + água destilada), onde o volume de água foi calculado buscando obter 60% da capacidade de retenção de água (CRA) de cada solo (Tabela 1). Um tratamento controle também foi realizado, este contando apenas solo com a adição de água destilada. No início e no término dos ensaios ecotoxicológicos foram medidos o pH e a umidade dos solos utilizados.

Tabela 2 – Concentrações nominais de fipronil testadas em SAT (Solo Artificial Tropical), Neossolo e Latossolo durante testes crônicos com *Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta*.

Espécie	Concentração (mg/ kg)	Tipo de solo		
		SAT	Neossolo	Latossolo
<i>P. minuta</i>	C1	0,25	0,24	0,45
	C2	0,50	0,35	0,70
	C3	1,0	0,53	1,20
	C4	2,0	0,80	1,80
	C5	4,0	1,20	3,0
<i>S. curviseta</i>	C1	5,0	0,50	5,0
	C2	9,50	1,0	9,50
	C3	18,0	2,0	18,0
	C4	34,0	4,0	34,0
	C5	64,0	8,0	64,0

Fonte: Autoria própria

Em seguida, em recipientes de vidro, com tampas de pressão, foram inseridas 30 gramas do solo contaminado, aproximadamente 2 mg de fermento granulado seco (*S. cerevisiae*), o qual foi ofertado como alimento e os organismos. Cada unidade experimental contou com 10 indivíduos da espécie *P. minuta* ou 20 indivíduos no caso de testes com *S. curviseta*. Ambas as espécies permaneceram nos recipientes de teste por 28 dias, sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade da criação.

Na metade do período de duração do ensaio ecotoxicológico (14 dias), foi realizada a abertura de todos os recipientes para possibilitar as trocas gasosas e reposição do alimento. Neste momento, também foi realizada a pesagem dos recipientes e avaliada a necessidade de reposição de umidade, que se deu pela adição de algumas gotas de água destilada.

Ao final do ensaio (28 dias), o conteúdo dos recipientes foi transferido para recipientes mais largos e adicionado água, o que fez com que os colêmbolos flutuassem. Além disso, foi adicionada tinta vermelha nos testes com *P. minuta* e tinta preta nos testes com *S. curviseta* para colorir a água e criar maior contraste facilitando a visualização dos colêmbolos. Em seguida foi realizada uma fotografia de vista superior, cuja imagem foi identificada com o número da réplica e da concentração testada. Posteriormente, com o auxílio do software computacional Image J® versão 1.47v foi realizada a contagem dos colêmbolos juvenis sobreviventes ao teste. Os valores encontrados foram transferidos para planilha de cálculo juntamente com sua identificação.

2.4 ANÁLISE DE DADOS

Os dados provindos dos ensaios ecotoxicológicos foram submetidos a regressões não lineares, e então calculadas as concentrações de efeito em 50 e 10% da população (CE_{50} e CE_{10} , respectivamente). As diferenças entre os tratamentos foram testadas pela análise de variância (ANOVA). Para tal, a normalidade dos resíduos foi testada pelo teste de *Shapiro Wilk*, e a homocedasticidade foi testada pelo teste de *Bartlett*.

A partir dos resultados da ANOVA, foi possível estimar a Concentração de Efeito Observável (CEO) e a Concentração de Efeito Não Observável (CENO). Foi realizado o teste de post-hoc de *Dunnet*, aplicado a fim de analisar se houve diferença significativa do tratamento controle para os tratamentos que contenham fipronil. Neste caso, foi considerado uma precisão da análise em 95%, para este enquadramento, foram realizadas transformações de dados, o teste de *P. minuta* em SAT utilizou a função $(N^{\circ} \text{ de juvenis} + 1)^{(1/3)}$, *P. minuta* em Neossolo utilizou a função $(N^{\circ} \text{ de juvenis} + 10)^{(1/3)}$, e o teste de *P. minuta* em Latossolo, assim como os testes de *S. curviseta*, em SAT, Neossolo e Latossolo utilizaram para transformar os dados a função $\text{Log}_{10}(N^{\circ} \text{ de Juvenis} + 1)$. Todos os cálculos citados foram realizados pelo software Statistica®, versão 13.5.0.17 (TIBCO DATA SCIENCE, 2013).

A estimativa do risco ecológico da exposição das espécies *P. minuta* e *S. curviseta* ao fipronil em SAT, Neossolo e Latossolo foi calculada por duas metodologias, sendo: Quociente de Perigo (QP) e Razão de Toxicidade - Exposição (RTE) (RENAUD *et al.*, 2018).

Para a estimar o risco ecológico, primeiramente, foram calculadas as concentrações ambientais de fipronil estimadas para o ambiente (CAE), considerando o pior cenário de exposição. Foi considerada a densidade de solo sendo 1 g cm⁻³ Latossolo e 1,5 g cm⁻³ para SAT e Neossolo, uma profundidade de semeadura de 5 cm e uma quantidade de 64 kg ha⁻¹ (cultivar BRS 232) de sementes de soja, sendo seguida a recomendação para sementes de soja do produto comercial Shelter® que é de 50 g i.a. 100 Kg⁻¹, conforme Alves *et al.* (2013).

Na estimativa de risco ecológico pela metodologia de QP o cálculo foi realizado pela divisão do valor de CAE pela CE₁₀, isto multiplicado por um fator de 100 (QP = [(CAE/CE₁₀) × 100]). Já pela metodologia RTE os cálculos foram realizados pela divisão de CE₁₀ pelo valor de CAE (RTE = CE₁₀/CAE). Foi considerado risco ecológico significativo quando QP > 1 e RTE < 5 (EC, 2002).

3 RESULTADOS

Em todos os ensaios, as espécies alternativas apresentaram taxa de adultos sobreviventes > 80% ao final do teste e número médio de juvenis ≥ 100 nos tratamentos controles. Todos os testes atenderam o valor do coeficiente de variância estabelecido pelo diretriz ISO para *F. candida* (limite máximo de 30%).

Durante os ensaios (28 dias) os valores de pH não sofreram alterações significativas entre o início e fim de cada ensaio, para todos os solos, assim como os valores de pH das réplicas do controle mostraram-se similares às réplicas com concentrações de fipronil, também a umidade se manteve próxima ao padrão estabelecido (60% da CRA) (Tabela 3).

Tabela 3 – Médias dos valores de pH e umidade do solo (% de água) no início e no final (após 28 dias) dos testes, em SAT (Solo Artificial Tropical), Neossolo e Latossolo.

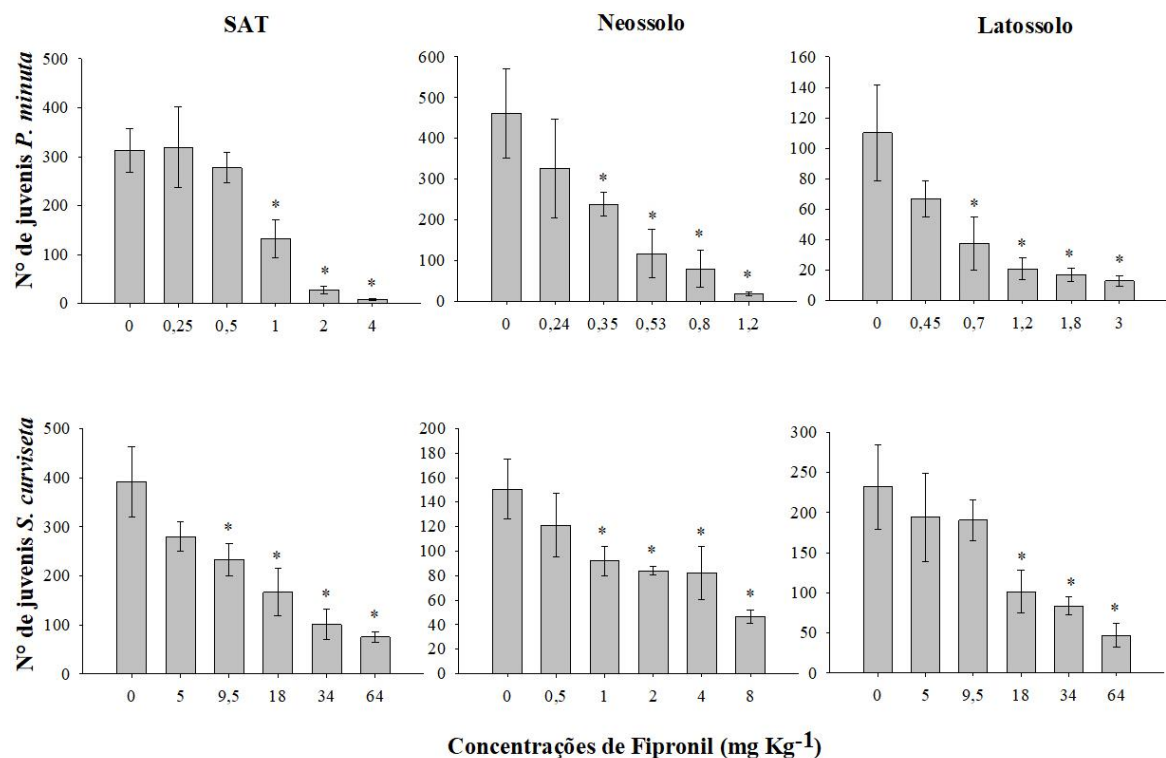
Parâmetros	SAT	Neossolo	Latossolo
pH _{KCl} C0 inicial	5,77 (± 0,13)	4,26 (± 0,10)	5,37 (± 0,07)
pH _{KCl} C0 final	5,66 (± 0,04)	4,25 (± 0,13)	5,29
pH _{KCl} C1 - C5 inicial	5,72 (± 0,18)	4,27 (± 0,06)	5,36 (± 0,03)
pH _{KCl} C1 - C5 final	5,62 (± 0,06)	4,28 (± 0,06)	5,34 (± 0,02)
Umidade inicial	26,95 (± 0,88)	18,38 (± 0,24)	32,16 (± 0,24)
Umidade final	27,39 (± 1,50)	18,30 (± 1,01)	33,22 (± 0,76)

Valores dos testes de *P. minuta* e *S. curviseta* expressos em média ± desvio padrão. Fonte: Autoria própria

Nas condições deste estudo, fipronil causou redução significativa no número de juvenis nas espécies alternativas em todos os solos testados (Figura 1). Os valores de CEO encontrados indicam que a toxicidade foi maior em Neossolo, seguido por Latossolo e SAT para *P. minuta* e maior em Neossolo seguido por SAT e Latossolo para *S. curviseta*. Os valores de CE_{50} e CE_{10} encontrados indicaram que, em todos os solos, a reprodução de *P. minuta* foi mais sensível ao fipronil comparado a *S. curviseta* (Tabela 4).

Para *P. minuta*, em SAT na concentração de 0,9 mg kg⁻¹ houve redução de 50% juvenis, enquanto para *S. curviseta* essa redução ocorreu apenas em 13,19 mg kg⁻¹. Em Neossolo, o efeito do i.a. foi mais severo, onde *P. minuta* apresentou EC_{50} de 0,36 e *S. curviseta* de 3,16, enquanto que em Latossolo o EC_{50} estimado para *P. minuta* foi de 0,52 e 19,86 para *S. curviseta* (Tabela 4).

Figura 1- Número médio de juvenis *P. minuta* e *S. curviseta* frutos de reprodução durante ensaio crônico onde os colêmbolos adultos foram submetidos a doses crescentes de fipronil em SAT (Solo Artificial Tropical), Neossolo e Latossolo.



* indica redução significativa do número de colêmbolos juvenis em relação ao controle pelo teste de Dunnet ($p \leq 0,05$). Fonte: Autoria própria

Tabela 4 – Parâmetros ecotoxicológicos (CENO, CEO, CE₅₀, CE₁₀) calculados estatisticamente com base em testes crônicos onde as espécies *Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta* foram submetidas a doses crescentes de fipronil (mg kg⁻¹) em SAT (Solo Artificial Tropical), Neossolo e Latossolo.

Espécie	Parâmetro	Tipo de solo		
		SAT	Neossolo	Latossolo
<i>P. minuta</i>	CENO	0,50	0,24	0,45
	CEO	1,00	0,35	0,70
	CE ₅₀	0,90 (0,79 - 1,04)	0,36 (0,26 - 0,46)	0,52 (0,37 - 0,68)
	CE ₁₀	0,45 (0,28 - 0,61)	0,09 (0,02 - 0,16)	0,13 (0,03 - 0,23)
<i>S. curviseta</i>	CENO	5,00	0,50	9,50
	CEO	9,50	1,00	18,00
	CE ₅₀	13,19 (9,30 - 17,08)	3,16 (1,42 - 4,89)	19,86 (12,37 - 27,35)
	CE ₁₀	1,42 (0,33 - 2,50)	0,10 (0,00 - 0,26)	3,67 (0,34 - 7,00)

O intervalo de confiança (IC) está entre parênteses. CENO = Maior Concentração Sem Efeito Observado; CEO = Menor Concentração Com Efeito Observado; CE₅₀ = Concentração com efeito em 50 % dos organismos; CE₁₀ = Concentração com efeito em 10 % dos organismos. Fonte: Autoria própria

A avaliação do risco por meio das metodologias QP e RTE indicaram probabilidades de risco diferentes. Pelo método QP, fipronil apresentou risco para *P. minuta* e *S. curviseta* em todos os solos testados, enquanto que, por meio da RTE, o risco de fipronil seria significativo para *P. minuta* nos solos naturais (Neossolo e Latossolo) e para *S. curviseta* apenas em Neossolo.

Tabela 5 – Concentrações ambiental estimada (CAE) de fipronil no solo e valores de risco ecológico calculados por Quociente de Perigo (QP) e Razão Toxicidade-Exposição (RTE) para *Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta* em SAT (Solo Artificial Tropical), Neossolo e Latossolo.

Espécie	Parâmetro	Tipo de solo		
		SAT	Neossolo	Latossolo
<i>P. minuta</i>	CAE (mg kg ⁻¹)	0,064	0,064	0,043
	QP	14,298*	71,111*	33,646*
	RTE	6,994	1,406*	2,972*
<i>S. curviseta</i>	CAE (mg kg ⁻¹)	0,064	0,064	0,043
	QP	4,507*	64*	1,172*
	RTE	22,187	1,562*	85,439

* significa risco ecológico da CAE de fipronil para a espécie.

RTE < 5 = Risco ecológico significativo para a espécie;

QP > 1 = Risco ecológico significativo para a espécie e necessidade de investigações futuras.

Fonte: Autoria própria.

4 DISCUSSÃO

Durante a realização dos ensaios ecotoxicológicos crônicos, foi verificado, ao comparar as réplicas controles (C0) com às contaminadas (C1 – C5), que o i.a. não influenciou no pH de nenhum dos solos testados, como também teve pouca variação entre o início e o fim dos ensaios. Sendo assim os efeitos posteriormente encontrados nos testes se devem ao efeito direto do fipronil sobre as espécies, uma vez que os parâmetros pH e umidade do solo se mantiveram estáveis, não influenciando nos resultados.

Observou-se que o alcance do fipronil tem um raio de ação que vai além dos insetos praga (alvos), visto que, afetou a reprodução de colêmbolos (organismos não-alvo). A toxicidade observada pode ter relação com o modo de ação do i.a., o qual inibe receptores neurais levando a paralisia e a hiperexcitação do sistema nervoso devido ao acúmulo do neurotransmissor ácido γ - aminobutírico (GABA) nas junções sinápticas (SIMON-DELSO, 2015). Outros estudos também verificaram a toxicidade do fipronil, utilizado no tratamento de sementes, sobre a classe Collembola. Alves et al. (2014) relataram declínio na reprodução de *F. candida* quando exposta ao i.a. Resultados semelhantes também foram encontrados em Hennig et al. (2022) e Toniolo (2020), que atribuíram estes efeitos a desregulação do sistema endócrino que está ligado a maturação sexual em colêmbolos, levando à redução da ovoposição. Além disso, San Miguel et al. (2008) verificaram que recém-nascidos de ovos de *F. candida* que tiveram contato com fipronil apresentaram dificuldades de locomoção e alguns morreram logo após a eclosão.

Neste estudo, foi verificado que a espécie *P. minuta* é mais sensível ao fipronil quando comparada a espécie *S. curviseta*. Essa diferença foi observada em todos os solos testados, sendo que a toxicidade do i.a. foi 38,19 vezes maior que *S. curviseta* em Latossolo, 14,65 vezes em SAT e 8,78 vezes em Neossolo (Tabela 4). Esta diferença de sensibilidade entre as espécies estudadas também foi observada por outros autores (FERREIRA, et al., 2022; CHELINHO, et al., 2014) na literatura científica, os quais sugerem que *S. curviseta* pode ter se mostrado como menos sensível ao i.a. devido a sua característica epedáfica, a qual lhe conferem uma baixa permeabilidade cuticular além de menor contato com os poros do solo e, consequentemente, com as moléculas de i.a., quando comparadas a *P. minuta* (espécie hemiedáfica) (BAHRNDORFF, et al., 2009).

Além disso, os resultados observados neste estudo para espécies alternativas também diferem dos encontrados na literatura para a espécie padrão (*F. candida*). Em condições similares às deste estudo, Hennig et al. (2022) avaliaram a toxicidade do i.a. fipronil sobre

colêmbolos *F. candida*, e constataram que a espécie teve 50% da população reduzida quando a concentração do agrotóxico foi de 0,7 (0,42 – 0,94) mg de fipronil kg⁻¹ em SAT, de 0,54 (0,42 – 0,70) mg kg⁻¹ em Latossolo e de 0,24 (0,20 – 0,29) mg kg⁻¹ em Neossolo. Comparados aos resultados do presente estudo (Tabela 4), verificou-se que a toxicidade da molécula para as espécies *P. minuta* e *F. candida*, quando considerados os limites de 95% de confiança, são análogas em todos os solos (HENNIG *et al.*, 2022) demonstrando mesma sensibilidade da espécie alternativa com a espécie padrão ISO.

Ainda em relação ao estudo de Hennig *et al.* (2022), pode-se acrescentar que a espécie padrão foi mais sensível ao fipronil quando comparada aos nossos resultados com *S. curviseta*, em todos os solos testados. Esta tendência de maior sensibilidade da espécie padrão em relação à *S. curviseta* foi relatada também por Bandow *et al.* (2014), quando expuseram as espécies ao fungicida pirimetanil e observaram que os EC₅₀ de cada espécie diferiram por um fator menor que 2, sendo a espécie padrão mais sensível.

Apesar da sensibilidade entre as espécies alternativas terem se mostrado iguais ou inferiores a da espécie padrão, é preciso se atentar para o fato de que as espécies partenogênicas como *F. candida* tem maior capacidade de restaurar suas populações quando comparadas as espécies sexuais, indicando assim, que mesmo se cessado o estresse químico as espécies sexuadas teriam maior dificuldade de se reproduzirem, visto que dependem das fêmeas para coletarem os pacotes de espermas deixados no solo pelos machos (BANDEIRA *et al.*, 2021)

Além da diferença de sensibilidade, as espécies também apresentaram diferença à toxicidade do i.a. entre os solos. Para *P. minuta* a sensibilidade ao fipronil foi maior em Neossolo > Latossolo > SAT, já para *S. curviseta* foi maior em Neossolo > SAT > Latossolo. Este efeito sobre a reprodução dos colêmbolos pode ser explicado com base na adsorção do fipronil em solos tropicais, que varia conforme os teores de argila e MO disponíveis em cada solo (TIAN *et al.*, 2019).

O fipronil possui átomos altamente eletronegativos, como F, Cl, O e N nas posições terminais, favorecendo assim, ligações da molécula com os colóides do solo (SINGH; SRIVASTAVA; SRIVASTAVA, 2016), e considerando que as argilas em conjunto com a MO são responsáveis pela maior adsorção de moléculas ao solo (FILIZOLA, *et al.*, 2002) pode-se afirmar que em função das características de solos mais arenosos o fipronil seja menos adsorvido, mantendo-se presente nos poros e na solução do solo. Sendo assim a maior retenção do i.a. no solo resulta em uma menor disponibilidade da molécula aos colêmbolos, portanto, a maior toxicidade encontrada em Neossolo pode estar relacionada ao seu baixo teor de argila e MO.

Todavia, não houve mesma tendência da toxicidade do fipronil para as espécies em Latossolo e SAT, julga-se que esta diferença de resposta seja devido aos hábitos de cada espécie. *P. minuta* é mais encontrada nos poros dos solos, possui menor estrutura e é menos móvel, o que a enquadra num modo de vida endogeica, em função disto é uma espécie mais influenciada pelo aspecto do seu meio vida, ou seja, do solo (QUERNER *et. al.*, 2013) enquanto *S. curviseta* (espécie epedáfica) de modo de vida epigeico, possui atividade metabólica mais acelerada (OLIVEIRA FILHO; BARETTA, 2016).

A cerca do risco ecológico, verificou-se que, pela metodologia QP, fipronil apresenta risco ecológico (Tabela 5) para a população de ambas as espécies em todos os solos testados, sendo em Neossolo um risco mais expressivo por consequência da elevada toxicidade observada (Tabela 4). Este risco não deve ser negligenciado, no entanto, necessitam ser realizados ensaios de campo e semi-campo para certificar os efeitos do i.a. em condições mais realistas. Em relação a metodologia RTE, fipronil demonstrou risco ambiental para *P. minuta* nos solos naturais e a molécula classificou-se como segura apenas em SAT. Porém, os resultados neste solo podem ser menos realísticos visto que se trata de um solo artificial. Já para *S. curviseta* a metodologia de RTE classificou risco apenas em Neossolo, não sendo encontradas diferenças significativas em Latossolo e SAT devido as características destes solos, o que minimizou os efeitos de toxicidade e consequentemente da RTE. Neossolo representou, por meio de ambas as metodologias, o solo de maior risco para a reprodução das espécies estudadas, o que se deve, provavelmente, a sua baixa porcentagem de argila que contribui para menor retenção do i.a. e maior disponibilidade da molécula na solução do solo.

Essas diferenças de resultados entre os métodos se dão devido à metodologia QP ser uma metodologia mais conservadora, visto que relaciona diretamente o nível de toxicidade da molécula à CAE, o que seria uma situação de pior cenário possível, no qual os efeitos observados em laboratório seriam exatamente iguais àqueles de situações de exposição aos agrotóxicos em condições de campo. No caso de RTE, a metodologia proporciona uma análise mais realista, em virtude de levar em consideração um fator de extrapolação dos resultados experimentais para as condições de campo. Embora esta última pareça ser a mais adequada, visto que evita erros de superestimação do risco ambiental dos agrotóxicos, ambas podem ser utilizadas no manejo ambiental dos impactos dos agrotóxicos para a fauna do solo, dependendo do objetivo.

Baseado nos valores de risco ecológico encontrados para colêmbolos neste estudo e naqueles da literatura (Hennig *et al.*, 2021), percebe-se que a atual classificação de periculosidade ambiental do fipronil no Brasil (IBAMA, 2019b) subestima seus efeitos sobre

os colêmbolos em solos brasileiros. Uma vez que no país não são obrigatórios estudos ecotoxicológicos com essa classe de invertebrados, o que ainda se agrava ao considerar os efeitos da molécula sobre a reprodução de colêmbolos sexuais. Portanto, os resultados encontrados neste trabalho devem ser tomados como um alerta, visto que indicam a toxicidade de fipronil em solos de campo, que pode alterar o equilíbrio do solo em virtude de seus efeitos sobre comunidades edáficas benéficas do solo.

5 CONCLUSÃO

Fipronil foi prejudicial a reprodução de colêmbolos das espécies *P. minuta* e *S. curviseta*, no entanto, a toxicidade deste i.a. foi maior na reprodução de *P. minuta*. A espécie *P. minuta* também apresentou sensibilidade ao i.a. próxima aos valores encontrados para a espécie padrão (*F. candida*) na literatura, enquanto a espécie *S. curviseta* apresentou menor sensibilidade aos efeitos tóxicos do fipronil.

O risco crônico do fipronil para os colêmbolos foi influenciado pelo tipo do solo, sendo maior em Neossolo, que possui menor teor de argila. Foi verificado que, pela metodologia do QP, ambas as espécies estariam em risco em todos os solos testados, enquanto que pela metodologia RTE o risco para *P. minuta* ocorreria apenas nos solos naturais enquanto para *S. curviseta* somente em Neossolo.

Os resultados encontrados neste trabalho demonstram a importância de utilizar solos naturais e espécies de colêmbolos sexuais para ensaios ecotoxicológicos, como também indicam que, em nível de campo, podem estar ocorrendo impactos nos serviços ecossistêmicos, que não necessariamente são considerados na avaliação de periculosidade ambiental dos agrotóxicos.

REFERÊNCIAS

ALVES, Paulo R. L. *et al.* Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. **Chemosphere**, v. 90, n. 11, p. 2674-2682, 2013.

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

BANDEIRA, Felipe O. *et al.* Chronic effects of clothianidin to non-target soil invertebrates: Ecological risk assessment using the species sensitivity distribution (SSD) approach. **Journal of Hazardous Materials**, v. 419, p. 126491, 2021.

BANDOW, Cornelia; KARAU, Nora; RÖMBKE, Jörg. Interactive effects of pyrimethanil, soil moisture and temperature on *Folsomia candida* and *Sinella curviseta* (Collembola). **Applied soil ecology**, v. 81, p. 22-29, 2014.

BAHRNDORFF, Simon *et al.* The rapid cold hardening response of Collembola is influenced by thermal variability of the habitat. **Functional Ecology**, v. 23, n. 2, p. 340-347, 2009.

BUCH, Andressa C. *et al.* Ecotoxicity of mercury to *Folsomia candida* and *Proisotoma minuta* (Collembola: Isotomidae) in tropical soils: baseline for ecological risk assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 127, p. 22-29, 2016.

CHELINHO, Sónia *et al.* Soil microarthropod community testing: A new approach to increase the ecological relevance of effect data for pesticide risk assessment. **Applied Soil Ecology**, v. 83, p. 200-209, 2014.

DAN, Lilian G. M. *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 131-139, 2010.

DE LIMA E SILVA, Cláudia *et al.* **Bringing ecology into toxicology**: Life-cycle toxicity of two neonicotinoids to four different species of springtails in LUFA 2.2 natural soil. *Chemosphere*, v. 263, p. 128-245, 2021.

DE MORAES, Rodrigo Fracalossi. **Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**. Texto para Discussão, 2019.

EC - European Commission. SANCO/10329/2002 - Final Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology under Council Directive 91/414/EEC. European Commission Health & Consumer Protection Directorate General. E1-Plant Health, 2002.

FERREIRA, Patrícia *et al.* Representativeness of *Folsomia Candida* to Assess Toxicity of a New Generation Insecticide in Different Temperature Scenarios. **Science of The Total Environment**, v. 837, p. 155712, 2022.

FILIZOLA, Heloisa F. *et al.* Contaminação dos Solos em áreas agrícolas. In: **Uso Agrícola dos Solos Brasileiros**. Eds MANZATTO, C.V.; FREITAS JUNIOR, E.; PERES, J.R.R. Rio de Janeiro, 2002. Embrapa Solos. p. 79-86, 2002.

FOUNTAIN, Michelle T.; HOPKIN, Steve P. *Folsomia candida* (Collembola): a "standard" soil arthropod. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 50, p. 201-222, 2005.

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

GIORDANI, Isabela A. *et al.* Toxicity of pesticides with fungicide and fungicide+ insecticide effects to *Eisenia andrei*. **Revista Ambiente & Água**, v. 15, 2020.

GUNASEKARA, Amrith S. *et al.* Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, p. 0706180001-0706180001, 2007.

HENNIG, Thuanne B. *et al.* Can the increase in atmospheric temperature enhance the toxicity and risk of fipronil for collembolans in tropical soils?. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 18, p. 27104-27114, 2022.

HENNIG, Thuanne B. **Influências do tipo de solo, regime de umidade e temperatura no potencial tóxico de fipronil sobre a fauna edáfica**. Dissertação de mestrado, Universidade do Estado de Santa Catarina, 115 p, Lages, Brasil, 2021.

HENNIG, Thuanne B. *et al.* **Toxicity of imidacloprid to collembolans in two tropical soils under different soil moisture**, 2020.

IBAMA. Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis (Brasil). Relatórios de comercialização de agrotóxicos. 2019a. Disponível em:

<http://ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acesso em: 11 dez. 2022.

IBAMA. Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis (Brasil). Perfil ambiental: fipronil. 2019b. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/perfis-ambientais>. Acesso em: 30 jul. 2022.

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

JÄNSCH, Stephan *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: An International Journal**, v. 25, n. 9, p. 2490-2501, 2006.

OLIVEIRA FILHO, Luís C. I.; BARETTA, Dilmar. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos? **Revista Scientia Agraria**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 21-40, 2016.

PINTO, Emily D. C. P. **Avaliação dos efeitos do Kraft 36EC sobre a estrutura biológica do solo utilizando atributos funcionais de colêmbolos**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2018.

QUERNER, Pascal *et al.* Landscape and site effects on Collembola diversity and abundance in winter oilseed rape fields in eastern Austria. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 164, p. 145-154, 2013.

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

SAN MIGUEL, Angélique *et al.* Phenylpyrazoles impact on *Folsomia candida* (Collembola). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2351-2357, 2008.

SIMON-DELSO, Noa *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.

SINGH, Anand; SRIVASTAVA, Anjana; SRIVASTAVA, Prakash C. Sorption–desorption of fipronil in some soils, as influenced by ionic strength, pH and temperature. **Pest management science**, v. 72, n. 8, p. 1491-1499, 2016.

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. p. 170, 1995.

TIAN, Yue *et al.* Complete mitochondrial genome of *Proisotoma minuta* (Collembola: Proisotominae). **Mitochondrial DNA Part B**, v. 7, n. 5, p. 727-728, 2022.

TIAN, Bing B. *et al.* Impact of surfactant and dissolved organic matter on uptake of atrazine in maize and its mobility in soil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 19, n. 2, p. 599-608, 2019.

TIBCO Data Science. **STATISTICA 13.5.0.17.v**: Sistema de software de análise de dados [Software]. TIBCO Software, Palo Alto, CA, 2013.

TONIOLO, Tânia. **Avaliação ecotoxicológica de fipronil em solos tropicais: efeitos sobre *Folsomia candida* (COLLEMBOLA)**. 36 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, 2020.

ZHANG, Feng *et al.* A high-quality draft genome assembly of *Sinella curviseta*: A soil model organism (Collembola). **Genome biology and evolution**, v. 11, n. 2, p. 521-530, 2019