

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

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**EFEITOS TÓXICOS DE CLOTIANIDINA PARA ESPÉCIES ALTERNATIVAS
DE COLÊMBOLOS EM SOLOS TROPICAIS**

ALUNO: William Eduardo dos Santos

ORIENTADOR(a) Prof. Marlon Luiz Neves da Silva

AGOSTO - 2022

WILLIAN EDUARDO DOS SANTOS


**EFEITOS TÓXICOS DE CLOTIANIDINA PARA ESPÉCIES ALTERNATIVAS
DE COLÊMBOLOS 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**
Coorientador: **Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves**

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e
aprovado pela banca em: 24/08/22

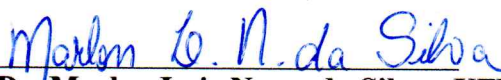
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dr. Pâmela Niederauer Pompeo– UFFS



Prof. Dr. Leandro Bordin - UFFS



Prof. Dr. Marlon Luiz Neves da Silva - UFFS

EFEITOS TÓXICOS DE CLOTIANIDINA PARA ESPÉCIES ALTERNATIVAS DE COLÊMBOLOS EM SOLOS TROPICAIS

William Eduardo dos Santos*
Marlon Luiz Neves da Silva**
Paulo Roger Lopes Alves***

RESUMO

Agrotóxicos são utilizados na agricultura com a finalidade de proteger culturas e permitir ganhos de produtividade, para isso se faz uso de diversas formulações comerciais. A clotianidina, é um ingrediente ativo (i.a.) da classe dos neonicotinóides que está presente em formulações comerciais de inseticidas para o tratamento químico de sementes no Brasil. Atualmente, estudos têm demonstrado preocupação quanto os seus efeitos deste i.a. no ambiente para organismos não-alvo do solo, como, colêmbolos. Esses estudos têm sido realizados com espécie padrão (*Folsomia candida*) e solo artificial e, pouco se sabe a respeito dos efeitos do i.a. em solos tropicais. Este estudo avaliou os efeitos da clotianidina em espécies alternativas de colêmbolos (*Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta*) em solos naturais tropicais (Latossolo e Neossolo) por meio de ensaios de toxicidade crônica e, estimou o risco ecológico para as espécies em solos contaminados pelo o i.a. Os ensaios de toxicidade crônica foram realizados com base na ISO 11267 (2014). Foram observados efeitos na reprodução de ambas espécies, independentemente do tipo de solo testado, embora a sensibilidade das espécies ao i.a. tenha sido similar, quando comparadas no mesmo tipo de solo. Maior toxicidade para ambas as espécies foi observada em Neossolo, onde valores de EC_{50} variaram de 0,077 a 0,081 $mg\ kg^{-1}$ entre as espécies, enquanto que, em Latossolo, os valores de EC_{50} variaram de 0,421 a 0,495 $mg\ kg^{-1}$ entre as espécies. O risco ecológico avaliado para as duas espécies indicou que o risco é acentuado para ambas as espécies em Neossolo contaminado pelo i.a., embora *P. minuta* pareça ser a espécie com maior probabilidade de efeito tóxico.

Palavras-chave: Ecotoxicologia terrestre; Inseticidas; Neonicotinoides; *Proisotoma minuta*; *Sinella curviseta*.

ABSTRACT

Pesticides are used in agriculture in order to protect crops and allow productivity gains, for which various commercial formulations are used. Clothianidin is an active ingredient (a.i.) of the neonicotinoid class that is present in commercial formulations of insecticides for the chemical treatment of seeds in Brazil. Currently, studies have shown concern about the effects of this a.i. in the environment to non-target soil organisms such as springtails. These studies have been carried out with standard species and artificial soil, and little is known about the

* Acadêmico do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó. E-mail: w4e1s9@gmail.com

** Professor orientador – Universidade Federal da Fronteira Sul. Doutor. E-mail: marlon.silva@uffs.edu.br

*** Professor Coorientador – Universidade Federal da Fronteira Sul. Doutor. E-mail: paulo.alves@uffs.edu.br

effects of a.i. on tropical soils. This study evaluated the effects of clothianidin on alternative springtail species (*Proisotoma minuta* and *Sinella curviseta*) in tropical natural soils (Oxisol and Entisol) through chronic toxicity tests. It was also estimated the ecological risk for the species in soils contaminated by the i.a. Chronic toxicity essays were based on ISO 11267 (2014). Effects on the reproduction of both species were observed, regardless of the type of soil tested, although the species sensitivity to the a.i. was similar when compared to the same soil type. Higher toxicity for both species was observed in Entisol, where EC₅₀ values ranged from 0.077 to 0.081 mg kg⁻¹ between species, while in Oxisol, EC₅₀ values ranged from 0.421 to 0.495 mg kg⁻¹ between species. The ecological risk evaluated for the two species indicated the risk is accentuated for both species in Entisol contaminated by the a.i., although *P. minuta* seems to be the species with the highest probability of toxic effect.

Keywords: Soil ecotoxicology; Insecticides; Neonicotinoids; *Proisotoma minuta*; *Sinella Curviseta*.

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são conhecidos pela função que desempenham na agricultura, ou seja, no combate e prevenção contra pragas que venham causar algum dano aos cultivos agrícolas e pastagens. A utilização de herbicidas, inseticidas, fungicidas e afins, pode ser uma ferramenta para assegurar a proteção contra a produção diminuída ou a destruição das culturas (SERRA *et al.*, 2016).

Atualmente, existem no mercado diversos produtos técnicos em diferentes formulações que podem ser adquiridas e utilizadas no campo. Em 2019, foram autorizados pela ANVISA cerca de 475 novas formulações de agrotóxicos para comercialização no mercado agrícola, sendo 92% desses produtos considerados químicos, os quais são compostos por apenas uma molécula (83,8%) como princípio ativo, ou contém misturas (8,2%) de duas a quatro moléculas (BRAGA *et al.*, 2020).

Além da aplicação de agrotóxicos diretamente nas plantas (aplicação foliar), essas formulações são frequentemente utilizadas no tratamento químico de sementes que, segundo Mertz *et al.* (2009), com a principal finalidade de controlar o ataque de patógenos e pragas do solo, e permitir a boa germinação das sementes. Essa prática se tornou uma importante ferramenta por garantir o desenvolvimento das plantas em seu ciclo inicial e, conseqüentemente, contribuir para uma melhor produtividade agrícola (MATTHEWS, 2006; DOUGLAS; TOOKER, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2017).

Tendo em vista que cerca de 90% da produção de alimentos é obtida através de sementes, é necessário protege-las de insetos-pragas e patógenos, logo o tratamento químico de

sementes se torna uma importante prática que auxilia o manejo da produção agrícola (MACHADO *et al.*, 2006).

De acordo com o relatório de comercialização de agrotóxicos brasileiro (IBAMA, 2022), em 2020 foram comercializadas 157,43 toneladas de agrotóxicos protetores de sementes, sendo 11,59% a mais que no ano anterior. Esse aumento na busca por produtos para o tratamento de sementes é decorrente da importância econômica associada aos ganhos de produtividade das culturas quando aplicado tratamento por agrotóxicos nas plantações (VEIGA, 2007).

A clotianidina que é um ingrediente ativo (i.a.) do grupo dos neonicotinóides presente em algumas formulações de inseticidas utilizados nas sementes de algumas culturas agrícolas como algodão, feijão, milho e soja (EPA, 2020; ANVISA, 2022). Os neonicotinóides atuam como agonistas dos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs), no sistema nervoso central (SNC) dos insetos, causando uma estimulação nervosa em baixas concentrações, podendo provocar paralisia e morte dos organismos expostos (GOULSON, 2013). Por esta razão têm um efeito inseticida desejado para o controle de pragas agrícolas.

Segundo o boletim anual de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil (IBAMA, 2022), em 2020 foram comercializadas cerca de 560,01 toneladas de clotianidina. A busca por agrotóxicos contendo este i.a. se justifica pelo seu amplo espectro inseticida e proteger culturas agrícolas (FERNANDES; ÁVILA, 2015; SILVA *et al.*, 2021).

Atualmente, a clotianidina possui registro em 120 países devido ao seu amplo espectro inseticida, ação sistêmica e alta eficiência, porém em 2013 a Comissão Europeia restringiu a comercialização e uso de produtos que tenham a clotianidina como i.a. e, em 2015, o seu uso foi proibido para usos externos (em campos agrícolas). O principal motivo para a proibição, foi ocasionar a morte massiva de abelhas, as quais desempenham a função ecológica de polinização de diversas espécies de plantas (GUO *et al.*, 2021; EFSA, 2016). E em 2020, de acordo com o boletim anual de produção, exportação e vendas de agrotóxicos, foram vendidas cerca de 560,01 toneladas deste i.a (IBAMA, 2022).

Apesar dos benefícios associados ao uso de agrotóxicos, alguns estudos demonstram preocupação sobre os resíduos oriundos do uso de agrotóxicos nos compartimentos ambientais, bem como sobre os seus efeitos nos ecossistemas. Alguns exemplos são os resíduos em alimentos, contaminação do solo, água, ar e aos usuários desses produtos (DHINGRA, 1985; BORTOLUZZI *et al.*, 2006; YUSÀ *et al.*, 2009; STEFFEN; STEFFEN; ANONIOLLI, 2011; NEVES, 2020).

A contaminação do solo por agrotóxicos pode ocorrer direta ou indiretamente através de aplicações nos cultivos agrícolas. Os agrotóxicos penetram o solo quando são pulverizados sobre as plantas, carregados por águas superficiais que atravessam o perfil do solo ou quando são liberados resíduos pelas sementes tratadas, que são depositadas diretamente no solo (ANDRÉA, 1998; ARIAS-ESTÉVEZ *et al.*, 2008).

O solo abriga um quarto de toda a biodiversidade existente, a qual é essencial para a manutenção das funções desse ecossistema. As atividades dos invertebrados têm importante efeitos na organização e estrutura do solo, dinâmica da matéria orgânica e no crescimento das plantas (LAVELLE, 1996). Contudo, a exposição dos invertebrados aos contaminantes no solo pode resultar em impactos nas suas funções ecológicas, além de influenciar indiretamente o ecossistema e alterar a complexa cadeia alimentar (SORIANO, 2013). Para avaliar os impactos ecológicos da contaminação em solos, são utilizados testes ecotoxicológicos que visam quantificar a abundância, mortalidade e reprodução dos organismos expostos.

Alguns estudos têm demonstrado seus efeitos tóxicos de agrotóxicos sobre organismos não-alvo da fauna edáfica, tal como é o caso dos colêmbolos (ALVES *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2020) e das minhocas (BANDEIRA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020, TENG *et al.*, 2021). A toxicidade da clotianidina tem sido avaliada em organismos não-alvos de diferentes compartimentos. Estudos já demonstraram os efeitos tóxicos deste i.a. em testes agudos e crônicos para abelhas das espécies *Apis mellifera* e *Osmia excavata* (SONG *et al.* 2021; WANG *et al.* 2021), joaninhas *Coccinella septempunctata* L. (JIANG *et al.* 2018), e, em ambientes aquáticos, para o crustáceo anfípode da espécie *Hyaella azteca* (BARTLETT *et al.* 2019) e larvas de mosquitos *Chironomus dilutus* (Diptera) (MALONEY *et al.* 2018). Já no solo, testes ecotoxicológicos vêm sendo performados com organismos padronizados como as espécies de minhocas *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* (WANG *et al.* 2012; RITCHIE *et al.* 2019; SILVA *et al.* 2020) e os colêmbolos *Folsomia candida* (RITCHIE *et al.* 2019; SILVA *et al.* 2020; BANDEIRA *et al.* 2021).

Entretanto, os estudos com colêmbolos têm sido principalmente realizados com espécies padronizadas em protocolos internacionais e/ou em solo artificial, o que pode não ser representativo da maioria dos solos agrícolas brasileiros.

Dentre as espécies padronizadas por protocolos internacionais para ensaios ecotoxicológicos com colêmbolos, *F. candida* e *Folsomia fimetaria* foram selecionadas devido ao conhecimento existente sobre seus ciclos de vida (rápidos) e reprodução, os quais são utilizados como indicadores da contaminação de solos por inseticidas (OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2018). Espécies de colêmbolos como *Sinella curviseta* (Entomobryidae) e *Proisotoma*

minuta (Isotomidae) são recomendadas como consideradas espécies alternativas de bioindicadores em estudos ecotoxicológicos, pois também podem oferecer diferentes níveis de sensibilidade para as análises de risco e têm como vantagens as diferentes formas de reprodução (sexuada) e ocorrência, comparadas a *F. candida*. Essas espécies já foram utilizadas para avaliar a toxicidade de metais (XU *et al.*, 2009; BANDOW *et al.*, 2013; BUCH *et al.*, 2016; CALLAHAN *et al.*, 2019) e, inclusive, de clotianidina em solo artificial tropical (SAT) (BANDEIRA *et al.*, 2021). Porém, pouco é conhecido sobre a sensibilidade das espécies *S. curviseta* e *P. minuta* aos efeitos da clotianidina em solos naturais tropicais brasileiros, que representaria um cenário mais realista para a avaliação de risco ecológico desse inseticida.

Diante disso, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos da clotianidina em espécies alternativas de colêmbolos (*Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta*) em solos naturais tropicais (Latossolo e Neossolo) por meio de ensaios de toxicidade crônica e, estimar o risco ecológico para as espécies em solos contaminados pelo o i.a. Os resultados permitirão conhecer os efeitos tóxicos desse inseticida em condições ambientais próximas às naturais para espécies alternativas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ORGANISMOS TESTE

A criação dos organismos de teste, assim como o desenvolvimento dos ensaios ecotoxicológicos, ocorreram conforme recomendações da ISO 11267 (ISO, 2014). Colêmbolos das espécies *P. minuta* e *S. curviseta* foram criados em laboratório, em recipientes plásticos contendo um substrato composto por uma mistura de carvão ativado, água e gesso na proporção 1:6:10 (p:p:p). A criação foi mantida a uma temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12:12h (claro:escuro). Semanalmente, os colêmbolos foram alimentados com leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*). A reprodução dos colêmbolos foi induzida através da mudança de meio de cultivo, e foram realizadas coletas de ovos com o objetivo de obter organismos com idades sincronizadas de 10-12 dias (*P. minuta*) e 20-23 dias (*S. curviseta*) para a realização dos ensaios de toxicidade.

2.2 SOLOS TESTE

Os ensaios propostos foram realizados em dois solos naturais representativos de ambientes tropicais, sendo um tipo de Latossolo e um Neossolo Quartzarênico. O Latossolo,

com textura argilosa, foi coletado no município de Palmitos (SC). O Neossolo Quartzarênico, com textura arenosa, foi coletado em Araranguá (SC). Os solos foram coletados em profundidade de 0–20 centímetros, em áreas de floresta sem histórico de contaminação por agrotóxicos.

Após a coleta, as amostras foram secas ao ar, peneiradas em malha de 2mm e submetidas a um processo de desfauna, que visa a eliminação de organismos pré-existentes no solo. Para isto, as amostras foram congeladas a temperatura de -20 °C e, posteriormente, descongeladas em três ciclos de 12h entre congelamento e descongelamento. As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente até o momento do ensaio.

Os atributos químicos e físicos dos solos foram determinados de acordo com Tedesco *et al.* (1995), pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), em Chapecó – SC (Tabela 1). O Latossolo apresentou maior teor de matéria orgânica (MO), argila e capacidade de troca catiônica (CTC). Já o Neossolo apresentou maior teor de areia, menores percentuais de saturação por bases e de capacidade de retenção de água, assim como menor CTC.

Tabela 1. Caracterização física e química do Latossolo e Neossolo utilizados nos ensaios de toxicidade crônica com *P. minuta* e *S. curviseta*.

Parâmetros	Latossolo	Neossolo
MO % (m/v)	3,2 ± 0,8	2,2 ± 0,1
P (mg dm ⁻³)	4,0 ± 2,1	4,8 ± 1,0
K (mg dm ⁻³)	222 ± 2,8	42,0 ± 2,8
Ca (cmolc dm ⁻³)	8,4 ± 0,4	0,6 ± 0,1
Mg (cmolc dm ⁻³)	1,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Al (cmolc dm ⁻³)	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0
H + Al (cmolc dm ⁻³)	5,5 ± 0,2	4,0 ± 1,3
Cu (mg dm ⁻³)	8,0 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Fe (mg dm ⁻³)	> 5	> 50
Mn (mg dm ⁻³)	> 50	< 2,5
Zn (mg dm ⁻³)	18,8 ± 0,6	1,1 ± 0,1
CTC _{pH7} (cmolc dm ⁻³)	16,7 ± 0,3	5,2 ± 0,1
CTC _{efetiva} (cmolc dm ⁻³)	10,8 ± 0,3	1,5 ± 0,1
Saturação por bases (%)	64,2 ± 4,2	22,2 ± 3,3
Argila (g kg ⁻¹)	35,5 ± 14,1	4,15 ± 2,2
Silte (g kg ⁻¹)	33,0 ± 15,6	2,05 ± 1,4
Areia (g kg ⁻¹)	31,5 ± 1,4	93,8 ± 4,2
pH – Água 1:1	5,4	4,5 ± 0,1
CRA (100%)	47,3 ± 1,3	31,6 ± 1,1

Valores expressos em média ± desvio padrão, n = 2. MO = matéria orgânica; CTC = Capacidade de troca de cátions; CRA = Capacidade de retenção de água.
Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

2.3 SUBSTÂNCIA TESTE E CONCENTRAÇÕES

Os ensaios foram realizados com a formulação comercial de um inseticida para o tratamento químico de sementes (Inside FS[®]), o qual possui 600 g de clotianidina L⁻¹. Para os ensaios, foram adotadas cinco concentrações (Tabela 2), as quais foram definidas a partir de dados encontrados na literatura (Bandeira *et al.*, 2021) e de ensaios preliminares (dados não apresentados).

A contaminação dos solos foi realizada por via líquida, onde o agrotóxico foi diluído em água destilada e aplicado nas amostras de solo identificadas previamente ao início dos ensaios. Após aplicação, os solos foram homogeneizados e introduzidos aos recipientes de teste. A solução de contaminação foi aplicada ao solo de modo a manter umidade próxima a 60% da capacidade de retenção de água (CRA) (ISO 11274, 1998). Para os tratamentos controles, utilizou-se o mesmo volume apenas com água destilada.

Tabela 2. Concentrações de clotianidina adotadas para os ensaios de toxicidade crônica com *S. curviseta* e *P. minuta* em Latossolo e Neossolo.

Espécie	Concentrações (mg kg ⁻¹)	
	Latossolo	Neossolo
<i>P. minuta</i>	0,18; 0,27; 0,40; 0,80; 1,60	0,08; 0,12; 0,18; 0,27; 0,40
<i>S. curviseta</i>	0,25; 0,40; 0,65; 1,00; 1,60	0,02; 0,03; 0,045; 0,065; 0,10

Nota: Concentrações expressas em mg de i.a. por kg de solo seco (mg kg⁻¹).

Fonte: Autor, 2022.

2.4 ENSAIOS DE TOXICIDADE CRÔNICA

Os ensaios de toxicidade crônica tiveram duração de 28 dias, conforme descrito na ISO 11267 (ISO, 2014), e foram realizados no Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó (SC). O estudo foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos mais controle positivo, para cada tipo de solo. Para ambos os solos testes utilizou-se cinco repetições por tratamento.

As unidades experimentais foram constituídas por um recipiente cilíndrico de vidro, com aproximadamente 4 cm de diâmetro e 7 cm de altura. Cada recipiente recebeu 30 g de solo úmido (controle ou contaminado). Posteriormente, 10 indivíduos com idade sincronizada de *P. minuta* foram adicionados aos recipientes e, nos ensaios com a espécie *S. curviseta*, foram adicionados 20 indivíduos. Em seguida, os recipientes foram fechados com tampas de pressão

e mantidos a em ambiente com temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12:12h (claro:escuro). Os colêmbolos foram alimentados com 2 mg de levedura (*S. cerevisiae*) no primeiro e no 14º dia do ensaio e, semanalmente, os recipientes foram abertos para realização de trocas gasosas e reposição da água perdida, pela diferença de peso.

Decorridos os 28 dias após do início do teste, o conteúdo de cada réplica foi transferido para um recipiente plástico, onde foi submerso em água juntamente com algumas gotas de tinta vermelha (para *P. minuta*) ou preta (para *S. cuviseta*) para promover a flutuação e contraste dos organismos sobreviventes. Os indivíduos adultos foram contabilizados de forma visual, no final do ensaio. Posteriormente, cada réplica foi fotografada com vista superior, em alta resolução, a fim de facilitar a contagem dos juvenis gerados por meio do software ImageJ®, conforme descrito por Alves *et al.* (2014).

2.5 ANÁLISE DE DADOS

2.5.1 Estimativas das Concentrações Efetivas

A distribuição normal dos resíduos e a homogeneidade de variâncias dos dados gerados, foram testadas pelos métodos de Shapiro Wilk e Bartlett, respectivamente, com a finalidade de verificar se o conjunto de dados atende aos pressupostos pela análise de variância (ANOVA). Quando atendidos os pressupostos, foi realizada uma ANOVA, seguida pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$), para comparar as diferenças no número de juvenis gerados entre as concentrações testadas com o controle.

Estes resultados permitiram determinar a menor concentração com efeito observado (LOEC) e concentração sem efeito observado (NOEC). Além disso, através de modelos de regressão não lineares descritos pela Environmental Canada (2007), foram estimados os valores de EC₁₀ e EC₅₀ (concentrações com efeitos em 10 e 50% da população, respectivamente). As análises foram realizadas no software Statistica 7.0®.

2.5.2 Risco Ecológico

O risco ecológico da clotianidina para os organismos foi calculado baseando-se em protocolos da European Commission (EC, 2003), que leva em consideração o quociente de risco (QR). O quociente de risco (equação 1), foi calculado pela razão entre a concentração prevista no ambiente (PEC) e as concentrações sem efeito tóxico potencial (PNEC), que leva

em consideração a concentração com efeitos em 10% da população (equação 2). Sendo um indicativo de risco ecológico quando $QR > 1$.

$$QR = PEC / PNEC \quad (\text{equação 1}).$$

$$PNEC = EC_{10} / 100 \quad (\text{equação 2}).$$

A PEC é a concentração esperada no campo após o plantio de sementes tratadas com clotianidina, portanto, varia de acordo com a densidade da semeadura entre outros fatores. Para este estudo, o cálculo se baseou-se em uma cultura de milho com dosagem recomendada 210 g de i.a. (350 mL da formulação de Inside FS[®]) para 100 kg de sementes, bem como uma densidade de semeadura de 20 kg de sementes de milho por hectare. Portanto, sendo aplicados 42 g i.a. ha⁻¹, isso a uma profundidade de 5 cm, num Latossolo com densidade de 1,0 g cm⁻³ e Neossolo com densidade de 1,5 g cm⁻³. Foi considerando o tempo de meia vida da clotianidina (DT₅₀) no solo em 58 dias (SILVA *et al.*, 2020), e a interceptação do i.a. pelas plantas em 1,5% (ALFROD; KRUPKE, 2017). O cálculo da PEC se deu através do software ESCAPE[®].

Os valores estimados para as concentrações previstas no ambiente (PEC) para Neossolo e Latossolo foram iguais a 0,059 e 0,040 mg kg⁻¹, respectivamente.

3 RESULTADOS

3.1 VALIDAÇÃO DOS TESTES

Para os ensaios de toxicidade crônica realizados, os critérios estabelecidos pela ISO 11267 (ISO, 2014) foram atendidos para ambas espécies (*P. minuta* e *S. curviseta*), isto é, o número médio de juvenis no tratamento controle foi superior a 100, a mortalidade média dos organismos adultos foi inferior a 20% e o coeficiente de variação (CV) obtido nos tratamentos controles dos ensaios foi menor que 30%.

Os valores de pH para Latossolo e Neossolo no início do ensaio não se alteraram após a diluição da clotianidina em comparação ao controle. Os valores da umidade no início dos ensaios permaneceram próximos ao padrão recomendado, ou seja, entre 50 e 60% da CRA, estabelecido pela ISO (Tabela 3) (ISO, 2014).

Tabela 3. Valores de pH e umidade do solo (% de água) no início dos ensaios ecotoxicológicos realizados com as espécies *P. minuta* e *S. curviseta* para a avaliar a toxicidade de clotianidina em Latossolo e Neossolo.

Espécie	Solo	
	Latossolo	Neossolo
	Umidade (%)	

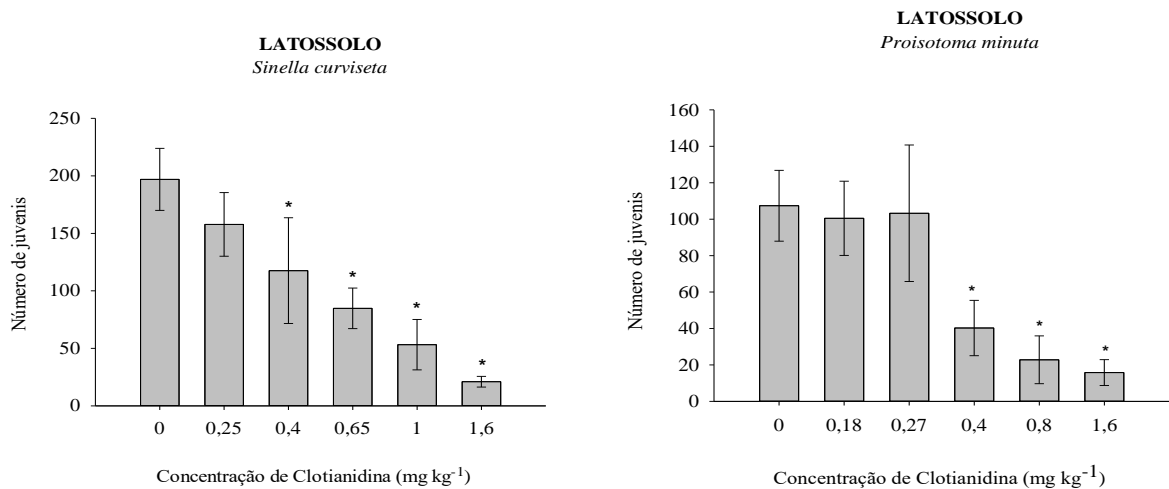
<i>P. minuta</i>	31,22 ± 0,04	19,95 ± 1,19
<i>S. curviseta</i>	33,69 ± 0,86	18,58 ± 0,25
pH		
<i>P. minuta</i>	5,20 ± 0,04	4,24 ± 0,01
<i>S. curviseta</i>	6,00 ± 0,10	4,18 ± 0,04

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

3.2 TESTES DE TOXICIDADE CRÔNICA

Nos ensaios de toxicidade crônica realizados em Latossolo, o efeito da clotianidina sobre a reprodução de colêmbolos para ambas espécies testadas foi de redução no número de juvenis gerados (Figura 1), sendo que, tanto para *S. curviseta* e *P. minuta* o valor de LOEC foi de 0,400 mg de i.a. por kg de solo seco (mg kg⁻¹). Os valores de NOEC foram de 0,250 mg kg⁻¹ para *S. curviseta* e 0,270 mg kg⁻¹ *P. minuta* (Tabela 4).

Figura 1. Número médio de juvenis de colêmbolos *P. minuta* e *S. curviseta* encontrados em Latossolo, após 28 dias de exposição a crescentes concentrações de clotianidina.

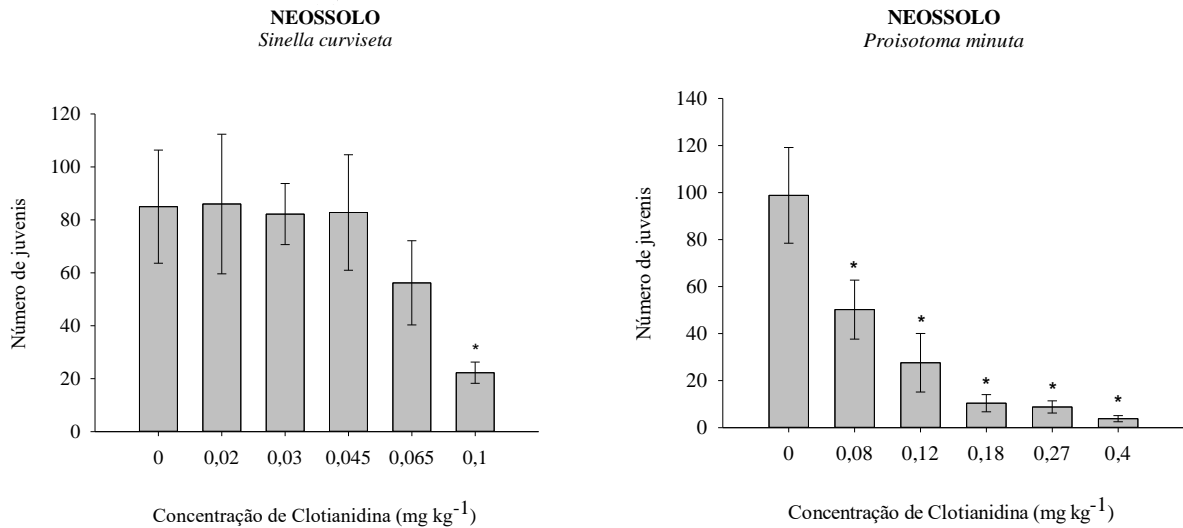


Nota: Asteriscos (*) indicam redução significativa do número médio de juvenis em relação ao controle ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Em Neossolo, também houve efeito significativo na redução do número de juvenis gerados (Figura 2) para ambas as espécies. No caso de *S. curviseta* o efeito sobre a reprodução ocorreu na quinta concentração testada, sendo o LOEC de 0,100 mg kg⁻¹ (Figura 2) e NOEC igual a 0,065 mg kg⁻¹. Para *P. minuta*, houve efeito a partir da primeira concentração testada (Figura 2), com um valor de LOEC igual a 0,080 mg kg⁻¹, e NOEC ≤ 0,080. Na tabela 4, estão sintetizados os valores de LOEC e NOEC para os ensaios realizados em Latossolo e Neossolo, com *P. minuta* e *S. curviseta*.

Figura 2. Número médio de juvenis de colêmbolos *P. minuta* e *S. curviseta* encontrados em Neossolo, após 28 dias de exposição a crescentes concentrações de clotianidina. Asteriscos (*) indicam redução significativa do número médio de juvenis em relação ao controle ($p < 0,05$).



Nota: Asteriscos (*) indicam redução significativa do número médio de juvenis em relação ao controle ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Tabela 4. Valores de LOEC e NOEC obtidos a partir dos testes crônicos com colêmbolos *P. minuta* e *S. curviseta*, em Latossolo e Neossolo.

Parâmetros	Concentrações (mg kg ⁻¹)			
	Latossolo		Neossolo	
	<i>P. minuta</i>	<i>S. curviseta</i>	<i>P. minuta</i>	<i>S. curviseta</i>
NOEC	0,270	0,250	≤ 0,080	0,065
LOEC	0,400	0,400	0,080	0,100

Nota: LOEC = menor concentração com efeito observado; NOEC = concentração sem efeito observado. Os valores estão expressos em mg de i.a por kg de solo seco (mg kg⁻¹).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Os ensaios realizados demonstram que a clotianidina foi mais tóxica em Neossolo para ambas espécies quando comparadas com Latossolo. Para colêmbolos da espécie *P. minuta* o i.a. testado foi 5,2 vezes mais tóxico em Neossolo do que em Latossolo, uma vez que apresentaram valores de EC₅₀ iguais a 0,081 (0,069 - 0,093) e 0,421 (0,294 - 0,549), respectivamente. Para a espécie *S. curviseta* o i.a. foi 6,4 vezes mais tóxico em Neossolo do que em Latossolo, com valores de EC₅₀ iguais 0,077 (0,065 - 0,090) e 0,495 (0,353 - 0,638), respectivamente.

Os resultados obtidos para os ensaios de toxicidade crônica com redução de 10% da população, demonstram que, em Neossolo, o i.a. apresenta maior toxicidade em relação ao Latossolo, sendo 2,5 vezes mais tóxico para *S. curviseta* e 6,7 vezes mais tóxico para *P. minuta* apresentando valores de EC₁₀ iguais a 0,048 e 0,034 mg kg⁻¹, respectivamente.

Os valores de EC₁₀ e EC₅₀ estimados demonstraram que, para os diferentes solos, houve diferença na sensibilidade colêmbolos para o i.a testado. Porém, quando analisada mesma matriz de solo, não foi possível identificar a existência de diferenças na sensibilidade para os organismos testados, pois os valores de EC_x foram semelhantes. Na tabela 5 estão descritos os valores de EC₁₀ e EC₅₀ estimados, bem como, os intervalos de confiança de 95%.

Tabela 5. Valores de EC₁₀ e EC₅₀ dos testes crônicos com colêmbolos *P. minuta* e *S. curviseta*, em Latossolo e Neossolo.

Parâmetros	Latossolo		Neossolo	
	<i>P. minuta</i>	<i>S. curviseta</i>	<i>P. minuta</i>	<i>S. curviseta</i>
EC ₁₀	0,226	0,120	0,034	0,048
	(0,130 - 0,322)	(0 - 0,321)	(0,018 - 0,051)	(0,024 - 0,072)
EC ₅₀	0,421	0,495	0,081	0,077
	(0,294 - 0,549)	(0,353 - 0,638)	(0,069 - 0,093)	(0,065 - 0,090)

Nota: Os valores estão expressos em mg de i.a por kg de solo seco (mg kg⁻¹). Entre parênteses estão apresentados os intervalos de confiança de 95%. EC₁₀ e EC₅₀ = concentrações com efeitos em 10 e 50% da população, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Os quocientes de risco (QR) calculados para as condições de teste indicaram que há risco significativo exposição das duas espécies, em ambos os solos. Sendo que para Neossolo o maior risco encontrado foi para espécie de *P. minuta*, apresentou QR igual a 116,18 e *S. curviseta* 82,21. Em Latossolo, foi observado efeito contrário sendo o maior risco para *S. curviseta* que apresentou QR igual a 49,33 e *P. minuta* 26,19. Entre solos testados, a clotianidina ofereceu maior risco para as espécies em Neossolo, apresentando maiores valores para o quociente de risco. Na Tabela 6 estão sintetizados os dados do quociente de risco para cada espécie em cada solo testado.

Tabela 6. Valores de concentração prevista no ambiente (PEC), concentração sem efeito tóxico potencial (PNEC) e quociente de risco (QR) para as espécies de colêmbolos *Proisotoma minuta* e *Sinella curviseta*, em Latossolo e Neossolo.

Parâmetro	Solo	
	Latossolo	Neossolo
PEC	0,059	0,040
PNEC		
<i>P. minuta</i>	0,00226	0,00034
<i>S. curviseta</i>	0,00120	0,00048
QR		
<i>P. minuta</i>	26,19	116,18
<i>S. curviseta</i>	49,33	82, 21

Nota: QR > 1, indica risco significativo

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo, observam-se os efeitos negativos da clotianidina na redução do número de juvenis de *P. minuta* e *S. curviseta* gerados nos ensaios de toxicidade crônica para os diferentes solos testados.

Os organismos edáficos são expostos aos efeitos tóxicos de contaminantes quando absorvem moléculas deste agrotóxico que estão dissolvidas nos poros d'água dos solos, a partir do tubo ventral que leva gotas de água presente em seus corpos até a boca (PEIJNENBURG *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2019). Quando absorvidos, geram uma série de mecanismos de ação tóxica sobre a fauna edáfica, pois, agrotóxicos como a clotianidina atuam no sistema nervoso central dos organismos, bloqueando os receptores nicotínicos pós-sinápticos da acetilcolina (nAChRs) e, como o i.a. não é desativado pela acetilcolinesterase, a molécula permanece ativa de forma persistente nos nAChRs (GALLO *et al.*, 2002; TENNEKES; SÁNCHEZ-BAYO, 2011). Portanto, causa hiperexcitabilidade do sistema nervoso central devido a transmissão de forma contínua e descontrolada de impulsos nervosos, gerando nos indivíduos sintomas como tremores, convulsões, paralisia, colapso do sistema nervoso central, podendo resultar em morte desses organismos (MATIAS, 2016).

Uma possível razão para os efeitos observados sobre a reprodução das espécies é que o estresse ocasionado pela intoxicação do i.a. gera nos organismos edáficos o aumento das taxas metabólicas, devido a alocação de energia e recursos em prol de sua sobrevivência (DAI *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2021). Como consequência, se tem os efeitos causados no sistema

reprodutivo dos organismos evidenciado pela redução de juvenis gerados em diversos estudos (WANG *et al.*, 2012; ALVES *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2020; TENG *et al.*, 2021).

As similaridades de toxicidade aqui encontradas (Tabela 5) têm como uma possível explicação os efeitos que o i.a. causa nos organismos de reprodução sexuada (*P. minuta* e *S. curviseta*) podendo comprometer a estratégia reprodutiva das espécies. Estudos relatam que os machos de ambas espécies, por meio de estímulos das fêmeas (através de contato entre antenas e/ou exalando feromônios), realizam a deposição de seus espermatozoides no solo/substrato, para que sejam coletados e seja feita a desova (WALDORF, 1971; 1974; GOLOSCHAPOVA; POTAPOV; CHERNOVA, 2004), logo, a ação do i.a. pode ter afetado a capacidade de reconhecimento dos estímulos sensoriais para ambos os sexos, resultando na redução da reprodução desses organismos.

Além disso, foi possível verificar que a toxicidade de clotianidina para as espécies alternativas é menor, comparada àquela observada na literatura para a espécie padrão (*F. candida*). Por exemplo, Ritchie *et al.* (2019), ao submeterem colêmbolos da espécie *F. candida* aos efeitos da clotianidina em solo natural arenoso similar ao deste estudo, estimaram valor de EC₅₀ igual a 0,069 (0,04-0,12) mg kg⁻¹. Silva *et al.* (2020) ao avaliar os efeitos da clotianidina sobre *F. candida* em matriz de solo natural padrão (LUFA 2.2), observaram um valor de EC₅₀ igual a 0,050 (0,05-0,06) mg kg⁻¹. Diferenças entre os estudos devem ser consideradas ao comparar as a sensibilidade entre as espécies deste estudo e da literatura. Ambos os estudos foram realizados com CRA em 45%, utilizando formulação diferente (Titan, Ritchie *et al.*, 2019) e o i.a. puro (De Silva *et al.*, 2020). Bandow *et al.* (2014), em seus estudos com as espécies *F. candida* e *S. curviseta* sob efeitos de pirimetanil em solo artificial (5% MO, 75% areia e 20% caulim), sob diferentes regimes de umidade (20, 50 e 70% da CRA) a 20°C, observou que a umidade desempenha fator significativo inibindo a reprodução dos colêmbolos, o autor ainda relata que nas condições impostas pelo ensaio a espécie *F. candida* seria mais sensível em relação a *S. curviseta*. Logo, diferenças na condução dos ensaios podem justificar os valores entre os estudos mencionados e os resultados aqui mostrados, indicando possível sensibilidade da espécie padrão em relação as alternativas.

Graciani (2021), obteve valor de EC₅₀ igual 0,031 (0,02-0,04) mg kg⁻¹ para os mesmos parâmetros deste estudo: Neossolo (2,2% MO, 4,1% argila, pH 4,4), formulação comercial Inside FS e 60 % da CRA. Considerando que as características dos solos utilizados nos estudos acima citados, como porcentagem de areia, MO e CTC, serem similares aos do nosso estudo em Neossolo é possível realizar uma comparação entre os valores de EC₅₀ da literatura para *F. candida* com os nossos para as espécies alternativas. Portanto, considerando que os valores de

EC₅₀ encontrados por esses autores são menores do que valores de EC₅₀ encontrados neste estudo para Neossolo (especialmente aqueles de Graciani, 2021, com o mesmo tipo de solo), é possível que as espécies alternativas sejam menos sensíveis à clotianidina em solos arenosos, quando comparada à espécie padrão (*F. candida*), sendo necessários maiores estudos para entendimento da interação entre as espécies e os solos testados.

Colêmbolos da espécie *F. candida*, estariam mais sensíveis a contaminantes ao se reproduzir por partenogênese, pois esse processo de clonagem do seu próprio DNA geraria pouca variabilidade genética prejudicando sua sobrevivência (DIOGO, 2007), podendo ser essa uma possível explicação para a diferença de toxicidade encontrada entre as espécies alternativas e a padrão. Por outro lado, Chahartaghi (2009) A autora relata, que ao fim do experimento não foram identificadas diferenças significativas nas densidades populacionais e, que essas espécies provavelmente respondam de forma similar aos estresses ocorridos no ambiente ao realizar estudos de esgotamento de recursos, entre espécies de colêmbolos de diferentes estratégias reprodutivas (partenogênese vs. sexuada) em microcosmos, por 44 semanas. Portanto, as considerações quanto a diferenças entre modo de reprodução e os efeitos i.a. nessas populações devam ser feitas com cautela, já que não é possível inferir que a toxicidade está relacionada a diferenças no modo de reprodução de colêmbolos.

Em solos artificiais, Bandeira *et al.* (2021) avaliaram os efeitos do i.a. sobre colêmbolos das espécies *F. candida*, *P. minuta* e *S. curviseta* em SAT (de característica arenosa) e observaram efeitos na reprodução dos organismos. Os autores estimaram valores de EC₅₀ iguais a 0,15 (0.12–0.18), 0,11 (0.04–0.18) e 0,28 (0.22–0.34) mg kg⁻¹, respectivamente. Os autores também verificaram maior sensibilidade da espécie padrão, em relação à uma das espécies alternativas (*S. curviseta*), embora não tenha ocorrido diferença significativa entre *F. candida* e *P. minuta*. O que pode indicar que, embora a espécie padrão seja geralmente mais sensível, a diferença na sensibilidade pode ter relação com o a forma que cada espécie habita o solo e/ou ao tipo de solo onde foram expostas à clotianidina.

Por habitar diferentes profundidades do solo, espécies epiedáficas (*S. curviseta*) e euedáficas (*P. minuta* e *F. candida*) podem estar expostas ao i.a. de diferentes formas. Colêmbolos das espécies *F. candida* e *P. minuta*, por habitar o interior solo estariam em maior contato com a água presente nos poros e, conseqüentemente, mais suscetível aos efeitos tóxicos do i.a. em comparação com a *S. curviseta* (FOUNTAIN; HOPKING, 2004). Além disso, espécies epiedáficas que habitam a superfície solo (*S. curviseta*), podem apresentar baixa permeabilidade cuticular que dificulta a entrada/saída água em seu organismo, em relação a espécies euedáficas (KÆRSGAARD *et al.*, 2004). Considerando que a cutícula representa uma

barreira biológica de entrada do i.a. solubilizada na água, espécies como *F. candida* e *P. minuta* seriam mais sensíveis aos efeitos da clotianidina.

As diferenças de toxicidade entre os solos (para ambas as espécies) observadas neste estudo provavelmente estão relacionadas ao contraste na textura e MO dos solos testados. Sendo que em Latossolo, por possuir maiores quantidades de MO (3,2%) e argila (59%), permite que a molécula do i.a. contaminante seja adsorvida às partículas minerais do solo, diminuindo a quantidade de agrotóxico em contato com os colêmbolos, o que resulta em uma menor toxicidade (GAMA, 2020). O Neossolo, por outro lado, é um solo arenoso que possui baixa CTC, menores teores de MO (2,2%) e argila (4,15%). Logo, este tipo de solo pode contribuir para a maior toxicidade, pois, devido as suas características apresenta baixa capacidade adsorver o contaminante na fase sólida do solo, implica em menor retenção de poluentes e, portanto, o i.a. estaria mais biodisponível na solução do solo causando uma maior toxicidade para ambas espécies de colêmbolos (SEGAT, 2015; BERNADINO, 2021). Portanto, a principal razão para a diferença de toxicidade entre Latossolo e Neossolo para as espécies *P. minuta* e *S. curviseta* está nas características adsorptivas de ambos, às quais estão diretamente ligadas à textura, teor de MO, entre outros. O mesmo efeito foi observado por Bandeira *et al.* (2020) ao submeter colêmbolos *F. candida* a imidacloprid em solos tropicais contrastantes, evidenciando maior toxicidade para Neossolo.

As concentrações residuais de clotianidina em solos agricultáveis foram relatadas em diversos estudos. Zhang *et al.* (2018), ao estimar a concentração dos resíduos do i.a. em solos de plantação de arroz encontraram valores de 0,14 mg kg⁻¹. Os mesmos autores, ao analisar a concentração residual do mesmo i.a. em solos de plantações de repolhos na China, observaram valores variando entre 0,087 e 0,581 mg kg⁻¹ após 30 dias da aplicação inicial. Jones *et al.* (2014) encontraram valores de concentrações residuais inferiores a 0,1 mg kg⁻¹ após 3 anos das aplicações iniciais (de 30 a 100 g de i.a. ha⁻¹), em solos agrícolas na Inglaterra. Outros estudos que corroboram esta discussão, os quais apontam que a clotianidina pode persistir no ambiente durante longos períodos, sendo que a meia-vida do i.a. no campo pode variar de 277 a 1.386, chegando a 6.931 dias em testes laboratoriais (REXRODE *et al.*, 2003; DE CANT; BARRETT, 2010).

Portanto, considerando as concentrações residuais de clotianidina citadas acima ocorresse em Neossolo, as populações de *S. curviseta* e *P. minuta* estariam sob alto risco, já que os valores residuais seriam superiores as concentrações previstas no ambiente (PEC) aqui calculadas, as quais demonstraram neste estudo que pode haver um risco significativo da

molécula para os colêmbolos em solos agrícolas. Vale ressaltar que os dados aqui obtidos e discutidos levam em consideração uma única aplicação do i.a. para tratamento de sementes de milho. De acordo com Bandeira *et al.* (2021), ao estimar uma curva de sensibilidade (SSDs) para diferentes organismos edáficos, entre eles diferentes espécies de colêmbolos (*F. candida*, *P. minuta* e *S. curviseta*), em solo artificial tropical, uma única aplicação de clotianidina seria suficiente para gerar o risco significativo do i.a. para os colêmbolos no solo. Esses resultados reforçam a importância de se avaliar o risco ambiental dos agrotóxicos para diferentes espécies e tipos de solo, de modo a não subestimar a toxicidade/risco de seus resíduos no solo para os organismos edáficos.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a clotianidina causou efeito tóxico sobre as espécies *P. minuta* e *S. curviseta* em solos naturais tropicais distintos, reforçado pela redução na reprodução para os diferentes solos testados. Porém, para o mesmo tipo de solo, os efeitos foram semelhantes entre as espécies. Além disso, a clotianidina apresentou risco de toxicidade para ambas espécies, em especial para a *P. minuta* em Neossolo.

6 REFERÊNCIAS

ALFORD, A.; KRUPKE, C. H. Translocation of the neonicotinoid seed treatment clothianidin in maize. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–19, 2017.

ALMEIDA, V. E. S. *et al.* Use of genetically modified crops and pesticides in Brazil: growing hazards. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 10, p. 3333 – 3339, 2017. doi: <https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17112017>

ALVES, P. R. L. *et al.* Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 105, 65-71, 2014. doi: [10.1016/j.ecoenv.2014.04.010](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.010)

ANDRÉA, M. M. **Contaminação do solo por pesticidas**. Biológico, Embrapa, 1998.

ANVISA; **C64 Clotianidina**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sectorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4257json-file-1/view> Acesso em: 26 fev. 2022.

ARAIAS-ESTÉVEZ, M. *et al.* The mobility and degradation of pesticides in soils and pollution of groundwater resources. **Agriculture Ecosystems & Environment**. n. 123,247-260, 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.07.011>

BANDEIRA, F. O. *et al.* Toxicity of imidacloprid to the earthworm *Eisenia andrei* and collembolan *Folsomia candida* in three contrasting tropical soils. **Journal of Soils Sediments**. Germany: Springer, p.1997-2007, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02538-6>

BANDEIRA, F. 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. 1-10 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126491>

BANDOW, C; KARAU, N; RÖMBKE, J; Interactive effects of pyrimethanil, soil moisture and temperature on *Folsomia candida* and *Sinella curviseta* (collembola). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 81, n. 3. P. 22-29, 2014. doi: at <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.04.010>

BARTLETT, A. J. *et al.* Acute and chronic toxicity of neonicotinoid and butenolide insecticides to the freshwater amphipod, *Hyaella azteca*. **Ecotoxicology and Environment Safety**, v. 175, P. 215-223, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.038>

BERNARDINO, M. M. *et al.* Ecotoxicity of imidacloprid to soil invertebrates in two tropical soils with contrasting texture. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 22, p. 27655-27665, 2021. doi: [10.1007/s11356-021-12562-0](https://doi.org/10.1007/s11356-021-12562-0)

BORTOLUZZI, E. C. *et al.* Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 881 – 887, Campina Grande, 2006. doi: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662006000400015>

BRAGA, A. R. C. *et al.* Global health risks from pesticide use in Brazil. **Nature Food**, 2020.

BUCH, A. 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, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651316300094>. Acesso em: 9 dez. 2021.

CALLAHAN, S. T. *et al.* Effects of copper exposure and increased temperatures on Collembola in western Washington, USA. **City and Environment Interactions**, v. 4, p. 1-7, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cacint.2020.100026>

CHAHARTAGHI, M. *et al.* Resource depletion and colonization: a comparison between parthenogenic and sexual collembola species. **Pedobiologia**. n. 52, p. 181-189, 2009. doi: <http://doi.org/10.1016/j.pedobi.2008.08.003>

CHEN, C. G. *et al.* Structure and function of the ventral tube of the cover springtail *Sminthurus viridis* (Collembola: Sminthuridae). **Scientific Reports**. v.9, p. 1-7, 2019. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37354-4>

- DAI, P. et al. Chronic toxicity of clothianidin, imidacloprido, chlorpyrifos, and dimethoate to *Apis mellifera* L. larvae reared in vitro. *Pest Management Science*. v. 75. n.1, p. 29-36, 2019. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.5124>
- DE CANT, J.; BARRETT, M. **Revised assessment for clothianidin registration of prosper T400 seed treatment on mustard seed (oilseed and condiment) and poncho/votivo seed treatment on cotton**. EPA, Washington, 2010.
- DHINGRA, O. D. Importância e Perspectivas do Tratamento de Sementes no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.7, n.1, p. 103-111. 1985.
- DIOGO, J. B. et al. Tolerance of genetically characterized *Folsomia candida* Strains to phenmedipham exposure. *Journal of Soils and Sediments*, v.7, p. 388-392, 2007. doi: <http://dx.doi.org/10.1065/jss2007.09.252>
- 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.8 183 p. 5088–5097. 2015. doi <https://doi.org/10.1021/es506141g>
- EC. European Commission. Technical Guidance Document on Risk Assessment. In Support of Commission Directive 93/67/EEC. **Commission Regulation** (EC). No 1488/94 and Directive 98/8/EC Joint Research Center, 2003
- EFSA (European Food Safety Authority); Peer review of the pesticide risk assessment for the active substance clothianidin in light of confirmatory data submitted. **ESFA Journal**, v. 14, n.11, 2016. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4606> Acesso em: 15. fev.2022.
- ENVIRONMENTAL CANADA. **Guidance Document on Statistical Methods for Environmental Toxicity Test**. Environmental Protection Series, EPS 1/RM/46, Canada, Ottawa, 2007.
- EPA (United States Environmental Protection Agency). **Proposed Interim Registration Review Decision Case Numbers 7620 and 7614. Clothianidin and Thiamethoxam**. 2020.
- FERNANDES, P. H. R.; ÁVILA, C. J. Efeito residual de inseticidas aplicados nas sementes de milho visando o controle do percevejo barriga-verde. **In: Embrapa Agropecuária Oeste- Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO NACIONAL [DE] MILHO SAFRINHA, 13. Maringá. 2015.
- FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. A comparative study of the effects of metal contamination on collembola in the field and in the laboratory. **Ecotoxicology**. n. 13, p. 573-587, 2004. doi: <https://doi.org/10.1023/B:ECTX.0000037194.66321.2c>
- GALLO, D. et al. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: Fealq, 2002.
- GAMA, M. A. P. et al. Rochagem e remineralização de solos: Fertilidade do solo. **Especialização em rochagem e remineralização dos solos**. Universidade Federal do Pará. Belém, 2020.

GOLOSCHAPOVA, N. P.; POTAPOV. M. B; CHERNOVA. N. M; Sexual behaviour in isotomidae (Collembola). *Pedobiologia*. n. 50, p. 111-116, 2004. doi: <http://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.12.006>

GOULSON, D. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, v. 50, n. 4, p. 977–987, 2013. doi: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12111>

GRACIANI, S. T; **Influência da temperatura atmosférica e da redução da umidade do solo sobre o potencial tóxico de clotianidina para colêmbolos *Folsomia candida*, em Neossolo**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Ambiental e Sanitária) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, 2021. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/5165> . Acesso em: 10.05.2022.

GUO, Y. *et al.* Bio-based clothianidin-loaded solid dispersion using composite carriers to improve efficacy and reduce environmental toxicity. *Pest Management Science*. v. 77, 5246-5254, 2021. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.6567>

IBAMA; **Relatório de comercialização de agrotóxicos**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#> Acesso em: 18. fev. 2022.

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

ISO 11274. International Organization for Standardization. Soil quality: Determination of water-retention characteristic – laboratory methods. Genève, Switzerland, 1998.

JIANG, J. *et al.* Influence of lethal and sublethal exposure to clothiadin on the seven-spotted lady beetle, *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Conccinellidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 208 - 213, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.076>

JONES, A.; HARRINGTON, P; TURNBULL, G. Neonicotinoid concentrations in arable soils after seed treatment applications in preceding years. **Pest Management Science**. n. 70, p. 1780-1784, 2014. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3836>

KÆRSGAARD, C. W. *et al.* The importance of cuticular permeability, osmolyte production and body size for the desiccation resistance of nine species of collembola. *Journal of Insect Physiology*. n. 50, p. 5-15, 2004. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2003.09.003>

LAVELLE, P. Diversity of soil fauna and ecosystem function. **Biology International**. n. 33, p. 1-16, 1996.

MACHADO, J. da C. *et al.* **Tratamento de sementes no controle de fitopatógenos e pragas**. Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2006.

MALONEY, E. M. *et al.* Can exposure to imidacloprid, clothianidin, and thiamethoxam mixtures exert greater than additive toxicity in *Chironomus dilutus*?. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 156, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.003>

- MATIAS, R. S. **Como agem os inseticidas nos insetos**. 2016. Disponível em: <http://www.ifcursos.com.br/sistema/admin/arquivos/17-38-11-c0m0agem0sinseticidasn0sinset0s.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2022.
- MATTHEWS, G. A. **Pesticides: health, safety and the environment**, Blackwell Publishing, Oxford, p. 243, 2006.
- MERTZ, L. M; HENNING, F. A; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja, **Ciência Rural**, v.39, n.1, p. 13-18, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000100003>
- NEVES, P. D. M. *et al.* Intoxicação por agrotóxicos agrícolas no estado de Goiás, Brasil, de 2005 – 2015: análise dos registros nos sistemas oficiais de informação. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 7, p. 2743 – 2754, 2020. doi: <https://doi.org/10.1590/1413-81232020257.09562018>
- OLIVEIRA FILHO, L. C. I. *et al.* **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações com collembola e isopoda**. Florianópolis: UDESC, 2018.
- PEIJNENBURG, W. *et al.* Evaluation of exposure metrics for effect assessment of soil invertebrates. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. n. 42, v.17, p. 1862-1893, 2012. doi: <http://doi.dx.org/10.1080/10643389.2011.574100>
- REXRODE, M. *et al.* **EFED risk assessment for the seed treatment of clothianidin 600FS on corn and canola (PC code 044309; DP barcode: D278110)**. EPA, Washington, 2003.
- 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**. v. 38, n. 10, p. 801-805, 2019. oi: <https://doi.org/10.1002/etc.452>
- SEGAT, J. C. *et al.* Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 122, p. 91–97, 2015. doi: <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.07.017>
- SERRA, L. S. *et al.* Revolução verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. **Revista do CEDS**, v.1, n. 4, p. 2-25, 2016.
- SILVA, C. L. *et al.* Toxicity in neonicotinoids to *Folsomia candida* and *Eisenia andrei*, **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 39, p. 548-555 2020. doi: <https://doi.org/10.1002/etc.4634>
- SILVA, C. L. *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. 2-11, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128245>
- SONG, Y. *et al.* Comparative ecotoxicology of insecticides with different modes of action to *Osmia excavata* (Hymenoptera: Megachilidae). **Ecotoxicology and Safety**, v. 212, p. 1-7, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112015>
- SORIANO, M. C. H. **Soil process and current trends in quality assessment**. London, IntechOpen, 2013.

STEFFEN, G. P. K.; STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I. Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos. **TECNO-LÓGICA**, v. 15, n. 1, p. 15 – 21, Santa Cruz do Sul, 2011. doi: <https://doi.org/10.17058/tecnolog.v15i1.2016>

TEDESCO, M. J. *et al* Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147p., 1995. (Boletim Técnico, 5)

TENNEKES, H. A.; SÁNCHEZ-BAYO, F. Time-dependent toxicity of Neonicotinoids and other toxicants: implication for a new approach to risk assessment. **Journal of Environmental & Analytic Toxicology**. v.4, p. 1-8, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0525.S4-001>

TENG, M. *et al*. Combined toxicity of chlorpyrifos, abamectin, imidacloprid, and acetamiprid on earthworms (*Eisenia fetida*), **Research Square**, p. 1-18, 2021. doi: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-794675/v1>

VEIGA, M. M. Agrotóxicos: eficiência econômica e injustiça socioambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, p. 145 – 152, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232007000100017>

XU, J. *et al*. Evaluation of growth and reproduction as indicators of soil metal toxicity to the Collembolan, *Sinella curviseta*. **Insect Science**, v. 16, 2009. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.00254.x>

WALDORF, E. S. Sex pheromone in the springtail, *Sinella curviseta*. **Environmental Entomology**. vol. 3. n. 6. 1974. doi: <https://doi.org/10.1093/ee/3.6.916>

WALDORF, E. S. Ovoposition Inhibition in *Sinella curviseta* (Collembola: Entomobryidae). **Transaction of the American Microscopical Society**. vol. 90, n.3, p.314-325. 1971. doi: <https://doi.org/10.2307/3225191>

WANG, Y. *et al*. Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm *Eisenia fetida*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 79, p. 122-128, 2012. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.12.016>

WANG, Y. *et al*. Binary and ternary toxicological interactions of clothianidin and eight commonly used pesticides on honey bees (*Apis mellifera*). **Ecotoxicological and Safety**, v. 223, p. 1-9, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112563>

YUSÀ, V. *et al*. Sampling and analysis of pesticides in ambient air. **Journal of Chromatography A**, p. 2972 – 2983, 2009. doi: <http://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.02.019>

ZHANG, P. W. *et al*. Dissipation and residue of clothianidin in granules and pesticide fertilizers used in cabbage and soil under field conditions. **Environmental Science and Pollution Research**. n. 25, p. 27-33, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7736-4>