AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRID SOBRE FOLSOMIA CANDIDA, EM DOIS TIPOS DE SOLO

William Eduardo dos Santos [1]

Paulo Roger Alves Lopes [2]

Resumo:

No Brasil, destaca-se o tratamento químico de sementes com imidacloprid, um inseticida sintético do grupo dos neonicotinóides que está entre os mais utilizados para proteger plantações. Entretanto, este inseticida já teve seu uso proibido em alguns países da Europa, principalmente pelo negativo efeito causado em organismos não-alvo, comprometendo importantes serviços ecossistêmicos. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial tóxico do ingrediente ativo (i.a.) imidacloprid sobre a sobrevivência/reprodução de colêmbolos da espécie Folsomia candida em solo natural brasileiro (SN) e em solo artificial tropical SAT), analisando a influência do solo natural na toxicidade do inseticida e a viabilidade de seu uso em ensaios ecotoxicologicos. Os ensaios de toxicidade crônica foram realizados de acordo com a ISO 11267 (ISO, 2014), em ambiente de temperatura e luminosidade controladas. O SAT utilizado nos bioensaios é constituído por 75% de areia fina, 20% de argila caulinítica e 5% de pó de casca de coco, enquanto que o solo natural (SN) consiste em um Latossolo de textura argilosa coletado em uma área de floresta sem histórico de contaminação, em Chapecó. Foram adotadas concentrações de 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0 mg de i.a kg-1 de solo seco que foram aplicadas ao solo via solução com água destilada, imediatamente antes do início do teste. Em recipientes contendo 30g de solo umido com as devidas concentrações. Em cada unidade experimental foram inseridos 10 colêmbolos sincronizados de idade entre 10 e 12 dias, que foram alimentados com levedura granulada no início do ensaio. A umidade do solo de cada unidade experimental foi mantida em 60% da CRA. Após 28 dias do início do ensaio, o conteúdo dos recipientes foi imerso em água destilada para forçar a flutuação dos indivíduos sobreviventes. Gotas de tinta foram adicionadas foram adicionadas contagem dos juvenis gerados, utilizando o software ImageJ. As médias dos tratamentos foram comparadas com o controle através do teste de Dunnet. As concentrações que causam redução de 50% na reprodução em relação ao controle (EC50) foram estimadas através do software Statistica 7.0®. O teste em SAT, a reprodução foi reduzida a partir da concentração de 0,25 mg kg-1, e o valor de EC50 estimado foi de 0,41(0,30 - 0,53). Por outro lado, a inibição na reprodução em SN foi observada a partir de 0,50 mg kg-1, e o EC50 foi de 0,80 (0,53 - 1,06). Os maiores valores das concentrações de efeito obtidas para o Solo Natural.

Palavras-chave: Ecotoxicologia, Imidacloprid, Solo Natural, Reprodução

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRID SOBRE FOLSOMIA CANDIDA, EM DOIS TIPOS DE SOLO

[1] Aluno de graduação. william.legresy@gmail.com. Autor principal

[2] Docente. paulo.roger.lopes@gmail.com. Orientador

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRID SOBRE *FOLSOMIA CANDIDA,* EM DOIS TIPOS DE SOLO

1 INTRODUÇÃO

O principal modelo de agricultura adotado no Brasil baseia-se no uso intensivo de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças em cultivos agrícolas. Atualmente, o país é o maior consumidor de pesticidas no mundo (NUNES et al, 2016).

Entre as práticas utilizadas para proteger os cultivos agrícolas, está o tratamento químico de sementes com imidacloprid, um inseticida sintético do grupo dos neonicotinóides que está entre os mais utilizados no procedimento. Apesar de não haver regulamentações internacionais contra o seu uso, alguns países da Europa já restringiram seu uso devido aos seus efeitos sobre os ecossistemas (WATTS, 2011).

A dinâmica dos agrotóxicos no meio ambiente é complexa, podendo estes atingir o solo e as águas (BRASIL, 2017). Por isso, não só os organismos alvo são afetados, mas também algumas espécies de invertebrados essenciais para a manutenção do solo, as quais podem ter suas funções ecológicas impactadas (CARDOSO E ALVES, 2012).

Neste sentido, os testes ecotoxicológicos com a matriz solo surgiram da necessidade de se prever os efeitos adversos causados por xenobióticos em espécies não-alvo dos ecossistemas terrestres (HOFFMAN et al., 2002). A avaliação da contaminação dos solos através destes testes já é uma prática reconhecida internacionalmente, e sua utilização é crescente, principalmente porque permitem identificar previamente os impactos dos contaminantes no solo através dos efeitos sobre sua biota (ALVES E CARDOSO, 2016).

Para tanto, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial tóxico de imidacloprid sobre a sobrevivência e reprodução de colêmbolos da espécie *Folsomia candida* em solo natural e em solo artificial, bem como analisar a influência deste solo natural na toxicidade do inseticida e sua a viabilidade de seu uso em ensaios ecotoxicológicos.

2 METODOLOGIA

Organismo e Condições de Teste

Foram utilizados colêmbolos da espécie *F. cândida*, os quais foram mantidos em laboratório conforme as recomendações da norma ISO 11267 (ISO, 2014).

Para os testes de toxicidade crônica, foram utilizados 10 indivíduos com idade sincronizada entre 10 a 12 dias. Os testes foram desenvolvidos em sala climatizada, com temperatura 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h.

Solos e Substância Teste

O solo artificial tropical (SAT) utilizado no ensaio, consistiu em uma adaptação do solo recomendado pelas normas OECD nº 207 (GARCIA, 2004) cuja composição foi de 75% de areia fina, 20% de argila caulinítica e 5% de pó de casca de coco. O valor do pH do SAT foi 7,0.

A amostra de solo natural (SN) foi coletada em área de floresta sem histórico de aplicação de agrotóxicos, da Universidade Federal da Fronteira Sul – *campus* Chapecó. O solo SN foi seco ao ar, peneirado em malha de 2 mm e armazenado em temperatura ambiente até o momento da contaminação. O solo SN teve pH igual a 4,0.

O contaminante utilizado foi a formulação comercial do inseticida de tratamento de sementes Much 600 FS®, que contém o i.a. imidacloprid. Imediatamente antes do início do ensaio, as concentrações do produto foram misturadas aos solos (natural ou SAT) através de solução aquosa (formulação comercial + água destilada), de forma que a umidade do solo fosse mantida em aproximadamente 60% de sua capacidade de retenção de água. Para cada solo, utilizaram-se as concentrações crescentes de 0,0 (controle); 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0 mg

de ingrediente ativo (i.a.) kg-1 de solo seco, as quais foram baseadas em ensaios preliminares e na literatura (ALVES et al., 2013; ALVES et al., 2014).

Ensaio de Toxicidade Crônica

Os ensaios de toxicidade crônica foram realizados conforme ISO 11267 (ISO, 2014). Em recipientes cilíndricos de plástico, com tampas perfuradas, inseriu-se 30 g de solo (SN ou SAT) úmido (controle/contaminado). Foram utilizadas cinco réplicas por tratamento.

A duração total do ensaio foi de 28 dias. Os organismos foram alimentados no início e após 14 dias com aproximadamente 2 mg levedura granulada seca por réplica. A umidade do solo foi corrigida. semanalmente, adicionando-se de 3 a 5 gotas de água destilada.

Ao final do ensaio, o solo de cada réplica foi submerso em água para forçar a flutuação dos sobreviventes, onde foram adicionadas gotas de tinta preta para facilitar a contagem dos colêmbolos. Os indivíduos adultos foram contados visualmente e, para a contagem dos juvenis, as réplicas foram fotografadas e avaliadas conforme descrito por Alves et al. (2014).

0

Análise dos Resultados

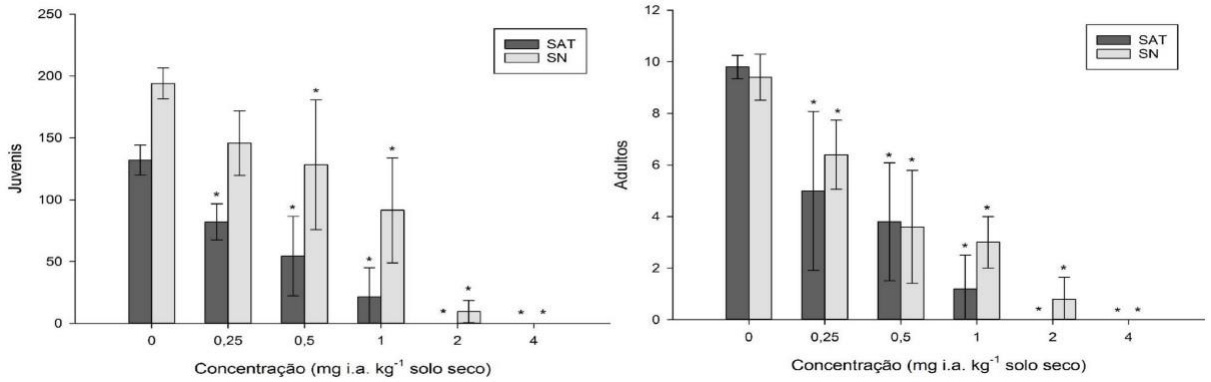
Os resultados dos ensaios foram testados através de análise de variância (ANOVA) e, quando detectadas diferenças significativas ($p < 0,05$), as diferenças entre as médias dos tratamentos (concentrações) e o controle foram testadas pelo teste de *Dunnett*, por meio do software R (versão 3.3.2), a fim de determinar os valores de LOEC (menor concentração testada com efeito observado) e NOEC (maior concentração testada sem efeito observado).

Por meio de um modelo de regressão não-linear logístico, no software Statistica 7.0, foram estimados os valores das concentrações do inseticida que causaram efeito em 20% (EC20) e 50% (EC50) da reprodução dos colêmbolos.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Todos os critérios de validação do ensaio de toxicidade crônica foram atendidos no solo artificial tropical e solo natural, conforme recomendado pela ISO 11267 (ISO, 2014). Em ambos os solos, quando a espécie *F. candida* foi submetida às concentrações de imidacloprid, observou-se redução do número de juvenis gerados (Figura 1e), bem com houve mortalidade dos colêmbolos adultos (Figura 1d). Em SAT e SN, os valores de LOEC para a redução do número de juvenis foram 0,25 e 0,5 mg i.a. kg^{-1} solo seco, respectivamente (Figura 1e). Para a mortalidade, os valores de LOEC em SAT e SN ocorreram ainda na menor concentração testada de 0,25 mg i.a. kg^{-1} (Figura 1d).

Figura 1 – Número médio *F.candida* juvenis e adultos em Solo Artificial Tropical (SAT) e Solo Natural (SN). (*) indica a redução significativa do número de juvenis, comparado ao controle ($p<0,05$).



Fonte: Santos,2018.

O resumo dos demais parâmetros ecotoxicológicos referentes às concentrações de efeito são apresentados na Tabela 1.

Solo	Solo	Horizonte	Profundidade (cm)
Mortalidade	Artificial	NOEC	<0,25
		LOEC	0,25
	Natural	NOEC	<0,25
		LOEC	0,25
Reprodução	Artificial	NOEC	<0,25
		LOEC	0,25
		EC_{20}	0,24 (0,14 -0,34)*
		EC_{50}	0,41 (0,30-0,53)*
	Natural	NOEC	0,25
		LOEC	0,5
		EC_{20}	0,44 (0,22 – 0,66)*
		EC_{50}	0,80 (0,53 – 1,06)*

*Limites de confiança (inferiores e superiores) dos valores estimados.

Fonte: Santos, 2018.

Os valores de NOEC, LOEC, EC_{20} e EC_{50} encontrados no ensaio com solo natural para efeitos de reprodução foram aproximadamente duas vezes maiores do que o ensaio com SAT, indicando maior toxicidade do i.a. no solo artificial. O efeito menos intenso de imidacloprid em solo natural pode estar relacionado a composição da matéria orgânica diferenciada do solo e o maior teor da fração argila, associada à mineralogia dessa fração que apresenta alto percentual de óxidos de ferro e alumínio (Tabela 2).

Tabela 2. Caracterização físico-química do solo artificial tropical (SAT) e do solo natural (SN).

Parâmetro	Solo Natural	Solo Artificial
pH	4,0	7,0
Umidade	18%	-
CRA	45%	-
MO	5,1%	5,0%
Areia	17%	75%
Silte	34,4%	-
Argila	48,6%	20%

*Valor referente à umidade em que se encontrava em campo.

Uma série de estudos similares já realizados (ALVES et al, 2014; DE LIMA E SILVA et al., 2017) não apresentaram um consenso com relação aos resultados dos parâmetros ecotoxicológicos para reprodução, isto por que muitas outras variáveis podem ter influência nos resultados, tais como as condições laboratoriais (ex. temperatura), a origem dos organismos e as características dos solos testados.

No caso do pH, Cox et al. (1998) concluíram que a sorção do imidacloprid não depende deste parâmetro. Com relação às características granulométricas, expressas em tores de areia e argila, Van Gestel (2012) afirma que o solo artificial se assemelha a um solo arenoso, ao contrário do solo natural, cuja composição apresenta 48,6% de argila, favorecendo a retenção de poluentes e diminuindo as quantidades de substância disponível para absorção e toxicidade dos organismos.

De acordo com Felix et al. (2007), a MO caracteriza uma das propriedades químicas mais importantes no entendimento da dinâmica dos poluentes no solo, já que é responsável pela formação de complexos de ligação, afetando diretamente a sorção dos pesticidas nas partículas de solo. No caso do imidacloprid, um dos principais fatores que contribuem à sua sorção de no solo é a quantidade de carbono orgânico (COX et al., 1998), o qual está diretamente associado à MO do solo. Neste estudo, os teores de MO para ambos os solos foram muito similares, no entanto, deve-se considerar o tipo (qualidade) da matéria orgânica dos solos testados. O solo natural apresenta 5,1% de MO cuja origem é natural de área florestal (maior complexidade), enquanto que o solo artificial apresenta 5 % de MO proveniente da fibra de coco (menor complexidade). Portanto, certamente há diferenças nas composições das MO dos solos que podem ter influenciado diferentemente na sorção dos poluentes e, consequentemente, em sua toxicidade.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em ambos os solos testados, o inseticida imidacloprid causou mortalidade de adultos de *F. candida* e reduziu o número de juvenis gerados pela espécie.

As propriedades do solo natural influenciaram na toxicidade do inseticida, resultando em uma menor toxicidade do imidacloprid sobre os colêmbolos *F. candida*, quando comparado aos efeitos observados em solo artificial. A diferença na toxicidade entre os solos foi atribuída às características físicas e químicas dos solos, principalmente a Matéria Orgânica.

Os atributos analisados apresentaram a mesma tendência no solo artificial e natural, apenas alterando a magnitude dos valores, indicando que este solo pode ser empregado em avaliações de toxicidade em relação ao solo artificial, simulando condições mais próximas daquelas encontradas em regiões tropicais.

REFERÊNCIAS

Alves P.R.L, Cardoso E.J.B.N, Martines A.M, Sousa J.P, Pasini A. Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. Chemosphere. 2013;90:2674–2682. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.11.046

Alves PRL, Cardoso EJBN, Martines AM, Sousa JP, Pasini A. Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. Ecotoxicol Environ Saf. 2014;105:65–71. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.04.010

Alves PRL, Cardoso EJBN. Overview of the standard methods for soil ecotoxicology testing. In: Larramendy ML, Soloneski S, editores. Invertebrates - Experimental Models in Toxicity Screening. 1ed. Rijeka: InTech – Open Access Publisher. p. 35-56. 2016.

Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Agrotóxicos [Internet]. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente; 2017 [acesso em 27 nov. 2017]. Disponível em: http://www.mma.gov.br/seguranca445quimica/agrotoxi cos

Cardoso EJBN, Alves PRL. Soil ecotoxicology, In: Begum G, editor. Ecotoxicology. Rijeka: InTech – Open Access Publisher. p. 27–50. 2012.

Cox L, Koskinen W, Yen P. Influence of soil properties on sorption-desorption of imidacloprid. J Environ Sci Health. 1998;B33(2):123–134.

de Lima e Silva C, Brennan N, Brouwer JM, Commandeur D, Verweij RA, van Gestel CAM. Comparative toxicity of imidacloprid and thiacloprid to different species of soil invertebrates. Ecotoxicology. 2017;26:555-564. doi: 10.1007/s10646-017-1790-7

Embrapa - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. Panorama da Contaminação Ambiental por Agrotóxicos e Nitrato de origem Agrícola no Brasil: Cenário 1992/2011. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2014.

Felix FF, Navickiene S, Dórea HS. Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) como Indicadores da Qualidade dos Solos. Revista da Fapese. 2007;3(2):39-62.

Garcia MVB. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions [tese]. Alemanha: Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät, Universidade de Bonn; 2004.

Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA, Cairns J. Handbook of Ecotoxicology. 2 ed. Lewis Publishers. 2002.
ISO - International Standardization Organization .ISO 11267: Soil quality — Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil contaminants, p. 19, 2014.

Nunes, Maria Edna Tenório; DAAM, Michiel Adriaan; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta. Survival, morphology and reproduction of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) as affected by Vertimec ® 18 EC (a.i. abamectin) in tests performed under tropical conditions. Applied Soil Ecology, [s.l.], v. 100, p.18-26, abr. 2016. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.11.023.

Van Gestel, CAM. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. In: Štrus J, Taiti S, Sfenthourakis S (Eds) Advances in Terrestrial Isopod Biology. ZooKeys.2012;176:275–296.

Watts M. Highly Hazardous Pesticides: Neonicotinoids. Pesticide Action Network Asia and the Pacific. 2011. acesso em 03 jun 2017]. Disponível em: http://www.panna.org/sites/default/files/PAN%20AP% 20pesticides-factsheet-hhps537 neonicotinoids.pdf