

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
CURSO DE AGRONOMIA

Bruna Pereira Gomes

Ecotoxicidade de inseticida à base de metidationa (Suprathion® 400 EC) para organismos não-alvo e eficiência de *biobeds* para o seu descarte

Curitibanos, SC

2022

Bruna Pereira Gomes

Ecotoxicidade de inseticida à base de metidationa (Suprathion® 400 EC) para organismos não-alvo e eficiência de *biobeds* para o seu descarte

Trabalho Conclusão do Curso do Centro de Ciências Rurais, Campus de Curitibanos, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Prof. Dra. Julia Carina Niemeyer

Curitibanos, SC

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Gomes, Bruna Pereira

Ecotoxicidade de inseticida à base de metidationa (Suprathion® 400 ec) para organismos não-alvo e eficiência de biobeds para o seu descarte / Bruna Pereira Gomes ; orientador, Julia Carina Niemeyer, 2022.

44 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, , Graduação em , Curitibanos, 2022.

Inclui referências.

1. Agrotóxico. 2. Ecotoxicidade. 3. Organismos do solo. 4. Suprathion® 400 EC I. Niemeyer, Julia Carina . II. Universidade Federalde Santa Catarina. Graduação em Agronomia. III. Título.

BRUNA PEREIRA GOMES

Ecotoxicidade de inseticida à base de metidationa (Suprathion® 400 ec) para organismos não-alvo e eficiência de *biobeds* para o seu descarte

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitiba, 11 de novembro de 2022.



Documento assinado digitalmente

Douglas Adams Weiler

Data: 05/12/2022 07:46:06-0300

CPF: ***.111.820-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Douglas Adams Weiler
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente

Julia Carina Niemeyer

Data: 04/12/2022 21:13:37-0300

CPF: ***.859.000-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dra Julia Carina Niemeyer
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Adriana Terumi Itako

Data: 04/12/2022 22:23:29-0300

CPF: ***.130.099-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dra. Adriana Terumi Itako
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Alexandre Siminski

Data: 05/12/2022 07:55:49-0300

CPF: ***.101.149-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Alexandre Siminski
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, pela minha vida por ter me abençoado com saúde, por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos que encontrei ao longo do curso, por este período que vou levar como grande aprendizado pessoal e profissional.

E então levo meus agradecimentos aos meus pais, Joanina e Dirceu, meus irmãos Denilso e Mateus, e ao meu namorado Alexandro Kosak, por todo o apoio que me deram durante esta jornada. A companhia de vocês, mesmo que à distância, foi primordial para que eu aproveitasse a graduação da melhor forma possível.

A minha querida orientadora, Professora Júlia Niemeyer. Que me acolheu de braços abertos desde o momento que a escolhi como orientadora. Seus ensinamentos foram essenciais para o meu aprendizado, pelas correções e incentivos.

As minhas amigas de faculdade Dalila, Andressa, Sandy, Aline, que desde o início estiveram comigo me apoiando e incentivando a continuar. Sem vocês meus dias não ficariam melhores.

A todos os colegas do NECOTOX, que me ensinaram e tiveram paciência, mesmo quando eu não tinha experiência na área. Quero agradecer a Laiara, Fabrielle, Maria e Ana Mabe, que me ajudaram nos ensaios e me incentivaram a continuar e enfrentar esse desafio, a vocês meu muito obrigada, com vocês meus dias ficaram melhores.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação. **A todos vocês meu muito obrigada.**

RESUMO

No Brasil, considerando um descarte seguro e viável de resíduos químicos, tem-se pouca informação, o que levou a Embrapa Uva e Vinho a buscar alternativas, entre elas, os leitos biológicos ou *Biobeds*. O sistema *Biobed* é composto de estruturas capazes de degradar e absorver agrotóxicos, ou seja, eficazes para acumular, reter e degradar microbiologicamente os resíduos destes produtos. Esse projeto de TCC tem como objetivo geral determinar a ecotoxicidade de diferentes concentrações da metidationa (Suprathion® 400 EC) para organismo não-alvo e avaliar a eficiência de um sistema *Biobed* para o seu descarte após 1 ano e 5 meses de sua contaminação. Esse trabalho foi realizado na casa de vegetação e no laboratório de Ecologia da UFSC em Curitibanos. O sistema *Biobed* consistiu em bombonas com capacidade para 200 L, preenchidas com solo agrícola e com biomistura composta por acícula de pinus e palha de milho. Esse experimento consistiu em 12 bombonas, sendo seis com solo agrícola e seis com a biomistura, onde três de cada composição foram contaminados, simulando um derramamento acidental de um litro de Suprathion® 400 EC. Os ensaios de ecotoxicidade de diferentes doses da metionationa em mg/kg, foi realizado com seis tratamentos, sendo o C0 (controle), C1 (0,132 mg/kg), C2 (0,265 mg/kg) C3 (0,53 mg/kg), C4 (1,06 mg/kg) e C5 (2,12 mg/kg), onde simulou o uso do inseticida a campo. Para os ensaios de ecotoxicidade foram realizados os ensaios de reprodução em recipientes com capacidade para 125 mL, contendo 30 g de solo, 10 indivíduos por réplica, com cinco réplicas, os organismos utilizados foram colêmbolos da espécie *Folsomia candida* e enquitreídeos da espécie *Enchytraeus crypticus*, seguindo as normas da ABNT NBR/ISO 11267 e ABNT NBR/ISO 16387, respectivamente. Os ensaios de reprodução avaliaram a partir de qual concentração do produto houve efeitos significativos sobre a reprodução dos invertebrados de solo, e se após 1 ano e 5 meses os *Biobeds* foram eficientes na redução da ecotoxicidade do substrato contaminado. Os resultados até o momento indicam que este período não foi suficiente para a redução da ecotoxicidade no substrato, provavelmente devido à alta dose aplicada deste produto, uma vez que continua ocorrendo letalidade dos organismos quanto expostos às amostras dos *Biobeds* contaminados. Nas avaliações de diferentes concentrações da metidationa, mostrou que os organismos mais sensíveis foram os colêmbolos, onde com a concentração abaixo da prevista para ser aplicada em campo já houve redução significativa na sua reprodução. Os enquitreídeos não tiveram redução significativa na sua reprodução nas concentrações testadas. A avaliação química está em andamento. Portanto, após 1 ano e 5 meses da simulação do descarte acidental do Suprathion 400 EC, os *Biobeds* no tamanho e condição estudados não alcançaram a redução da ecotoxicidade, provavelmente devido ao residual do produto estar em quantidade elevada, onde foi prejudicial para os organismos-teste. O organismo-teste *F. candida* pode ser indicado para o monitoramento da eficiência do sistema, como já indicado em outros estudos.

Palavras chaves: agrotóxico, ecotoxicidade, organismo do solo, Suprathion® 400 EC.

ABSTRACT

In Brazil, considering a safe and viable disposal of chemical waste, there is little information, which led Embrapa Grape and Wine to seek alternatives, including biological beds or Biobeds. The Biobed system is made up of structures capable of degrading and absorbing pesticides, that is, effective in accumulating, retaining and microbiologically degrading the residues of these products. This TCC project has the general objective of determining the ecotoxicity of different concentrations of methidathion (Suprathion® 400 EC) for non-target organisms and evaluating the efficiency of a Biobed system for its disposal after 1 year and 5 months of its contamination. This work was carried out in the greenhouse and in the Ecology laboratory at UFSC in Curitiba. The Biobed system consisted of drums with a capacity of 200 L, filled with agricultural soil and a biomixture composed of pine needles and corn straw. This experiment consisted of 12 drums, six with agricultural soil and six with the biomixture, where three of each composition were contaminated, simulating an accidental spillage of one liter of Suprathion® 400 EC. The ecotoxicity tests of different doses of methidathion in mg/kg were carried out with six treatments, being C0 (control), C1 (0.132 mg/kg), C2 (0.265 mg/kg), C3 (0.53 mg/kg), C4 (1.06 mg/kg) and C5 (2.12 mg/kg), which simulated the use of the insecticide in the field. For the ecotoxicity tests, reproduction tests were carried out in containers with a capacity of 125 mL, containing 30 g of soil, 10 individuals per replicate, with five replicates, the organisms used were springtails of the species *Folsomia candida* and enchytraeids of the species *Enchytraeus crypticus*, following the norms of ABNT NBR/ISO 11267 and ABNT NBR/ISO 16387, respectively. The reproduction tests evaluated from what concentration of the product there were significant effects on the reproduction of soil invertebrates, and if after 1 year and 5 months the Biobeds were efficient in reducing the ecotoxicity of the contaminated substrate. The results so far indicate that this period was not enough to reduce the ecotoxicity in the substrate, probably due to the high applied dose of this product, since the lethality of organisms continues to occur when exposed to samples from contaminated Biobeds. In the evaluations of different concentrations of methidathion, it showed that the most sensitive organisms were springtails, where with the concentration below the expected to be applied in the field, there was already a significant reduction in its reproduction. Enchytraeids did not have a significant reduction in their reproduction at the tested concentrations. Chemical evaluation is ongoing. Therefore, after 1 year and 5 months of the simulation of the accidental disposal of Suprathion 400 EC, the Biobeds in the size and condition studied did not reach the reduction of ecotoxicity, probably due to the residual of the product being in high quantity, where it was harmful to the organisms- test. The test organism *F. candida* can be indicated for monitoring the efficiency of the system, as already indicated in other studies.

Keywords: pesticide, ecotoxicity, soil organism, Suprathion® 400 EC.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dois modelos de <i>Biobeds</i> , onde na figura A mostra <i>Biobed</i> em tamanho real, projetado para passar pulverizador e na figura B mostra <i>Biobeds</i> pequenos para fins experimentais ou descarte de pequenas quantidades de resíduos.....	18
Figura 2 - Registro dos <i>Biobeds</i> na casa de vegetação.....	23
Figura 3 - Registro da coleta de solo dos <i>Biobeds</i> na casa de vegetação a casa de vegetação da UFSC.	24
Figura 4 - Cultivos dos <i>Folsomia candida</i> em laboratório.....	26
Figura 5 - Montagem do ensaio com o <i>Folsomia candida</i> . A: pesagem do solo; B adições dos colêmbolos; e C adição de fermento biológico.	27
Figura 6 - Desmonte de ensaio de reprodução de colêmbolo. A amostra após a adição de água; B contagem no software ImageJ.....	27
Figura 7 – Aspecto dos cultivos de <i>Enchytraeus crypticus</i> em laboratório.....	28
Figura 8 - Montagem do ensaio de reprodução com <i>Enchytraeus crypticus</i> . A pesagem do solo; B adição dos enquitreídeos; e C alimentação com farinha de aveia.....	29
Figura 9 - Desmontagem do ensaio de reprodução com <i>Enchytraeus crypticus</i> . A organismo após os 28 dias; B adição de álcool e rosa bengala; e C contagem dos enquitreídeos na lupa.	29
Figura 10 - Número médio de juvenis (\pm desvio padrão) de <i>Folsomia candida</i> nos ensaios de reprodução em solo natural com diferentes concentrações de metidationa. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett). Onde C0 (controle), C1 (0,132 mg/kg), C2 (0,265 mg/kg) C3 (0,53 mg/kg), C4 (1,06 mg/kg) e C5 (2,12 mg/kg).	34
Figura 11 - Número médio de juvenis (\pm desvio padrão) de <i>Enchytraeus crypticus</i> nos ensaios de reprodução em solo com diferentes concentrações de Metidationa. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett). Onde C0 (controle), C1 (0,132 mg/kg), C2 (0,265 mg/kg) C3 (0,53 mg/kg), C4 (1,06 mg/kg) e C5 (2,12 mg/kg).	35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Juvenis de *Folsomia candida* (média + desvio padrão) nas diferentes biomisturas, contaminadas com metidationa após 1 ano e 5 meses. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (Teste T). BAC = biomistura de acícula contaminada; BANC = biomistura de acícula não contaminada, controle; BSC = solo natural contaminado; BSNC = solo natural não contaminado. 31
- Tabela 2 - Juvenis de *Enchytraeus crypticus* (média + desvio padrão) nas diferentes biomisturas, contaminadas com metidationa após 1 ano e 5 meses. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (Teste T). BAC = biomistura de acícula contaminada; BANC = biomistura de acícula não contaminada, controle; BSC = solo natural contaminado; BSNC = solo natural não contaminado. 32

LISTA DE ABREVEATURA E SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

BAC Biomistura de Acícula Contaminada

BANC Biomistura de Acícula Não-contaminada

BPA Boas Práticas Agrícolas

BSC Biomistura de Solo Contaminada

BSNC Biomistura de Solo Não-contaminada

mL Mililitro

ISO International Organization for Standardization

SAT Solo Artificial Tropical

UFSC Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 CONTAMINAÇÃO POR AGROTÓXICOS	15
2.1.1 Metidationa (Suprathion® 400 EC).....	16
2.2 O SISTEMA <i>BIOBED</i>	17
2.3 AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA	19
2.3.1 Invertebrados do solo	20
2.3.1.1 <i>Folsomia candida</i> Willem, 1902 (Collembola).....	20
2.3.1.2 <i>Enchytraeus crypticus</i> Westheide and Graefe, 1992.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 <i>BIOBEDS</i>	22
3.1.1 Instalação dos <i>Biobeds</i>	22
3.1.2 Coleta do solo para os ensaios	23
3.2 AVALIAÇÃO QUÍMICA	24
3.3 AVALIAÇÕES ECOTOXICOLÓGICAS	24
3.3.1 Colêmbolos- <i>Folsomia candida</i>	25
3.3.1.1 <i>Ensaios de reprodução</i>	26
3.3.2 Enquitreídeos - <i>Enchytraeus crypticus</i>.....	27
3.3.2.1 <i>Ensaios de reprodução</i>	28
3.4 ANÁLISE DE DADOS	30
4 RESULTADOS	31
4.1 <i>BIOBED</i>	31
4.1.1 Ensaios de reprodução com colêmbolos	31
4.1.2 Ensaios de reprodução com enquitreídeos	32
4.1.3 Análises químicas da metidationa	32
4.2 AVALIAÇÃO DE ECOTOXICIDADE DAS CONCENTRAÇÕES DA METIDATIONA	33
4.2.1 Ensaios de reprodução com colêmbolos	33
4.2.2 Ensaios de reprodução com enquitreídeos	34
5 DISCUSSÃO	36
5.1 <i>BIOBED</i>	36

5.2 AVALIAÇÃO DE ECOTOXICIDADE DAS CONCENTRAÇÕES DA METIDATIONA	37
6 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos vêm sendo utilizados para controle de pragas e doenças. O uso de agrotóxicos é uma prática muito comum na agricultura, pois eles são usados nas lavouras e fruticultura, na pecuária e também para uso doméstico. Eles podem ser inseticidas, fungicidas, acaricidas, nematicidas, herbicidas, bactericidas, vermífugos (CASTRO, 2009). A contaminação no solo através de agrotóxicos vem crescendo nos últimos anos, sendo uma ameaça para a biodiversidade, incluindo para a fauna do solo (NUNES, 2011). O Suprathion® é um inseticida comumente usados na cultura do algodão e da maçã para o controle de pragas, considerado um produto muito perigo para o ambiente, cujo principal ingrediente ativo é a Metidationa. Seu modo de ação é através de contato e ingestão (ADAMA, 2022).

A fauna do solo é uns dos componentes que ainda recebem pouca atenção em se tratando de manejo do solo. O uso de químicos pode eliminar esses organismos benéficos para o solo como minhocas, colêmbolos e enquitreídeos. Esses organismos são de grande importância para a decomposição e mineralização de resíduos orgânicos favorecendo maior disponibilidade de nutriente para as plantas. As práticas de manejo do solo, o cultivo, a utilização de fertilizantes, diferentes coberturas vegetais têm efeitos sobre a fauna do solo, onde pode ter um aumento ou diminuição destes organismos (BARETTA, 2011).

Para um descarte seguro e viáveis de resíduos agrotóxicos tem-se poucas informações no Brasil e nas propriedades, e os polos industriais aptos para o descarte estão distantes e o custo tende a ser maior. Com isso, a Embrapa Uva e Vinho tem buscado soluções para o descarte seguro de resíduos de agrotóxicos, baseando-se em práticas recomendadas por países como Suécia, França, Inglaterra, Dinamarca, Bélgica e outros que praticam boas práticas ambientais e agrícolas. Uma destas práticas são os *Biobeds* ou leitos biológicos, desenvolvidos primeiramente na Suécia, recomendados para tratamentos fitossanitários de resíduos de agrotóxicos (GEBLER, *et al.*, 2015).

O sistema *Biobed* é composto de estruturas capazes de degradar e absorver agrotóxicos, ou seja, eficazes para acumular, reter e degradar microbiologicamente os resíduos de agrotóxicos. Esses sistemas têm as condições ideais para a colonização de fungos e outros microrganismos que geram um complexo de enzimas que degradam a lignina (CROPLIFE, 2022).

O presente trabalho teve como objetivo geral determinar a ecotoxicidade do inseticida a base de metidationa (Suprathion® 400 EC) para organismo não-alvo do solo e avaliar a eficiência de um sistema *Biobed* para o seu descarte.

Como objetivos específicos, foram estabelecidos:

a) determinar as concentrações de efeito de Metidationa (Suprathion® 400 EC) que podem afetar a reprodução de colêmbolos (*Folsomia candida*) e enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*) por meio de ensaios ecotoxicológicos;

b) avaliar o desempenho do sistema *Biobed* para a redução da ecotoxicidade da Metidationa (Suprathion 400) após 1 ano e 5 meses, em biorreator com biomistura com acícula de pinus e biorreator com solo agrícola, a partir de ensaios ecotoxicológicos.

Como hipóteses, assumimos que a) os colêmbolos seriam mais sensíveis do que os enquitreídeos para monitorar o sistema; b) que os *Biobeds* com a biomistura de acículas seriam mais eficientes para reduzir a ecotoxicidade do produto em comparação ao solo natural.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CONTAMINAÇÃO POR AGROTÓXICOS

A preocupação com o uso dos agrotóxicos é tão antiga quanto a introdução dos mesmos para controle de pragas e doenças que afetam a agricultura. O desenvolvimento dos agrotóxicos foi impulsionado para aumentar a produção de alimentos (BORSOLI *et al.*, 2000).

O Brasil se destaca por ser um dos maiores consumidores de agrotóxicos (IBAMA, 2022). Eles conferem proteção contra-ataques e proliferação de pragas, como insetos, fungos, bactérias, vírus, ácaros, nematoides e ervas daninhas (VASCONCELOS, 2018).

Os agrotóxicos também são conhecidos como agroquímicos, pesticidas e defensivos fitossanitários ou agrícolas, porém o termo oficial é “agrotóxico”, segundo a Lei 7.802 de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989). O uso de agrotóxicos aumenta a eficiência do campo o que confere para o Brasil liderança na produção de culturas agrícolas, mas gera muito prejuízo devido a contaminação do solo e mananciais, e também a saúde da população. Os problemas não são os agrotóxicos em si, mas o manejo, a quantidade e os seus resíduos nas lavagens das máquinas (VASCONCELOS, 2018).

Conforme o boletim anual do IBAMA (2022), os agrotóxicos mais comercializados foram os formulados a base dos ingredientes ativos: Glifosato; 2,4-D; Mancozebe; Atrazina; Acefato; Clorotalonil; Malationa; Enxofre; Imidacloprido e Clorpirifós. Os herbicidas têm a maior venda em 2019 com 369.578,94 ton. de ingrediente ativo, seguido pelo fungicida com 96.435,44 ton. de ingrediente ativo, o inseticida com 72.424,84 ton. de ingrediente ativo, entre outros.

Desde a publicação do livro, *primavera silenciosa* de Carson (1964) o mundo vem se conscientizando sobre o risco do uso de agrotóxicos. A preocupação dos autores era com relação a biodiversidade afetada pelo uso de inseticida, onde inseticidas eram amplamente disseminados visando exterminar insetos específicos, mas que acabavam matando muitos outros animais. Esse trabalho relata inúmeros casos de extermínios da biodiversidade ocorridos nos EUA nas décadas de 1940 e 1950 associados aos agrotóxicos (CARVALHO *et al.*, 2017).

Temos dois tipos de poluição por agrotóxicos: a chamada poluição difusa e a poluição pontual. A poluição difusa essa é o resultado do impacto visual no momento da aplicação do agrotóxico, onde uma grande parte não atinge o alvo e com isso contamina solo, ar e água, e com difícil monitoramento. A poluição pontual acontece quando o agrotóxico não atinge seu

alvo e grande volume da névoa tóxica vai para maquinários e até o próprio operador da máquina fica recoberto com esses resíduos. Muitas vezes essa poluição é desconsiderada, mas esta pode causar danos ainda maiores que a difusa. Nesse tipo de contaminação, incluem-se, além da lavagem das máquinas e implementos agrícolas, os vazamentos dos equipamentos, os derrames acidentais durante o processo de composição da calda e destinação final dos volumes de sobra nos pulverizadores agrícolas (GEBLER, 2015).

Estudo realizado por Souza (2012) sobre o impacto de inseticidas em artrópodes não-alvo associados a cultura da melancia, com *tiamethoxam* e *deltametrina* e os resultados foram, os inseticidas afetaram negativamente artrópodes não-alvo como insetos detritívoros, insetos de dossel e da superfície do solo. Os artrópodes estudados foram os Coleoptera, Aphididae, Hemiptera, Lepidoptera, Collembola e outros.

2.1.1 Metidationa (Suprathion® 400 EC)

A Metidationa é o ingrediente ativo do inseticida, que está presente no produto comercial Suprathion® 400 EC. Ele é um inseticida organofosforado com modo de ação de contato e ingestão, recomendado para o controle de pragas nas culturas do algodão e maçã. Este produto deve ser aplicado com temperatura de até 30°C, umidade relativa do ar de no mínimo 50%, com ventos de 3 a 10 km/h, é um produto exclusivo para culturas agrícolas. O formulador do Suprathion é o Adama Brasil S/A, sua cor da faixa é vermelha e o intervalo de segurança é de 21 dias, considerado um produto altamente tóxico e muito perigoso ao meio ambiente (ADAMA, 2022).

A recomendação ideal para o controle do bicudo (*Anthonomus grandis*) na cultura do algodão é dose de 0,6 a 1 litro por hectares, ele deverá ser aplicado quando for observado 10% dos botões florais atacados ou na presença do adulto na cultura. Deve-se realizar no máximo 2 aplicações com o intervalo de 7 dias. Na recomendação para controle da Mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*) para a cultura da maçã a dose ideal é 100mL por 100 L de água, deve-se fazer o monitoramento e realizar a aplicação do SUPRATHION 400 EC sempre que detectada a presença da praga. Realizar no máximo 3 aplicações com intervalos de 15 dias (ADAMA, 2022).

Deve-se tomar o devido cuidado com animais polinizadores, este produto possui restrição de aplicação em virtude do risco para abelhas e outros insetos polinizadores. Deve-se seguir as instruções de aplicação e recomendações para proteção de polinizadores. Os cuidados

são: não aplicar durante o período de floração; aplicar o produto somente após o pôr do sol; não aplicar em uma distância menor que 50 (cinquenta) metros da divisa com áreas de vegetação natural e culturas agrícolas vizinhas em fase de florescimento; não aplicar este produto caso haja presença de abelhas; informar aos apicultores próximos antes de aplicar este produto; e não aplicar este produto entre as 10:00 e 15:00 horas (ADAMA, 2022)

2.2 O SISTEMA *BIOBED*

Atualmente os resíduos de agrotóxicos são o que causam mais preocupação na população, pois eles contaminam águas, solo e afetar a fauna do solo. Uma alternativa que é proposta para a mitigação desses riscos de contaminação é a degradação biológica destes pesticidas, antes que haja a contaminação do solo e água superficial e subterrânea. Esses sistemas biodegradação de resíduos é uma alternativa barata e eficientes, são denominadas de *Biobeds*, leitos biológicos ou biorreator (CASTILLO *et al.*, 2008).

Os sistemas *Biobeds* foram criados e implantados na Suécia por Torstensson e Castillo (1997). Por ele ter um baixo custo e ser simples, ele vem se expandindo para outros países como a Holanda, Itália, Bélgica, França, Guatemala. No Brasil adaptação do sistema foi realizada pela Embrapa Uva e Vinho, com o nome de “*Biobed* Brasil” (GEBLER *et al.*, 2015). Apesar de ser aplicados em países diferentes todos eles têm o objetivo de degradar biologicamente os resíduos de agrotóxicos.

Um *Biobeds* consiste em um poço de tamanho moderado onde pode ser forrado ou não, onde é preenchido com palha, turfa e solo superficial na proporção de 2:1:1, e sua superfície é coberta por gramíneas e sobre ela é depositados os resíduos de pesticidas. Os microrganismos presentes no solo como fungos e bactérias ajudam na degradação, onde interagem química e fisicamente com o pesticida (COOPER *et al.*, 2016). Eles também podem ser em tonéis ou caixas de água, que pode ser voltado a resíduos de máquinas costais ou também usados para experimentos, ele tem um tamanho menor, na figura 1 tem-se um exemplos.

Figura 1 - Dois modelos de *Biobeds*, onde na figura A mostra *Biobed* em tamanho real, projetado para passar pulverizador e na figura B mostra *Biobeds* pequenos para fins experimentais ou descarte de pequenas quantidades de resíduos.



Fonte: Dias *et al.* (2020).

Diez *et al.* (2013c) afirmaram que, no Chile, o *Biobed* pode ser utilizado por até 5 anos. Este período pode ser menor, de acordo com o clima de cada região, sendo devendo ser monitorado a partir de reduções na altura da biomistura.

Esses sistemas são aperfeiçoados conforme as variações climáticas e de temperatura de cada região. Tem-se sistema de drenagens abertas e fechadas, vai depender do volume de chuva. A aberta é implantada onde não tem muita chuva e a degradação de agrotóxicos é mais rápida e a fechada é onde os resíduos permanecem por mais tempo para serem degradados e com mais chuvas (CARNIEL, 2015).

Os *Biobeds* têm suas vantagens como: o baixo custo e por serem simples de serem construídos; eles permitem o tratamento de resíduos dentro da propriedade; são parte fundamental das Boas Práticas Agrícolas (BPA); são ambientalmente sustentáveis em face dos processos produtivos; satisfatória degradação de agrotóxicos e seus efluentes; e possibilidade de utilização de materiais alternativos. E desvantagem como: necessidade de substituição de substratos; produtos podem ser lixiviados; e capacidade limitada. (CASTILLO; TORSTENSSON; STENSTRÖM, 2008; CROPLIFE, 2022).

Dias *et al.* (2020) avaliaram materiais alternativos no substrato de *Biobeds*, onde buscaram avaliar a eficiência das biomisturas em reduzir a ecotoxicidade do inseticida organofosforado fosmete sobre colêmbolos e enquitreídeos. As biomisturas foram o *Biobed* Padrão (BP), *Biobed* Acícula (BA) e *Biobed* Húmus (BH). Nesse estudo mostrou-se que os colêmbolos foram mais sensíveis que os enquitreídeos. Mostrou-se também que os BA e BH tiveram uma maior redução na ecotoxicidade do fosmete, sendo que o BP não foi capaz de reduzir

totalmente a ecotoxicidade após 90 dias. Entre todos os biomisturas, o BH foi o que teve maior degradação do agrotóxico.

2.3 AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA

A ecotoxicologia é a ciência responsável por avaliar a toxicidade de determinadas substâncias, naturais ou sintéticas, sobre um ecossistema como um todo (NIVA; BROWN, 2019). O objetivo é prevenir a ocorrência dos efeitos adversos de substância emitidas pelo homem sobre o ecossistema, suas funções, estruturas e biodiversidade. Baseia-se na observação do efeito destas substâncias sobre organismos-teste de espécies conhecidas, representantes das populações do ecossistema em questão (NIEMEYER *et al.*, 2012)

O monitoramento com os ensaios permite uma determinação direta do nível de toxicidade em que se encontra a biomistura, prevendo efeitos que possam ocorrer no ambiente, de acordo com as respostas dos organismos-teste (BARETTA *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

Através de ensaios crônicos é possível avaliar o efeito de um contaminante sobre a reprodução dos organismos, sendo que a assimilação da substância química pode ocorrer de forma dérmica ou alimentar (ABNT, 2011; ISO, 2011).

No Brasil, Carniel (2015) avaliou os riscos ecológicos do mancozebe e clorpirifós para representantes da mesofauna e macrofauna no solo através de *Biobed*, foram feitos ensaios de letalidade, reprodução e fuga com espécies de minhocas, colêmbolos e enquitreídeos. Os resultados mostraram que os colêmbolos foram extremamente sensíveis aos resíduos, as minhocas foram menos sensíveis e os enquitreídeos mostraram uma boa recuperação ao longo do tempo.

Gebler *et al.* (2015) utilizaram *E. fetida* na avaliação de um *Biobed* que recebeu aplicações de glufosinato de amônia e clorpirifós. As taxas de mortalidade e fuga foram altas durante as aplicações iniciais, e reduziram à medida em que mais aplicações foram realizadas, indicando uma preferência das minhocas pelo *Biobed* contaminado, nos ensaios de fuga.

2.3.1 Invertebrados do solo

O uso de invertebrados do solo nos ensaios tem sido amplamente aplicado devido à facilidade de cultivo, ciclo de vida reduzido e dimensões corporais pequenas. Para garantir a confiabilidade dos resultados são utilizadas espécies sensíveis cujas funções nos ecossistemas sejam importantes e conhecidas. Este é o caso dos enquitreídeos e colêmbolos, que são organismos geobiontes, ou seja, possuem uma alta sensibilidade a qualquer impacto no solo pois seu ciclo de vida ocorre inteiramente nele (MENTA, 2012). Esses organismos são sensíveis a muitos contaminantes, como os agrotóxicos (AMORIM *et al.*, 2012; NIEMEYER *et al.*, 2017).

2.3.1.1 *Folsomia candida* Willem, 1902 (Collembola)

Folsomia candida, Reino Animalia, Filo Arthropoda, classe Collembola, família Isotomidae e gênero *Folsomia*. Os colêmbolos são artrópodes classificados como hexápodes, ápteros que vivem em todo o mundo, estando amplamente difundidos; são organismos que se caracterizam pela facilidade de reprodução e rápido crescimento (COLEMAN *et al.*, 1995).

Os colêmbolos se alimentam de bactérias, fungos, algas, resíduos vegetais e alguns patógenos das plantas, caracterizando sua alta influência sobre a ecologia microbiana e fertilidade do solo (EMBRAPA, 2010), além de serem importante fonte de alimento a outros organismos, como ácaros predadores, aranhas e coleópteros (COLEMAN *et al.*, 1995).

São utilizados em ensaios de ecotoxicidade por serem de fácil criação e possuírem um papel importante nos processos de mineralização do solo (ABNT, 2011; AMORIM *et al.*, 2012), e por sua alta sensibilidade a qualquer alteração que venha a ocorrer em seu ambiente (NIVA; BROWN, 2019). Ensaios de reprodução e de comportamento de fuga com estes organismos são padronizados internacionalmente (ABNT, 2011; ISO, 2011).

2.3.1.2 *Enchytraeus crypticus* Westheide and Graefe, 1992

Enchytraeus crypticus, reino Animalia, filo Annelida, classe Clitellata, subclasse dos Oligochaeta, ordem Haplotaxida e da família dos Enchytraeidae, são anelídeos majoritariamente terrestres que desempenham papel importante na decomposição da matéria orgânica do solo (BROWN; FRAGOSO, 2007).

Enquitreídeos são fortemente envolvidos na decomposição de resíduos vegetais, o destino da matéria e, portanto, a ciclagem de nutrientes, processos-chave para o funcionamento dos ecossistemas, são os engenheiros dos ecossistemas das camadas orgânicas (BRUSSAARD *et al.*, 2012).

Devido a estas características, são considerados bioindicadores ecologicamente relevantes, e possuem norma própria da ABNT para realização dos ensaios crônicos. São de fácil manuseio e possuem um ciclo de vida mais rápido que o das minhocas, apresentando então uma vantagem para os ensaios ecotoxicológicos (ABNT, 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus de Curitibanos, com uma latitude de 6983230.79 m S e longitude de 549173.33 m E. Os ensaios foram realizados em julho de 2022 para os ensaios de reprodução com os organismos dos *Biobeds* e em setembro de 2022 foram realizados os ensaios de reprodução para as diferentes concentrações da metidationa.

3.1 BIOBEDS

3.1.1 Instalação dos *Biobeds*

A instalação do sistema de *Biobeds* foi realizada em março/2021 pela mestranda Costa (2021), em casa de vegetação na UFSC Curitibanos. Para a composição das biomisturas foram utilizadas composições distintas, onde a primeira biomistura (BA) constituída por palha de milho, acícula de pinus e solo agrícola e a segunda biomistura (BS) é composta somente de solo agrícola. O objetivo foi comparar a eficiência dos dois sistemas e saber se haveria vantagens em se usar uma biomistura, ou se apenas solo agrícola já seria suficiente no sistema.

A quantidade de material empregado na BA palha de milho, solo agrícola e acícula de pinus. Os BS foram preenchidos somente com solo. Segundo análises realizadas, o solo selecionado pode ser classificado como Cambissolo Háplico (EMBRAPA, 2003). Solo com textura argilosa e com matéria orgânica, com pH em água de 5,20.

O solo foi peneirado em malha 5 mm. Após essas coletas foi feita a montagem da BA, onde os materiais foram colocados sobre uma lona e misturados manualmente com a ajuda de uma pá de jardim e um balde.

Foram montados 12 *Biobeds* (Figura 2), com 4 tratamento diferentes e 3 repetições cada. Os tratamentos foram denominados de A, B, C e D. As biomisturas foram colocadas em recipientes plásticos, onde tem capacidade de 200 litros. O tratamento A foi composto pelos biorreatores com a biomistura com acícula de pínus (BAC) no qual receberam a contaminação do agrotóxico, sendo representado pelo *Biobed* A1 e suas réplicas A2 e A3. O tratamento B foi composto pelos biorreatores com a biomistura BANC, no qual os tratamentos controle e não receberam a contaminação, sendo representado pelo *Biobed* B1 e suas réplicas B2 e B3. O tratamento C foi composto pelos biorreatores exclusivamente preenchidos com solo (BSC), no

qual receberam a contaminação do agrotóxico, sendo representado pelo *Biobed* C1 e suas réplicas C2 e C3. O tratamento D foi composto pelos biorreatores exclusivamente preenchidos com BSNC, no qual os tratamentos controle e não receberam a contaminação, sendo representado pelo *Biobed* D1 e suas réplicas D2 e D3.

Os sistemas ficaram armazenados em casa de vegetação com uma cobertura translúcida, para evitar a exposição à precipitação e auxiliar na manutenção da umidade. Em todos os *Biobeds* foi realizada a manutenção de umidade, com a adição de água. Para auxiliar no controle de umidade e atividade biológica, foi realizada a transposição de uma leira de gramíneas na parte superior do sistema.

Após a instalação dos *Biobeds* e sua maturação, foi realizada a contaminação dos mesmos, onde cada sistema (exceto os controles) recebeu a simulação de derrame acidental no volume de 1 L de Suprathion® 400 EC.

Figura 2 - Registro dos *Biobeds* na casa de vegetação.



Fonte: Autora, 2022.

3.1.2 Coleta do solo para os ensaios

Os solos dos *Biobeds* foram coletados em uma única amostra de cada tratamento, em junho de 2022, onde a finalidade foi comparar com o controle sem contaminação. Para a coleta

foi usado um trado holandês, com 10 cm de profundidade após a raiz da grama, como demonstrado na Figura 3. Após a coleta essas amostras foram acondicionadas para um saco plástico e levada ao laboratório, logo após pesadas e levadas ao congelador para evitar a degradação.

Figura 3 - Registro da coleta de solo dos *Biobeds* na casa de vegetação a casa de vegetação da UFSC.



Fonte: Autora, 2022.

Essas amostras foram divididas em duas partes, onde 300 g de cada tratamento foi destinado para avaliação química (a qual está em andamento), para ver se houve degradação do agrotóxico, e a outras com 500 g para ensaio de ecotoxicidade.

3.2 AVALIAÇÃO QUÍMICA

A determinação química da Metidationa dos *Biobeds* será realizada em parceria com o laboratório CEPARC (Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS. Serão aplicados os métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos (CEPARC, 2019), realizando a extração da biomistura conforme a técnica desenvolvida por Vareli (2019). Até o momento da entrega deste TCC, não temos o resultado desta análise.

3.3 AVALIAÇÕES ECOTOXICOLÓGICAS

Para os ensaios de ecotoxicidade da metidationa (Suprathion), foram usadas duas espécies representantes da mesofauna edáfica, para determinação dos efeitos do inseticida Suprathion® 400 EC para os organismos não-alvo. Para essa avaliação foram usados cinco tratamentos para cada espécie de organismos. A quantidade de ingrediente ativo foi baseada na

dosagem recomendada na bula do produto para a cultura do algodão que é 0,6 a 1 L/ha, onde o principal alvo é o inseto “bicudo”. Foram realizados cálculos para simular o uso em campo. Os tratamentos e controle usados foram:

C0 – Sem contaminação (Controle);

C1 – Adição de 25% da dose recomendada (1,325 mL da solução estoque), equivalendo a **0,132 mg/kg**.

C2 – Adição de 50% da dose recomendada (2,65 mL da solução estoque), equivalendo a **0,265 mg/kg**;

C3 – Adição da dose recomendada (5,3 mL da solução estoque), equivalendo a **0,53 mg/kg**;

C4 – Adição de duas vezes a dose recomendada (10,6 mL da solução estoque), equivalendo a **1,06 mg/kg**;

C5 – Adição de quatro vezes a dose recomendada (21,2 mL da solução estoque), equivalendo a **2,12 mg/kg**.

Todos os tratamentos foram preenchidos com a quantidade de água necessária para atingir 50% da capacidade de retenção de água do solo. Os ensaios foram realizados no laboratório de Ecologia da UFSC campus de Curitibanos em setembro de 2022. Para esses testes foram usados colêmbolos da espécie *F. candida* e enquitreídeos da espécie *E. crypticus*.

A avaliação de ecotoxicidade dos *Biobed* foi realizada após 1 ano e 5 meses de sua instalação e contaminação. Foram usadas metodologias com o objetivo de avaliar a ecotoxicidade. Para os ensaios das concentrações, foi utilizado o mesmo solo dos *Biobeds*.

Todos os ensaios seguiram as normas padronizadas, pela *International Organization for Standardization* (ISO), adaptadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), tornando-se norma nacional (NBR).

3.3.1 Colêmbolos- *Folsomia candida*

Os colêmbolos da espécie *F. candida* (Figura 4) foram cultivados no laboratório de Ecologia da UFSC, Campus de Curitibanos, com base na normativa ABNT NBR ISO 11267 (ABNT, 2011). Os organismos foram cultivados em recipientes plásticos com capacidade de 225 mL, contendo um meio de cultura de aproximadamente 1 cm de substrato composto por carvão ativado e gesso. Os recipientes devem ser bem fechados.

Os cultivos foram mantidos em incubadora com temperatura de 20°C, com umidade de 70 a 80% com fotoperíodo de 16h:8h. Eles foram alimentados com fermento biológico seco e água destilada. Foram usados colêmbolos juvenis, com idade de 10 e 12 dias conforme recomendado pela Norma ABNT NBR ISO 11267 (ABNT, 2011).

Figura 4 - Cultivos dos *Folsomia candida* em laboratório.



Fonte: Autora, 2022.

3.3.1.1 Ensaio de reprodução

O ensaio de reprodução com colêmbolos foi seguido a metodologia descrita na norma ABNT NBR ISO 11267 (ABNT, 2011). Utilizados recipientes com capacidade de 125 mL com 30g de solo (Figura 5A) com 5 repetições cada tratamentos, cada recipiente é adicionado 10 indivíduos de 10 a 12 dias (Figura 5B), e mantidos em câmara a 20°C com fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). A alimentação ocorreu em todas as semanas com 2 mg de fermento seco (Figura 5C). Esse fermento é umedecido e pesadas os recipientes com reposição do peso perdido através de adição de água.

Figura 5 - Montagem do ensaio com o *Folsomia candida*. A: pesagem do solo; B adições dos colêmbolos; e C adição de fermento biológico.

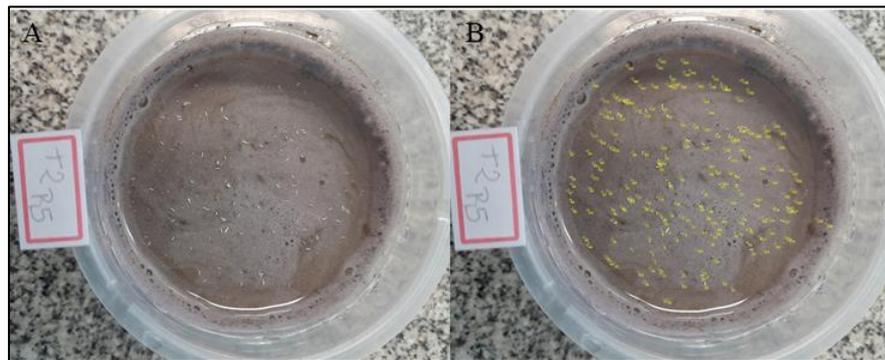


Fonte: Autora, 2022.

Após 28 dias, foi adicionada água em cada réplica e tinta de caneta para facilitar a contagem (Figura 6A). Logo após cada réplica foi fotografada para facilitar a contagem dos juvenis, utilizado o software Image J, conforme ilustrado na Figura 6B.

O delineamento utilizado foi o DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado).

Figura 6 - Desmonte de ensaio de reprodução de colêmbolo. A amostra após a adição de água; B contagem no software ImageJ.



Fonte: autora, 2022.

3.3.2 Enquitreídeos - *Enchytraeus crypticus*

Os organismos para o cultivo de enquitreídeos (Figura 7) foram obtidos de cultivos laboratoriais da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos. Os enquitreídeos foram cultivados em Solo Artificial Tropical (SAT) (pH entre $6,0 \pm 0,5$), em incubadora com temperatura de 20 ± 1 °C, com fotoperíodo claro/escuro de 12h/12h. Semanalmente o substrato foi umedecido com água destilada e aerado, revirando-o com cuidado.

A alimentação recomendada pela norma ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012) consiste em uma quantidade de farinha de aveia espalhados na superfície ou cuidadosamente misturados ao substrato uma ou duas vezes por semana.

Figura 7 – Aspecto dos cultivos de *Enchytraeus crypticus* em laboratório.



Fonte: Autora, 2022.

3.3.2.1 Ensaios de reprodução

O ensaio de reprodução com enquitreídeos seguiu a norma ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012). O teste foi conduzido por quatro semanas ininterruptas (28 dias). Para a avaliação de reprodução dos enquitreídeos foram utilizados organismos em estágio adulto, identificados pela presença de clitelo desenvolvido.

Para o ensaio, foram usados recipientes com capacidade de 125 mL, onde foram adicionadas 30 g de solo (Figura 8A). Foram realizadas cinco réplicas, contendo dez organismos cada (Figura 8B). Durante a duração do ensaio, foram fornecidas 25 mg/semana de farinha de aveia e pesados os recipientes com reposição do peso perdido através de adição de água (Figura 8C). Os recipientes foram alocados em incubadora a $20^{\circ}\text{C} \pm 1$, com fotoperíodo claro/escuro de 12h/12h.

Figura 8 - Montagem do ensaio de reprodução com *Enchytraeus crypticus*. A pesagem do solo; B adição dos enquitreídeos; e C alimentação com farinha de aveia.



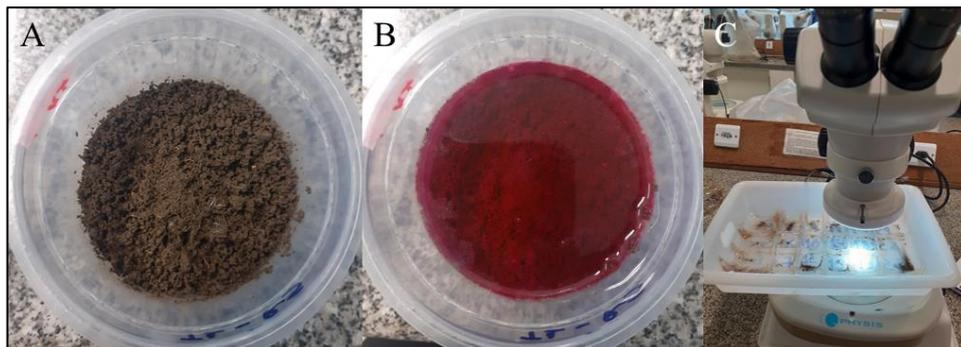
Fonte: Autora, 2022

Após 28 dias transcorridos, foi realizada a leitura do ensaio (Figura 9A). Para facilitar a contagem, foi adicionada álcool 70° para a conservação dos organismos e foi preparada uma solução do corante Rosa de Bengala a 1% em etanol, colocando aproximadamente 4 gotas por recipiente (Fig. 9B). Após adição de algumas gotas do corante em cada replica, aguardou-se 48 h para então iniciar a contagem dos juvenis em estereomicroscópio em aumento de 40X (Figura 9C). Tem-se 30 dias para fazer a contagem.

O ensaio foi considerado válido se a taxa de produção de juvenis seja em torno de 25 indivíduos por recipiente e o coeficiente de variação não exceda 50%, verificados nos recipientes com solo-controle.

O delineamento utilizado foi o DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado).

Figura 9 - Desmontagem do ensaio de reprodução com *Enchytraeus crypticus*. A organismo após os 28 dias; B adição de álcool e rosa bengala; e C contagem dos enquitreídeos na lupa.



Fonte: autora, 2022.

3.4 ANÁLISE DE DADOS

O número de juvenis obtido nos diferentes tratamentos foi comparado ao respectivo controle, a fim de determinar efeitos significativos sobre a reprodução dos organismos. Essas comparações foram realizadas usando análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Dunnett ($p < 0,05$), quando as premissas de normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias foram cumpridas. Estas premissas foram testadas com os testes de Shapiro-Wilk and Bartlett, respectivamente. Para as análises, foi usado o software Statistica 7.0. Para análises estatísticas dos *Biobeds* foi realizado o teste T ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 BIOBED

4.1.1 Ensaios de reprodução com colêmbolos

Para avaliação de ecotoxicidade dos colêmbolos nos *Biobeds*, o ensaio foi realizado após 1 ano e 5 meses após a sua montagem e contaminação. Foi necessário desenvolver uma tabela a partir dos números de juvenis encontrados no ensaio, comparando com seus respectivos controles.

A síntese das médias reprodutivas de *F. candida* em cada um dos *Biobeds* avaliados encontra-se na Tabela 1. Os dados da avaliação foram comparados com os *Biobeds* contaminados com as não contaminadas.

No BSC, foi possível observar que houve uma diferença significativa de 0 ± 0 com relação ao controle (BSNC) de $151,7 \pm 55$. Assim como no tratamento BANC com $208,4 \pm 88,4$ e controle (BAC) 0 ± 0 . Foi possível determinar que o solo controle teve uma alta reprodução em comparação com o solo contaminado, onde não houve reprodução.

Podemos perceber através dos dados estatísticos obtidos dos ensaios (Tabela 1), que os *Biobeds* não obtiveram resultados esperados após 1 ano e 5 meses. Os tratamentos que foram contaminados se encontram com elevados níveis de toxicidade para os colêmbolos, ou seja, provavelmente ainda não houve a degradação do agrotóxico aplicado e possivelmente seu residual está elevado.

Tabela 1 – Juvenis de *Folsomia candida* (média + desvio padrão) nas diferentes biomisturas, contaminadas com metidationa após 1 ano e 5 meses. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (Teste T). BAC = biomistura de acícula contaminada; BANC = biomistura de acícula não contaminada, controle; BSC = solo natural contaminado; BSNC = solo natural não contaminado.

Tratamentos	Média ± DP
BSNC	$151,7 \pm 55$
BSC	0 ± 0 *
BANC	$208,4 \pm 88,4$
BAC	0 ± 0 *

Fonte: Autora, 2022.

4.1.2 Ensaios de reprodução com enquitreídeos

Os dados de reprodução de enquitreídeos cumpriram os pressupostos de distribuição normal e homogeneidade das variâncias, condições para o uso da ANOVA. Os resultados dos ensaios de reprodução com *E. crypticus* encontram-se na Tabela 2. A reprodução sob efeito da metidationa foi inferior as testemunhas em todos os tratamentos.

Para os tratamentos do BSC e BAC, a médias de reprodução foi estatisticamente inferior a reprodução dos controles (BSNC e BANC) após 1 ano e 5 meses. Onde no controle (BSNC) obteve uma alta reprodução de $1644,3 \pm 50,8$ em relação ao tratamento contaminado BSC que obteve uma reprodução de $0,3 \pm 0,3$. O tratamento controle (BANC) obteve também uma alta reprodução, onde a média mais desvio padrão foi de $1533,67 \pm 241,9$, com relação ao tratamento contaminado (BAC) que teve uma baixa reprodução $0,7 \pm 0,9$.

Tabela 2 - Juvenis de *Enchytraeus crypticus* (média + desvio padrão) nas diferentes biomisturas, contaminadas com metidationa após 1 ano e 5 meses. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (Teste T). BAC = biomistura de acícula contaminada; BANC = biomistura de acícula não contaminada, controle; BSC = solo natural contaminado; BSNC = solo natural não contaminado.

Número Médio de Juvenis – <i>Enchytraeus crypticus</i>	
Tratamentos	Média ± DP
BSNC	$1644,3 \pm 50,8$
BSC	$0,3 \pm 0,3$ *
BANC	$1533,67 \pm 241,9$
BAC	$0,7 \pm 0,9$ *

Fonte: Autora, 2022.

4.1.3 Análises químicas da metidationa

A análise química do agrotóxico após um ano e sete meses da sua degradação não foram concluídas.

4.2 AVALIAÇÃO DE ECOTOXICIDADE DAS CONCENTRAÇÕES DA METIDATIONA

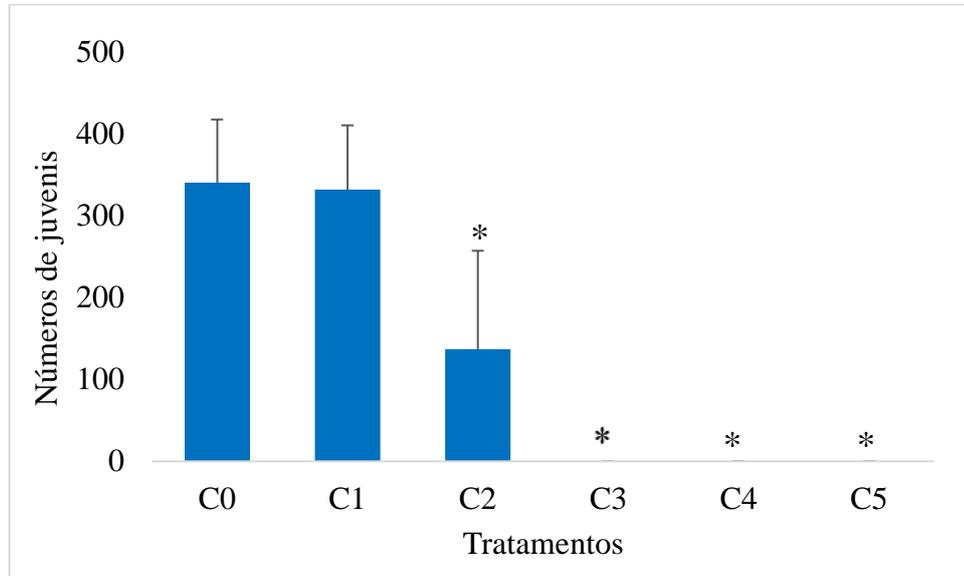
Resultados obtidos dos ensaios de reprodução dos colêmbolos e enquitreídeos, para diferentes concentrações da metidationa. Para essa avaliação foi utilizado a análise de variâncias (ANOVA) e feito a teste de comparações múltiplas de Dunnet ($p < 0,05$). Comparando o número de juvenis obtidos nos tratamentos com o número de juvenis obtidos no solo-controle, a fim de determinar efeitos significativos sobre a reprodução.

4.2.1 Ensaios de reprodução com colêmbolos

Os dados de reprodução de colêmbolos cumpriram os pressupostos de distribuição normal e homogeneidade das variâncias, condições para o uso da ANOVA. Cada tratamentos foi comparado com o controle (C0) do ensaio.

Os resultados evidenciaram que houve uma redução significativa da reprodução a partir da dose de 0,53 onde equivale à metade da dose ideal usada em campo. Comparado ao controle ($340,4 \pm 77,6$) o tratamento C2 (0,265 mg/kg) teve uma média de $137 \pm 120,5$ juvenis, o que representa uma reprodução significativamente menor. Quando comparado o controle com os tratamentos C3 (0,53 mg/kg), C4 (1,06 mg/kg) e C5 (2,12 mg/kg), esses não tiveram nenhuma reprodução, apresentando inclusive letalidade dos adultos (não encontrados nas amostras), como observado na Figura 10. Com isso, a concentração recomendada para ser utilizada em campo tem uma alta toxicidade para esses organismos não-alvo.

Figura 10 - Número médio de juvenis (\pm desvio padrão) de *Folsomia candida* nos ensaios de reprodução em solo natural com diferentes concentrações de metidationa. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett). Onde C0 (controle), C1 (0,132 mg/kg), C2 (0,265 mg/kg) C3 (0,53 mg/kg), C4 (1,06 mg/kg) e C5 (2,12 mg/kg).

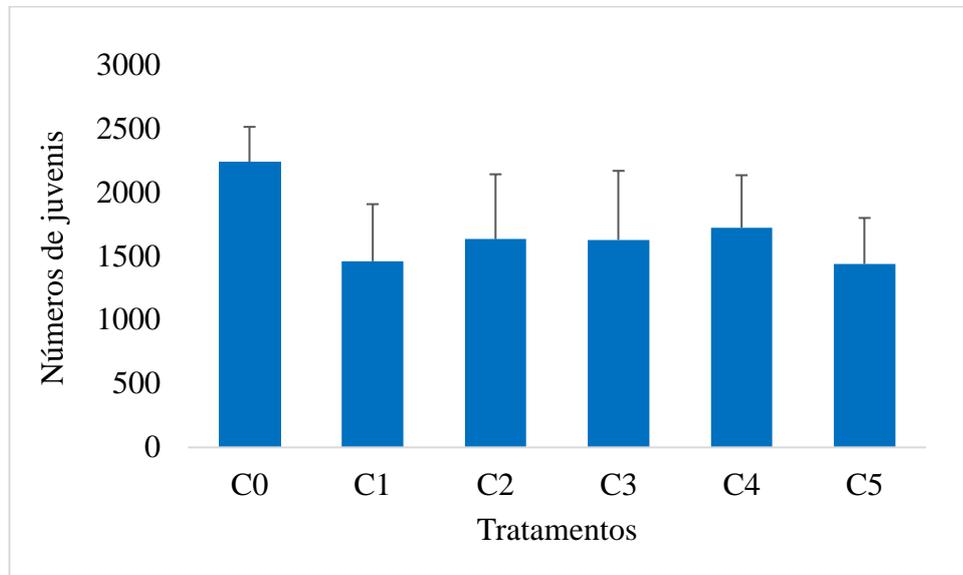


Fonte: Autora, 2022.

4.2.2 Ensaios de reprodução com enquitreídeos

Os dados de reprodução de enquitreídeos cumpriram os pressupostos de distribuição normal e homogeneidade das variâncias, condições para o uso da ANOVA. O coeficiente de variação foi inferior a 50 %, sendo assim, o ensaio foi válido. Os valores das médias de reprodução encontram-se na Figura 11. As diferentes concentrações da metidationa não ocasionaram diferenças significativas na reprodução dos enquitreídeos quando comparadas ao controle. Com isso, os enquitreídeos não foram sensíveis a nenhuma das concentrações testadas deste inseticida, como apresentado na Figura 11.

Figura 11 - Número médio de juvenis (\pm desvio padrão) de *Enchytraeus crypticus* nos ensaios de reprodução em solo com diferentes concentrações de Metidationa. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (ANOVA, teste de Dunnett). Onde C0 (controle), C1 (0,132 mg/kg), C2 (0,265 mg/kg) C3 (0,53 mg/kg), C4 (1,06 mg/kg) e C5 (2,12 mg/kg).



Fonte: Autora, 2022.

5 DISCUSSÃO

5.1 BIOBED

A metidationa presente no *Biobeds* levou a letalidade dos colêmbolos e enquitreídeos, levando assim a constatar através dos ensaios, que esses biorreatores estão com uma grande quantidade de contaminação e que esse *Biobeds* não teve o tempo necessário para que o inseticida fosse degradado. A biomistura que está presente no solo também é essencial para a degradação seja eficiente, como estudos realizados por Dias *et al.* (2021) onde demonstraram a biomistura com húmuss foi eficiente para a degradação do inseticida fosmete, e a reprodução dos *F. candida* foi aumentando com o passar do tempo. Esse inseticida é um organofosforado do mesmo grupo da metidationa.

A metidationa é um inseticida altamente tóxico e, pelas quantidades que foram adicionadas, através de simulação de derrame acidental de 1 L, a dose foi muito alta e levará mais tempo para que ele seja degradado. Os estudos comprovam a importância de se fazer ensaio ecotoxicológicos, pois esses organismos usados para ensaio são sensíveis a qualquer mudança ou contaminação, ou seja, são bioindicadores de que no solo apresenta alguma ecotoxicidade. Ao iniciar os trabalhos com os biobeds e este produto, não tínhamos informações sobre a sua ecotoxicidade, o que nos levou a realizar a parte experimental de laboratório para obtenção das concentrações de efeito.

Estudos mostram a eficiência dos *Biobeds* para degradação de diferentes ingredientes ativos de agrotóxicos, como fungicidas, inseticidas e até mesmo de outros contaminantes que estão presentes em água residuais, conforme a revisão de Dias *et al.* (2020). Os tempos de degradação e redução da ecotoxicidade são variáveis a depender da dose aplicada, do substrato, e do produto. Porém, os resultados do estudo com o metidationa realizado por Costa (2022) com esse mesmo *Biobed*, mostrou que após 90 dias de sua montagem e derrame acidental em ambos os ensaios de reprodução, indicaram que este tempo não foi suficiente para degradar o agrotóxico e reduzir a ecotoxicidade para os organismos como os enquitreídeos e colêmbolos.

Substrato alternativos com vermicomposto e acículas de pinus foram avaliados como alternativas para *Biobeds* no sul do Brasil por Dias *et al.* (2021). Os autores avaliaram a degradação do inseticida organofosforados Fosmete. Os resultados apontaram a presença de efeitos tóxicos para colêmbolos nas duas biomisturas alternativas até 30 dias, mas que após esse período, o substrato dos biobeds não ocasionava efeitos tóxicos, indicando a depuração do

sistema. Para os enquitreídeos, efeitos tóxicos só ocorreram com amostras com menos de um mês; após o tempo de 30 dias, eles apresentaram reprodução nas biomisturas contaminadas semelhante ao controle.

Carniel *et al.* (2020) estudaram os riscos do mancozeb e clorpirifós quando descartados continuamente no *Biobed* e em solos naturais, utilizando teste padronizados de ecotoxicidade, para as minhocas (*Eisenia andrei*), enquitreídeos (*E. crypticus*) e colêmbolos (*F. candida*). Eles constataram que a biomistura pode reduzir a toxicidade dos efluentes do Clorpirifós e Mancozeb e o derramamento acidental do Clorpirifós. Os organismos mais sensíveis foram os colêmbolos, quando comparados às minhocas e enquitreídeos. Estes organismos continuaram apontando ecotoxicidade mesmo após 420 dias, indicando ser necessário mais tempo para a degradação do agrotóxico.

Romero *et al.* (2019) comprovaram a eficiência de um *Biobed* composto por solo, brotos de videira e vermicomposto proveniente de vinhaça, na degradação de imidacloprid, metalaxil e tebuconazole. Delgado-Moreno *et al.* (2019) também relataram bons resultados ao avaliar, dentre outras composições, um *Biobed* composto por solo, vermicomposto e restos de poda de oliveiras. Ao final de 84 dias de incubação do *Biobed* foi possível atingir uma taxa de degradação de 94% dos contaminantes emergentes presentes em águas residuais (diclofenaco, ibuprofeno e triclosan).

5.2 AVALIAÇÃO DE ECOTOXICIDADE DAS CONCENTRAÇÕES DA METIDATIONA

Através dos dados apresentados neste trabalho, podemos inferir que os organismos mais sensíveis a metidationa foram os colêmbolos, verificando que a metade da dose do ideal foi verificado uma redução significativa na reprodução, e na dose ideal e superior teve uma letalidade de 100 %, com comparação ao controle. Para os enquitreídeos, as doses apresentadas não tiveram redução significativas na reprodução, isso mostra que eles são mais resistentes que os colêmbolos.

Os colêmbolos foram mais sensíveis a esse inseticida pois ele controla insetos na cultura da maçã como a "mosca-das-frutas" e "bicudo" na cultura do algodão (ADAMA, 2022), e esse organismo são mais parecidos fisiologicamente a um inseto.

Foi verificado que mesmo na dose abaixo do ideal, os colêmbolos não tiveram reprodução alguma, sendo considerados organismos muito sensíveis a qualquer mudança na composição do solo. Minimizar o risco de uso de agrotóxicos é um objetivo importante na manutenção da funcionalidade do solo e da qualidade ambiental. Devemos considerar a classe

do solo e a sensibilidade de diferentes grupos de organismos não-alvo antes da determinação das concentrações e para licença de agrotóxicos. Além disso, o risco para outros vertebrados, incluindo humanos, não pode ser descartado.

O estudo de Carvalho *et al.* (2009) com abelhas já apontava a alta ecotoxicidade do ingrediente ativo metidationa. Após uma hora de aplicação, observou-se 71 e 68% de mortalidade em abelhas e, 9 horas após, causou 100% das mortes. Nas primeiras horas, as abelhas tratadas com esse produto apresentaram distúrbios de coordenação motora, incapacidade de voo e prostração.

Porém, até o presente, são escassos os trabalhos na literatura de estudos envolvendo o efeito de inseticidas organofosforado com metidationa (como o Suprathion 400 EC) sobre os colêmbolos e enquitreídeos. Na literatura científica, há trabalhos que mostram outros ingredientes ativos com os mesmos organismos usado nesse trabalho.

Os colêmbolos também tem apresentado Carniel *et al.* (2019) avaliaram o efeito do fungicida mancozeb sobre os colêmbolos e enquitreídeos em solos subtropicais brasileiros (Latossolo e Argissolo) através de ensaios ecotoxicológicos. realizando os mesmos ensaios que no presente trabalho. O mancozeb reduziu a reprodução dos colêmbolos e a sobrevivência e reprodução os enquitreídeos. Os autores também demonstraram que a os efeitos de ecotoxicidade foram mais pronunciados em Latossolo do que em Argissolo.

Os colêmbolos tem se mostrado muito sensíveis aos agrotóxicos do grupo dos organofostorados. Estes organismos mostraram-se altamente sensíveis ao Clorpirifós, conforme apresentado por Santos *et al.* (2012), em ensaios de fuga, onde 82% deles fugiram para o solo não contaminado. Natal-da-Luz *et al.* (2012), também demonstrou alta sensibilidade dos colêmbolos ao Diazinon aplicado em campo, enquanto observou-se ausência de ecotoxicidade para enquitreídeos.

A menor sensibilidade dos enquitreídeos também foi apontada por Rocha (2017) em estudos com Score® 250 EC e Kraft® 36 EC sobre a reprodução de *E. crypticus*, avaliando a densidade de populações ao longo de 84 dias após a contaminação. Os autores demonstraram que nos ensaios de reprodução não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

Mesmo no caso de herbicidas, os colêmbolos também se mostram sensíveis, como indicado por Oliveira, *et al.* (2021), que estudou o comportamento de fuga dos *F. candida* expostos a Ametrina. Assim, devido à sua alta sensibilidade e à ampla gama de produtos que eles respondem, nossos resultados corroboram que os colêmbolos da espécie *F. candida* são recomendados para monitoramento da eficiência de biobeds.

6 CONCLUSÃO

A metidationa afetou a sobrevivência e reprodução das populações de colêmbolos (*F. candida*), enquitreídeos, (*E. crypticus*), tanto nos *Biobeds* com a biomistura de acícula quanto com solo agrícola. Como houve letalidade dos organismos adultos, podemos concluir que o período avaliado não foi suficiente para a degradação do agrotóxico no sistema, o tamanho do sistema pode ser um fator, isso devido provavelmente à alta dose que foi derramada nos *Biobeds*. Se esse agrotóxico tivesse um derrame acidental em campo, ele irá demorar muito tempo para ser degradado.

Nas diferentes concentrações da metidationa, a reprodução dos colêmbolos foi muito afetada pelas concentrações mesmo com a concentração prevista a ser aplicada em campo para o controle do bicudo (*A. grandis*), praga da cultura da cultura do algodão. Isso mostra que esse organismo não-alvo (*F. candida*) teve uma alta sensibilidade a esse produto. Os colêmbolos são importantes para o solo, onde ajudam na fertilidade e ecologia microbiana, e por serem sensíveis, são recomendados para o monitoramento da eficiência dos *Biobeds*. Os enquitreídeos por sua vez, não foram sensíveis a metidationa e não demonstrou nenhuma redução significativa na sua reprodução.

REFERÊNCIAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas **NBR/ISO 11267**: Qualidade do solo - Inibição da reprodução de Collembola (*Folsomia candida*) por poluentes do solo. Rio de Janeiro, 2011.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR/ISO 16387**: qualidade do solo: efeitos de poluentes em Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*): determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro, 2012.
- ADAMA. Suprathion 400 EC. 2015. Disponível em: <https://www.adama.com/brasil/pt/produtos/inseticidas/suprathion-400-ec.html>. Acesso em: 30 out. 2022.
- AMORIM, M. J. B., PEREIRA, C., MENEZES-OLIVEIRA, V. B., CAMPOS, B., SOARES, A. M. V. M., LOUREIRO, S. Assessing single and joint effects of chemicals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* (Collembola) in soil. **Environmental pollution**, v.160, p.145-52, 2012. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.09.005
- BARETTA, D. *et al.* Fauna edáfica e qualidade do solo. **Tópicos em ciência do solo**, v. 7, p. 119-170, 2011.
- BARETTA, D.; SANTOS, J.C.P.; MAFRA, A.L.; WILDNER, L.P.; MIQUELLUTI, D.J. Fauna Edáfica Avaliada por Armadilhas e Catação Manual Afetada pelo Manejo do Solo na Região Oeste Catarinense. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.2, p.97-106, 2003.
- BRASIL. Lei nº. 7.802, de 11 de julho de 1989. **Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder legislativo, Brasília, 11 de julho de 1989.
- BORSOLI, A.; RIBEIRO DOS SANTOS, P. R.; TAFFAREL, L. E.; GONÇALVES JÚNIOR, A. C. AGROTÓXICOS: HISTÓRICO, ATUALIDADES E MEIO AMBIENTE. **Acta Iguazu**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 86–100, 2000. DOI: 10.48075/actaiguaz.v3i1.9650. Disponível em: <https://e-revista.unioeste.br/index.php/actaiguazu/article/view/9650>. Acesso em: 3 nov. 2021.
- BROWN, G.G.; FRAGOSO, C. **Minhocas na América Latina: Biodiversidade e ecologia**. Londrina, Embrapa Soja, p.547, 2007.
- BRUSSAARD, L.; AANEN, D.K.; BRIONES, M.J.I.; DECAËNS, T.; DE DEYN, G.B.; FAYLE, T.M.; JAMES, S.W.; NOBRE, T. **Biogeography and Phylogenetic Community Structure of Soil Invertebrate Ecosystem Engineers: Global to Local Patterns, Implications for Ecosystem Functioning and Services and Global Environmental Change Impacts Soil Ecology and Ecosystem Services**. Oxford University Press Oxford. pp. 271– 274. 2012.

CARNIEL, L. S. C. Avaliação do risco ecológico de mancozebe e clorpirifós para representantes da 43 macro e mesofauna do solo e eficiência de leitos biológicos de descarte. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, 140 p., 2015.

CARNIEL, L. S. C. *et al.* Are there any risks of the disposal of pesticide effluents in soils? *Biobed* system meets ecotoxicology ensuring safety to soil fauna. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 9, p. 1409-1421, 2020.

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

CARSON, Rachel. Primavera silenciosa. São Paulo: Melhoramentos. 1964.

CARVALHO, Miguel Mundstock Xavier de; NODARI, Eunice Sueli; NODARI, Rubens Onofre. “Defensivos” ou “agrotóxicos”? História do uso e da percepção dos agrotóxicos no estado de Santa Catarina, Brasil, 1950-2002. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 75-91, jan. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-59702017000100002>. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-59702017000100002>. Acesso em: 20 set. 2022.

CARVALHO, S. M.; CARVALHO, S. A.; CARVALHO, C. F.; FILHO, B. J. S. S.; BAPTISTA, A. P. M. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 597-606, 2009.

CASTILLO, M. del P.; TORSTENSSON, L.; STENSTROM, J. *Biobeds* for environmental protection from pesticide use - A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 56, p. 6206-6219, 2008.

CASTILLO, del P. TORSTENS, L. Effect of *Biobed* Composition, Moisture, and Temperature on the Degradation of Pesticides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v 55, p 5725–5733, 2007.

CASTRO, V. L. S. S. Uso de misturas de agrotóxicos na agricultura e suas implicações toxicológicas na saúde. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2009.

COLEMAN, D.C.; CALLAHAM, M. A. Jr.; CROSSLEY, D. A. Jr. **Fundamentals of soil ecology**. San Diego: Academic, 1995. 205p.

COOPER, R. J.; FITT, P.; HISCOCK, K. M.; LOVETT, A. A.; GUMM, L.; DUGDALE, S. J.; RAMBOHUL, J.; WILLIAMSON, A.; NOBLE, L.; BEAMISH, J.; HOVESEN, P., 2016. **Assessing the effectiveness of a three-stage on-farm *biobed* in treating pesticide contaminated wastewater**, **J. Environ. Man.** v.181, p.874-882. DOI 10.1016/j.jenvman.2016.06.047

COSTA, C. A. de. **Monitoramento da eficiência de *Biobeds* com solo e com biomistura para o descarte do inseticida organofosforado Suprathion 400 ec (metidationa)**. 2021. 126 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em

Ecosistemas Agrícolas e Naturais (PPGEAN), Universidade Federal de Santa Catarina – Campus de Curitibanos, Curitibanos, 2022.

CROPLIFE. **Leitos Biológicos**. Disponível em: https://cursos.croplifela.org/pt/cursos-estudantes?view=cursoiniciar&curso=5&modulo=12&index_atual=24. Acesso em: 30 out. 2022.

DIAS, L. de A. **Tecnologia para Descarte e Tratamento de Resíduos de Agrotóxicos: Avaliação de Materiais Alternativos no Substrato de *Biobeds***. 2020. 117 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2020.

DIAS, L. de A. *et al.* Pine Litter and Vermicompost as Alternative Substrates for *Biobeds*: Efficiency in Pesticide Degradation. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 7, p. 1-13, 2021.

DIAS, L. de A. *et al.* Destination of pesticide residues on *Biobeds*: State of the art and future perspectives in Latin America. **Chemosphere**, v. 248, p. 126038, 2020.

DIEZ, M. C.; LEVIO, M.; BRICEÑO, G.; RUBILAR, O.; TORTELLA, G.; GALLARDO, F. Biochar as a partial replacement of peat in pesticide-degrading biomixtures formulated with different soil types. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 7, p. 1–7, 2013. DOI 10.1166/jbmb.2013.1376

DELGADO-MORENO, L.; BAZHARI, S.; NOGALES, R.; ROMERO, E. Innovative application of *Biobed* bioremediation systems to remove emerging contaminants: Adsorption, degradation and bioaccessibility. **Science of the Total Environment**, v.651, p.990–997, 2019. DOI 10.1016/j.scitotenv.2018.09.268

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Rio de Janeiro, 3 ed., 2013. 356 p

GEBLER, L. Sistema *Biobed* Brasil: Tecnologia para Disposição Final de Efluentes Contaminados com Agrotóxicos Originados na Produção de Frutas de Clima Temperado. Bento Gonçalves: **Embrapa Uva e Vinho**, 2015, 47p. (EMBRAPA UVA E VINHO. Documentos: 94).

GEBLER, L.; PIZZUTTI, I. R.; CARDOSO, C. D.; KLAUBERG FILHO, O.; MIQUELLUTI, D. J.; SANTOS, R. S. S. Bioreactors to Organize the Disposal of Phytosanitary Effluents of Brazilian Apple Production. **Chemical engineering transactions**. v.43, 2015. DOI 10.3303/CET1543058.

IBAMA. **Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: < <http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais> > Acesso em: 28 de outubro de 2022

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 17512-2**: Soil quality - Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior - Part 2: Test with collembolans (*Folsomia candida*). Geneva, 2011.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 11268-2** - Soil quality - Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). 2011.

MENTA, C. Soil Fauna Diversity – Function, Soil Degradation, Biological Indices, Soil Restoration. In: LAMEED, G. A. **Biodiversity Conservation and Utilization in a Diverse World**. Ed. IntechOpen, 296 p., 2012. DOI: 10.5772/51091

NATAL-DA-LUZ, T.; MOREIRA-SANTOS, M.; RUEPERT, C.; CASTILLO, L.E.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J.P. **Ecotoxicological characterization of a tropical soil after diazinon spraying**. *Ecotoxicology*, 21:2163-76, 2012.

NIEMEYER, J. C.; LOLATA, G. B.; CARVALHO, G. M. de; SILVA, E. M. da; SOUSA, J. P.; NOGUEIRA, M. A. Microbial indicators of soil health as tools for ecological risk assessment of a metal contaminated site in Brazil. **Applied Soil Ecology**, v.59, p.96-105, 2012. DOI: 10.1016/j.apsoil.2012.03.019

NIEMEYER, J. C.; CHELINHO, S.; SOUSA, J. P. Soil ecotoxicology in Latin America: current research and perspectives. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v.36, n.7, p.1795-1810, 2017. DOI: 10.1002/etc.3792

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 258 p.

NUNES, M. E. T. **Avaliação dos efeitos de agrotóxicos sobre a fauna edáfica por meio de ensaios ecotoxicológicos com *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) e com comunidade natural de solo**. 2011. 174 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências da Engenharia Ambiental, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2010. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18139/tde-24012011140524/publico/TeseMariaEdnaTNunes.PDF>. Acesso em: 28 out. 2021

OLIVEIRA, J. J.; DE JESUS FERREIRA, L.; CONEGLIAN, C M. R. Comportamento de fuga de *Folsomia candida* expostos a solos contaminados com ametrina. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 315-321, 2021.

ROCHA, André Gomes da. **Avaliação dos efeitos dos agrotóxicos Kraft® 36 EC e Score® 250 EC na flora, micro e mesofauna edáficas**. 2017. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, São Carlos – Sp, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18139/tde-30102017-164459/publico/DissertacaoAndreGomesDaRocha.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2022.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. E., CASTRO-GUTIÉRREZ, V., LIZANO-FALLAS, V. Alternative approaches to determine the efficiency of biomixtures used for pesticide degradation in biopurification systems. In: BIDOIA, E. D., MONTAGNOLLI, R. N. **Toxicity and biodegradation testing: Methods in pharmacology and toxicology**. Springer Science+Business Media, 2018. DOI 10.1007/978-1-4939-7425-2_3

ROMERO, E.; DELGADO-MORENO, L.; NOGALES, R. Pesticide dissipation and enzyme activities in ungrassed and grassed biomixtures, composed of winery wastes, used in *Biobed* bioremediation systems. **Water Air Soil Pollution**. p.230-233, 2019. DOI 10.1016/j.scitotenv.2019.07.087

SANTOS, M. J. G.; FERREIRA, M. F. L.; CACHADA, A.; DUARTE, A. C.; SOUSA, J. P. **Pesticide application to agricultural fields: effects the reproduction and avoidance behaviour of *Folsomia candida* and *Eisenia andrei*.** *Ecotoxicology*, 21:2113–2122, 2012.

SOUZA, C. R. *et al.* Impact of insecticides on non-target arthropods in watermelon crop. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1789-1801, 2012.

VASCONCELOS, Yuri. Agrotóxicos na berlinda. **Pesquisa FAPESP, São Paulo, ano**, v. 19, 2018.

WESTHEIDE, W.; GRAEFE, U. Two new terrestrial Enchytraeus species (Oligochaeta, Annelida). **Journal of Natural History**, v. 26, n. 3, p. 479-488, 1992.