



ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DOS FUNGICIDAS EPOXICONAZOL E PIRACLOSTROBINA EM SOLO ARTIFICIAL TROPICAL UTILIZANDO *Folsomia candida* E *Enchytraeus crypticus*

Palavras-Chave: AGROTÓXICOS, BIOINDICADORES, ECOTOXICOLOGIA.

Autores(as):

BRUNA DE OLIVEIRA SILVA SANTOS, FT – UNICAMP

Prof.^a Dr.^a CASSIANA MARIA REGANHAN CONEGLIAN (orientadora), FT – UNICAMP

INTRODUÇÃO

A Revolução Verde, que teve início na década de 60, tinha o intuito de aumentar a produção agrícola e diminuir a perda econômica. Parte destas perdas se davam por conta de pragas, como insetos e fungos, que devastavam as lavouras e geravam prejuízo. Sendo assim, uma das soluções encontradas foi a utilização de agrotóxicos, produto que vem sendo consumido cada vez mais pelos grandes produtores (DUTRA e SOUZA, 2017).

De acordo com o Decreto nº 4.074 (2002), agrotóxicos e afins são considerados produtos de processos físicos, químicos ou biológicos, destinado aos setores da produção agrícola. Possuem como finalidade alterar a composição da flora ou da fauna, preservando-a de ações danosa de seres vivos nocivos, além de substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento. O decreto ainda prevê que os Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Saúde e do Meio Ambiente, são responsáveis pelo registro de agrotóxicos no Brasil, devendo estabelecer diretrizes e exigências em relação aos dados e informações a serem apresentadas para o registro e reavaliação dos agrotóxicos. O decreto também estabelece diretrizes que buscam a minimização dos riscos que estas substâncias provocam no meio (BRASIL, 2002).

O consumo de agrotóxico no Brasil cresce a cada ano, com venda total de ingredientes ativos para o ano de 2021 de 720,87 mil toneladas, valor 5,03% mais alto que o total vendido no ano de 2020, que ficou em torno de 686,35 mil toneladas. A venda do ingrediente ativo epoxiconazol chegou a 1.157,96 toneladas, já a do ingrediente ativo piraclostrobina chegou a 4.281,85 toneladas (IBAMA, 2022).

Os ingredientes epoxiconazol e piraclostrobina na formulação comercial Abacus HC são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob o nº 9210, composta por 16% m/v de (2RS, 3SR)-1-[3-(2-chlorophenyl)-2,3-epoxy-2-(4-fluorophenyl)propyl]-1 H-1,2,4-triazole (epoxiconazol) e 26% m/v de Methyl N-{2-[1-(4-chlorophenyl)-1 H-pyrazol-3-yloxymethyl]phenyl}(N-methoxy)carbamate (piraclostrobina). O epoxiconazol age inibindo a biossíntese do ergosterol, um constituinte da membrana celular dos fungos, já o piraclostrobina age inibindo o transporte de elétrons nas mitocôndrias das células dos fungos, impedindo a formação de ATP (adenosina trifosfato), essencial nos processos metabólicos dos fungos. O fungicida é de categoria 4 (pouco tóxico), quanto a toxicidade, e classe II (produto muito perigoso ao meio ambiente), quanto ao potencial de periculosidade ambiental. É recomendado para uso nas culturas: algodão, aveia, amendoim, café, cana-de-açúcar, cevada, girassol, milho, soja e trigo (BULA ABACUS HC, s.d.).

Os agrotóxicos causam inúmeros impactos na saúde do meio ambiente e dos seres humanos. Possuem fácil dispersão pelo ambiente, a partir de ventos, escoamento e percolação, contaminando águas e solos, o que prejudica a vida dos seres destes ecossistemas. Nos seres humanos podem causar intoxicação, levando a sintomas como dores de cabeça, náuseas, dores no estômago e até mesmo a morte (LOPES E ALBUQUERQUE, 2018). Diante disto, são necessário estudos que avaliam o impacto do uso dessas substâncias no solo, como a realização de testes ecotoxicológicos com os agrotóxicos, e no presente estudo foram utilizados os organismos da fauna edáfica *Enchytraeus crypticus* e *Folsomia candida* como bioindicadores.

O *E. crypticus* pertence a classe Clitellata, filo Annelida, ordem Oligochaeta e família Enchytraeidae. São organismos hermafroditas anfimíticos obrigatórios, mas também podem se reproduzir por partenogênese ou autofecundação, além de fragmentação. Sua importância para o solo está no fato de que realizam decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes. Outro ponto é que podem melhorar o fluxo de água e ar pelo solo em pequena escala, considerando sua escavação limitada. Por possuírem sensibilidade a compostos antropogênicos, são frequentemente utilizados para testes ecotoxicológicos (AMORIM, et al., 2021).

O *F. candida* pertence a classe Collembola, filo Arthropoda, família Istomadae e gênero *Folsomia*. São organismos vulneráveis as contaminações do solo, sendo frequentemente utilizados em testes ecotoxicológicos. A população é composta por fêmeas partenogênicas, que realizam postura de ovos. Alimenta-se de hifas fúngicas, realizam decomposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (FOUNTAIN e HOPKIN, 2005).

Diante do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a toxicidade dos fungicidas epoxiconazol e piraclostrobina, na formulação comercial Abacus HC, utilizando como organismos bioindicadores *E. crypticus* e *F. candida*.

METODOLOGIA

O teste de toxicidade com o *E. crypticus* foi realizado de acordo com a ABNT NBR ISO 16387 (2012). Em cada recipiente adicionou-se 30 gramas de solo contaminado com o fungicida, juntamente com 10 organismos clitelados. O teste teve duração de 21 dias, e os organismos foram alimentados nos dias 0, 7 e 14, com farinha de aveia e a umidade foi corrigida com água destilada. Decorridos 21 dias, finalizou-se o teste colocando álcool 70° e rosa de bengala em cada recipiente, e após pelo menos 24h em temperatura ambiente, os organismos ficaram clorados. Para a realização da contagem, o conteúdo dos recipientes foi lavado em água corrente, com peneira de malha 53 µm, transferido para bandejas com água para a realização da contagem manual.

O teste de toxicidade com o *F. candida* foi baseado na ABNT NBR ISO 11267 (2019). Em cada recipiente foi colocado 30 gramas de solo contaminado com o fungicida, juntamente com 10 organismos juvenis com aproximadamente 12 dias de vida. O teste teve duração de 28 dias, e os organismos foram alimentados nos dias 0, 7, 14 e 21, com fermento biológico seco e a umidade foi corrigida com água destilada. Para a finalização, o conteúdo de cada recipiente foi colocado em recipientes plásticos com capacidade de 1000 ml, adicionou-se água destilada e 10 gotas de tinta de carimbo solúvel azul. Com este processo, os organismos ficam sobre a água e ocorre um contraste com a cor azul, em seguida, os recipientes foram fotografados com câmera profissional CANON T7 e a contagem foi realizada com o software Paint.

Os testes permaneceram em estufa durante todo o tempo, com temperatura 20±2°C e fotoperíodo de 16h:8h (claro:escuro), seguindo suas normas. Foi utilizado Solo Artificial Tropical (SAT) nos dois testes, considerando-se uma adaptação do solo artificial OECD (OECD, 1984), composto por 75% de areia industrial fina, 20% de caulim e 5% de fibra de coco, baseando-se na ABNT NBR 15537 (2014).

As concentrações de Abacus HC utilizadas foram baseadas nas recomendações da bula do agrotóxico, portanto considerou-se concentrações que incluam o menor e o maior valor recomendado

para aplicação. O menor valor era 0,25 e o maior 0,5 em litros de produto comercial por hectare. Sendo assim, utilizou-se as concentrações apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Concentrações de Abacus HC utilizadas nos testes de toxicidade

Concentrações	Concentração de Abacus HC (µl/kg de solo seco)	Concentração de Epoxiconazol (µg/kg de solo seco)	Concentração de Piraclostrobina (µg/kg de solo seco)
C0	0	0	0
C1	0,036	9,36	5,76
C2	0,072	18,72	11,52
C3	0,108	28,08	17,28
C4	0,144	37,44	23,04
C5	0,180	46,80	28,80
C6	0,216	56,16	34,56

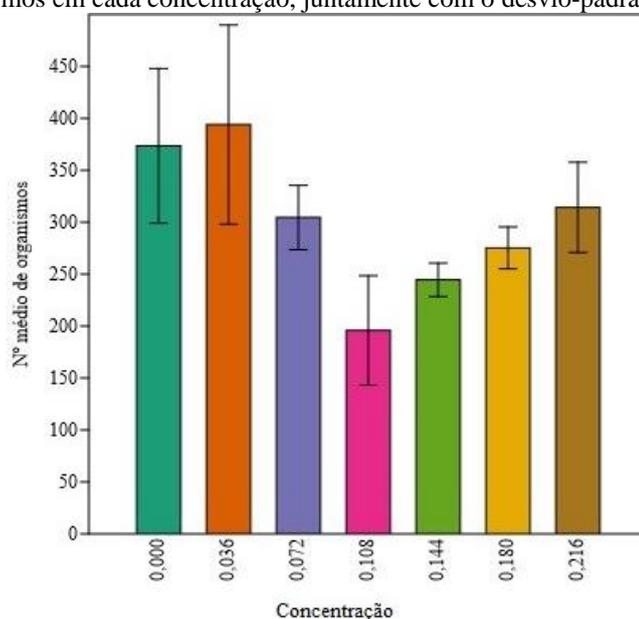
Fonte: Autoria própria, 2023.

Para o *E. crypticus* foram consideradas as concentrações C0; C1; C2; C3; C4; C5 e C6; já para o *F. candida* foram consideradas C0; C1; C2; C3; C4 e C6; por conta de erro ocorrido na C5. Após a contagem de organismos de cada teste, a análise estatística foi realizada pelos softwares Past e RStudio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o teste com *E. crypticus* não foi possível calcular o CE_{50} , no entanto, encontrou-se CE_{20} igual a 0,075 µl/kg de solo seco. Sendo assim, o valor próximo a segunda menor concentração (0,072 µl/kg de solo seco) ocorreu diminuição de 20% na reprodução dos organismos. A partir do teste post hoc de Dunn, verificou-se que não houve diferença significativa entre as concentrações.

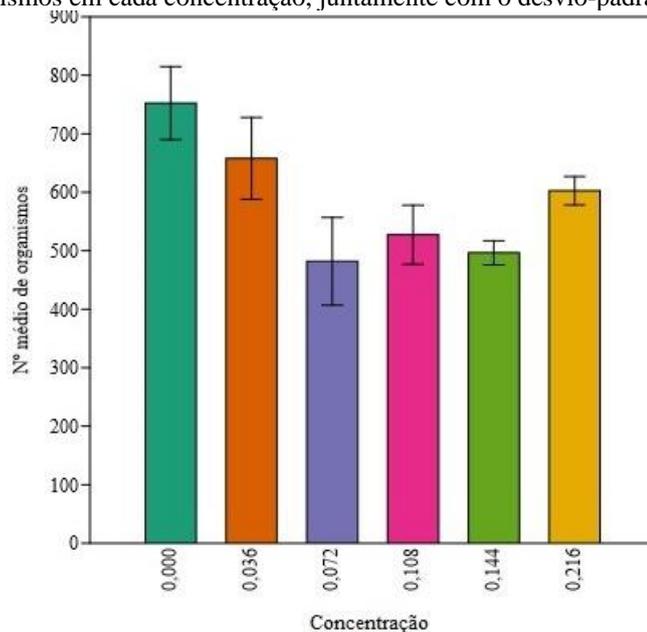
Figura 1 – Resultados do teste de toxicidade crônica com *E. crypticus* na presença do fungicida: número médio de organismos em cada concentração, juntamente com o desvio-padrão



Fonte: Autoria própria, 2023.

Para o teste com *F. candida* também não foi possível calcular o CE_{50} , porém encontrou-se CE_{20} igual a 0,043 µl/kg de solo seco, valor próximo a menor concentração analisada (0,036 µl/kg de solo seco). Nota-se que o contaminante causou diminuição de 20% na reprodução dos organismos, próximo a menor concentração analisada. Pelo teste de Dunnet, evidencia-se diferença significativa nas concentrações 0,072; 0,108; 0,144 µl/kg de solo seco.

Figura 2 – Resultado do teste de toxicidade crônica com *F. candida* na presença do fungicida: com o número médio de organismos em cada concentração, juntamente com o desvio-padrão



Fonte: Autoria própria, 2023.

Sendo assim, os resultados indicam que as doses recomendadas para o agrotóxico podem interferir na reprodução de organismos não alvos no solo. Mesmo que em alguns casos a diferença não é significativa, pode-se notar variação na reprodução quando se tem o contaminante no solo.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nota-se que o fungicida Abacus HC, composto pelos ingredientes ativos epoxiconazol e piraclostrobina, foi tóxico para os organismos testados. Nota-se que mesmo estando de acordo com as doses recomendadas de aplicação, o produto interfere na reprodução de organismos não alvo. O agrotóxico causa interferências no solo que é aplicado, considerando que os organismos utilizados nos testes possuem um papel importante no ecossistema edáfico.

BIBLIOGRAFIA

AMORIM, M. J. B., et al. Annelid genomes: *Enchytraeus crypticus*, a soil model for the innate (and primed) immune system. **Lab Animal**, v. 50, n. 10, p. 285-294, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41684-021-00831-x>. Acesso em: 20 jul. 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – **ABNT NBR ISO 11267/2019** Qualidade do solo — Inibição da reprodução de *Collembola* (*Folsomia candida*) por poluentes do solo. Rio de Janeiro, 2019. 18p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – **ABNT NBR 15537/2014** Ecotoxicologia terrestre: Ecotoxicidade aguda: Método de ensaios com minhocas. Rio de Janeiro, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – **ABNT NBR ISO 16387/2012** Qualidade do solo - Efeitos de poluentes em *Enchytraeidae*) - Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência, 2012.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei 7802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins e de outras providências. **Diário Oficial da União**, 2002. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm. Acesso em: 20 jul. 2023.

BULA ABACUS HC. **Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob o nº 9210**. Disponível em: <https://agriculture.basf.com/br/pt/protecao-de-cultivos-e-sementes/produtos/abacus-hc.html>. Acesso em: 20 jul. 2023.

DUTRA, R. M. S.; SOUZA, M. M. O. de. IMPACTOS NEGATIVOS DO USO DE AGROTÓXICOS À SAÚDE HUMANA. **Hygeia - Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, Uberlândia, v. 13, n. 24, p. 127–140, 2017. DOI: 10.14393/Hygeia1334540. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/hygeia/article/view/34540>. Acesso em: 20 jul. 2023.

FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. Folsomia candida (Collembola): a “standard” soil arthropod. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 50, p. 201-222, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130331>. Acesso em: 20 jul. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 30 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acesso em: 20 jul. 2023.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-1104201811714>. Acesso em: 20 jul. 2023.

OECD Organization for Economic Co-Operation and Development, 1984. Guidelines for the Testing of Chemicals, section 2: effects on biotic systems. Test No. 207: **Earthworm, Acute Toxicity Tests**. DOI: <https://doi.org/10.1787/9789264070042-en>. Acesso em: 20 jul. 2023.