

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CAMPUS DE CURITIBANOS

CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS

CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Altair Maçaneiro Ricardo Filho

Ecotoxicidade de adjuvantes: efeitos para a fauna de solo

Curitibanos

2022

Altair Maçaneiro Ricardo Filho

Ecotoxicidade de adjuvantes: efeitos para a fauna de solo

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

Orientadora: Profa. Dra. Júlia Carina Niemeyer

Coorientadora: M. Sc. Fernanda Benedet de Santo

Curitibanos

2022

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

Filho, Altair

Ecotoxicidade de adjuvantes : Efeitos para a fauna de solo / Altair Filho ; orientadora, Júlia Carina Niemeyer, coorientador, Fernanda Benedet de Santo, 2022.

42 p.

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

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Fauna do solo. 3. Adjuvantes. 4. Ecotoxicologia. I. Carina Niemeyer, Júlia. II. Benedet de Santo, Fernanda. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Agronomia. IV. Título.

Altair Maçaneiro Ricardo Filho

Ecotoxicidade de adjuvantes: efeitos para a fauna de solo

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia
Curitiba, 10 de março de 2022



Documento assinado digitalmente
Samuel Luiz Fioreze
Data: 24/03/2022 14:16:17-0300
CPF: 052.258.059-90
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Samuel Luiz Fioreze
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
Julia Carina Niemeyer
Data: 24/03/2022 13:28:41-0300
CPF: 808.859.000-06
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof.(a) Dr. Júlia Carina Niemeyer
Orientador(a)

Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
Naiara Guerra
Data: 24/03/2022 13:54:42-0300
CPF: 348.641.708-86
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof.(a) Dr. Naiara Guerra
Avaliador(a)

Universidade Federal de Santa Catarina

Leticia Scopel C. Carniel

Dr. Leticia Scopel Camargo Carniel
Avaliador(a)

BASF S.A.

Scopell

Assinado de forma digital por
Scopell
Dados: 2022.03.24 10:41:08
-03'00'

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, e ao meu anjo da guarda por toda proteção, oportunidades, conquistas e objetivos alcançados que tenho recebido desde dia que sai de casa para estudar.

À minha mãe Marilda Krauchuk, meu pai Altair Maçaneiro e meus irmãos Luccas Maçaneiro e João Pedro Maçaneiro, obrigado pelo incentivo, amor e por sempre acreditar sempre em mim.

À minha noiva Amanda Veronezi, por todo carinho, atenção e incentivo durante boa parte da jornada.

À minha família, em especial minhas avós Lídia Pauluk, e Pascoa Ricardo e meu avô João Krauchuk.

Às minhas orientadoras Júlia Carina Niemeyer e Fernanda Benedet de Santo, por todas as oportunidades, dedicação, incentivo, e carinho que recebo desde que entrei na universidade, grato eternamente.

À minha família que a universidade me proporcionou, em especial Iury Borga, Gabriel Matias, Eduardo Rosa, João Pedro, Murilo Furlan, Guilherme Alves e Allan Piovesan.

Aos meus amigos distantes Jorge Eduardo, Ricardo Pereira e Eduardo Askel.

Ao grupo NECOTOX, todos os integrantes, em especial Simone Fontoura, Fabrielle Reis, e Laiara Moreira, obrigado pelo apoio, amizade e pela ajuda nos ensaios.

Agradeço também à UFSC e à BASF pela doação dos adjuvantes utilizados.

A todos professores da UFSC - Campus Curitibanos, pelos ensinamentos na vida profissional e que contribuíram para minha formação.

Aos servidores e técnicos da UFSC - Campus Curitibanos pelos ensinamentos, serviços e estrutura.

À todas as pessoas do meu convívio, que me proporcionaram longos e bons debates, que foram fundamentais na minha formação profissional e como cidadão.

Muito obrigado!

RESUMO

O surgimento da revolução verde logo após a segunda guerra mundial, proporcionou um aumento expressivo nas produções agrícolas e por consequência o surgimento de novas tecnologias como os agrotóxicos e adjuvantes. Os afins também chamados de adjuvantes são moléculas comercializadas que possui a finalidade de aumentar a eficiência dos agrotóxicos, e podem ser divididos em aditivos, que alteram diretamente as características da planta, como a cutícula e os surfatantes que atuam nas propriedades dos líquidos. O registro dos adjuvantes passava pela mesma regulamentação dos agrotóxicos a chamada “lei dos agrotóxicos” Lei 7802, de 11 de julho de 1989. Entretanto, a partir dos atos de 2017, ficou definido que todos os produtos chamados adjuvantes perderiam os registros e os novos produtos não precisariam mais dos dossiês da ANVISA e IBAMA e do registro do MAPA. Vários adjuvantes possuem efeitos nocivos na fauna, como mostra alguns trabalhos, entretanto, não se sabe o real risco dos adjuvantes usados unicamente para a fauna edáfica. A ecotoxicologia é uma ciência que visa estudar moléculas testando em organismos padronizados por normas ABNT NBR ISO, para encontrar possíveis efeitos em organismos não alvo da fauna edáfica. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos ecotoxicológicos dos principais grupos de adjuvantes comercializados como o óleo vegetal de soja (Aureo®), óleo vegetal de casca de laranja (Wetcit Gold®), Noni poli etanol (Agral®), siliconado (Break thru®) e óleo mineral (Nimbus®) para a fauna edáfica através de ensaios fuga, letalidade e reprodução com organismos não-alvo como *F. candida*, *E. andrei* e *E. crypticus* em solo SAT (solo artificial tropical) nas doses recomendadas pelo fabricante. No ensaio de fuga, houve fuga em todos os adjuvantes com os organismos *E. andrei* e *F. candida*. No ensaio de letalidade de *F. candida* houve diferenças estatísticas com o controle, nos produtos Noni poli etanol (Agral®) e óleo mineral (Nimbus®). Nos ensaios de reprodução, houve redução significativa no número de juvenis nos tratamentos com Noni poli etanol (Agral®) e óleo mineral (Nimbus®) para a *F. candida*, e Noni poli etanol (Agral®), óleo mineral (Nimbus®) e siliconado (Break thru®), para o organismo-teste *E. crypticus*. Os resultados mostram que os adjuvantes podem ser tóxicos à fauna edáfica, principalmente os produtos formulados à base de óleo mineral (Nimbus®), siliconado (Break thru®) e Noni poli etanol (Agral®).

Palavras chaves: Adjuvantes. Biologia do solo. Ecotoxicidade Terrestre. Fauna Edáfica.

ABSTRACT

The emergence of the green revolution soon after the second world war, provided a significant increase in agricultural production and consequently the emergence of new technologies such as pesticides and adjuvants. The affines also called adjuvants are commercialized molecules with have the purpose of increasing the efficiency of pesticides, and they can be divided into additives, which directly change the characteristics of the plant, such as the cuticle and the surfactants that act on the properties of liquids. The registration of adjuvants passed through the same regulation of pesticides, the so-called "law of pesticides" Law 7802, of July 11, 1989. However from the acts of 2017, it was defined that all products called adjuvants would lose registrations and new products they would no longer need ANVISA and IBAMA dossiers and MAPA registration. Several adjuvants have harmful effects on the fauna, as shown in some studies, however, the real risk of the adjuvants used solely for the edaphic fauna is not known. Ecotoxicology is a science that aims to study molecules by testing on organisms standardized by ABNT NBR ISO standards, to find possible effects on non-target organisms of edaphic fauna. The objective of this work was to evaluate the ecotoxicological effects of the main groups of commercialized adjuvants such as soybean vegetable oil (Aureo®), orange peel vegetable oil (Wetcit Gold®), Noni poly ethanol (Agral®), silicone (Break thru ®) and mineral oil (Nimbus®) for edaphic fauna through escape, lethality and reproduction tests with non-target organisms such as *F. candida*, *E. andrei* and *E. crypticus* in SAT soil (tropical artificial soil) at the doses recommended by the manufacturer. In the leak assay, all adjuvants leaked with *E. andrei* and *F. candida* organisms. In the lethality assay of *F. candida* there were statistical differences with the control, in the products Noni poly ethanol (Agral®) and mineral oil (Nimbus®). In the reproduction trials, there was a significant reduction in the number of juveniles in the treatments with Noni poly ethanol (Agral®) and mineral oil (Nimbus®) for *F. candida*, and Noni poly ethanol (Agral®), mineral oil (Nimbus®) and siliconized (Break thru®), for the test organism *E. crypticus*. The results show that adjuvants can be toxic to edaphic fauna, especially products formulated based on mineral oil (Nimbus®), siliconized (Break thru®) and Noni poly ethanol (Agral®).

Keywords: Adjuvants. Edaphic Fauna. soil biology. Terrestrial Ecotoxicology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A: Materiais que compõem o Solo Artificial Tropical (SAT).; B: SAT pronto para uso.....	24
Figura 2 - Número médio de indivíduos em solo controle (barras brancas) vs solo contaminado (barras pretas), após 48 horas de exposição em ensaios de fuga. Asteriscos indicam diferenças estatísticas pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$) comparadas ao controle. (a): <i>Eisenia andrei</i> ; (b): <i>Folsomia candida</i>	31
Figura 3 - Ensaio de letalidade: Numero de sobreviventes ao final da exposição \pm desvio padrão. Solo controle (barras brancas) vs. solo contaminado (barras pretas). Asterisco apresenta as diferenças estatísticas pelo teste de Dunn ($p < 0,05$) dos adjuvantes para o controle.	33
Figura 4 - Ensaios de reprodução, onde número médio de juvenis \pm desvio padrão, em solo controle (barras brancas) e solo contaminado (barras pretas). (a): colêmbolos; (b): enquitreídeos. Asterisco indicam diferenças significativas em relação ao controle; ANOVA, teste de Dunnet ($p < 0,05$).	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela com as vendas de agrotóxicos e afins, os valores são crescentes de 2009 a 2020.	15
Tabela 2 - Participação dos adjuvantes no mercado em 2018.....	16
Tabela 3 - Comercialização do óleo vegetal e mineral dos anos de 2009 a 2020	16
Tabela 4 - Adjuvantes escolhidos para os ensaios de ecotoxicidade.....	22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	OBJETIVOS	13
1.1.1	Objetivo geral	14
1.1.2	Objetivos específicos	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.2	AGROTÓXICOS E ADJUVANTES NO BRASIL	15
2.3	A LEGISLAÇÃO SOBRE ADJUVANTES NO BRASIL	17
2.4	TIPOS DE ADJUVANTES	17
2.5	FAUNA DO SOLO	19
2.6	ECOTOXIDADE DOS ADJUVANTES	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	ADJUVANTES SELECIONADOS	22
3.2	SOLO TESTE.....	23
3.3	CONTAMINAÇÃO DO SOLO	24
3.4	ORGANISMOS-TESTES	24
3.4.1	<i>Folsomia candida</i> Willem 1902	24
3.4.2	<i>Eisenia andrei</i> Bouché 1972	25
3.4.3	<i>Enchytraeus crypticus</i> Westheide & Graefe 1992	25
3.5	ENSAIOS	26
3.5.1	Ensaio de fuga	26
3.5.1.1	<i>Colêmbolos</i>	26
3.5.1.2	<i>Minhocas</i>	27
3.5.2	Ensaio de letalidade de colêmbolos	27
3.5.3	Ensaio de reprodução	27
3.5.3.1	<i>Colêmbolos</i>	27
3.5.3.2	<i>Enquitréideos</i>	28
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
3.6.1	Ensaio de fuga de <i>E. andrei</i> e <i>F. candida</i>	29
3.6.2	Ensaio de reprodução e letalidade	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1	ENSAIOS DE FUGA	31
4.2	ENSAIO DE LETALIDADE DE COLEMOLOS.....	32
4.3	ENSAIOS DE REPRODUÇÃO	34

5	CONCLUSÃO.....	37
	<u>REFERÊNCIAS</u>	38

1 INTRODUÇÃO

A produção agrícola brasileira é uma das mais importantes no mundo, e que a cada ano, mantem suas produções como uma das maiores do planeta, a estimativa para produção da safra 21/22 é de 268,2 milhões de toneladas, sendo que este valor é 5% superior à produção da safra anterior (CONAB, 2022). Isso se deve, em grande parte, ao desenvolvimento de novas tecnologias e implementação de novos sistemas que teve início com a revolução verde, ocorrida após a segunda grande guerra, onde estabeleceu-se o uso de cultivares de grande potencial, o uso de cultivares transgênicas, fertilizantes minerais, mecanização e o uso intensivo de agrotóxicos para controlar agentes patogênicos e plantas daninhas (SPADOTTO, 2010; PIMENTEL, 1996). A partir desse período, foram introduzidas técnicas para aumentar a eficiência da produção no campo se tornaram mais comuns o uso destas tecnologias e consequentemente o aumento das produções agrícolas de grandes e pequenas culturas, como a soja e o milho (OCTAVIANO *et al*, 2010).

Agrotóxicos são produtos comerciais recomendados por agrônomos e técnicos agrícolas, para o controle de plantas daninhas, patógenos, e pragas, possuem a função de auxiliar a planta a completar o seu ciclo produtivo, aumentando sua produção, diminuir o uso de mão de obra e aumentando a qualidade dos produtos. Os agrotóxicos podem ser divididos em herbicidas, acaricidas, inseticidas, fungicidas, larvicidas, e são compostos por um ou mais princípio ativo, além de outras moléculas inertes (COUTINHO, 2005).

Os agrotóxicos, quando aplicados na cultura de interesse, podem estar acompanhados de produtos chamados adjuvantes, que auxiliam na eficácia da aplicação, aumentando a superfície de contato, a absorção, evitam perdas como pelo processo de volatilização ou escorrimento (VARGAS; ROMAN, 2006). Os adjuvantes são divididos em dois grandes grupos: os modificadores das propriedades de superfície dos líquidos (surfactantes) e os aditivos (VARGAS; ROMAN, 2006). Ambos são amplamente nos tanques pulverizadores e amplamente comercializados no Brasil.

Até 2017, a Lei 7802, de 11 de julho de 1989 determinava que todos os adjuvantes a serem comercializados em território brasileiro eram passíveis pelas autoridades federais responsáveis pelos setores da saúde, do meio ambiente e da agricultura, respectivamente a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), portanto passavam por estas regulações. Entretanto, com a publicação dos Atos Nº 104 e Nº 108, em novembro de 2017, o MAPA determinou que os produtos

classificados como adjuvantes não precisariam de qualquer autorização, passando a ser produtos de venda livre, pela justificativa de que os adjuvantes não se enquadram na Lei 7802 de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 2017).

Uma das ciências utilizadas para as avaliações toxicológicas é o uso da ecotoxicologia, uma ciência que estuda os efeitos químicos e físicos de substâncias sobre os ecossistemas, e tem como base os ensaios de ecotoxicidade, em que organismos vivos são expostos aos contaminantes seguindo protocolos. Estudos mostram que alguns adjuvantes como o Agrovital® e Wetcit Gold® testados em ensaios ecotoxicológicos com aranhas *Pardosa agrestis* mostraram uma expressiva redução na sua capacidade de predação, causando sérios danos ao organismo (NIEDOBOVA *et al.*, 2019). Portanto, não se sabe o real risco destas moléculas quando utilizados unicamente, nem o nível de toxicidade de cada molécula, uma vez que existe uma alta gama produtos classificados como adjuvantes disponíveis no mercado brasileiro.

A avaliação dos efeitos para a fauna do solo é de extrema importância para garantir a produtividade, uma vez que estes organismos exercem funções importantes para a qualidade do solo (BROWN, 2015). Os organismos da fauna edáfica são classificados de acordo com o seu tamanho corporal em micro, meso e macrofauna, e possuem a função de agentes transformadores de propriedades físicas, químicas e biológicas (SWIFT *et al.*, 1979). Estes organismos são sensíveis a manejos agrícolas, e frequentemente são usados como bioindicadores de qualidade do solo (CORREIA; OLIVEIRA, 2000).

A partir disso, considera-se necessária a avaliação ecotoxicológica dos adjuvantes, avaliando os efeitos que eles podem causar sobre as populações de fauna edáfica, o que pode acarretar em impactos sobre a qualidade do solo.

Este trabalho tem como justificativa a grande utilização dos adjuvantes nas lavouras do Brasil e a falta de estudos abordando os efeitos intrínsecos destes para a fauna do solo.

Outro fator importante é a decisão do MAPA em liberar estes produtos como venda livre, sem qualquer recomendação agrônômica para uso. Sendo assim, todas as avaliações que anteriormente eram realizadas passaram a não ser mais obrigatórias, como é caso das avaliações toxicológicas, realizadas pela ANVISA, além das avaliações ecotoxicológicas realizadas pelo IBAMA, o que demonstra que não se sabe o real risco ambiental dessas moléculas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a ecotoxicidade dos principais grupos químicos de adjuvantes para a fauna edáfica, nas doses recomendadas para uso de aplicação de herbicidas.

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar se há comportamento de fuga de minhocas (*Eisenia andrei* Bouché, 1972) e colêmbolos (*Folsomia candida* Willem 1902) para os adjuvantes utilizados nas doses recomendadas;
- Determinar os efeitos sobre a sobrevivência e reprodução de colêmbolos (*F. candida*) e reprodução de enquitreídeos (*E. crypticus*) com as doses recomendadas;
- Indicar, a partir deste trabalho de varredura, se há ecotoxicidade dos adjuvantes para a fauna edáfica, e qual grupo químico apresentou maior e menor ecotoxicidade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.2 AGROTÓXICOS E ADJUVANTES NO BRASIL

O Brasil é um dos mais importantes produtores agrícolas do mundo, tanto em matéria prima para ração animal, como em produtos destinados à alimentação humana, isso se deve às grandes áreas agrícolas do Brasil. O clima tropical e os altos investimentos em pesquisa, possibilitando grandes avanços na agricultura nacional (SANTOS; PYHN, 2003).

Desde 2008 a utilização de agrotóxicos do Brasil ultrapassou países como a China e o Estados Unidos, tornando-se o país com maior volume de comercialização destes produtos no mundo, uma crescente de 190% em relação aos anos anteriores, entretanto, o Brasil ocupa a sétima posição em utilização de agrotóxicos por hectare cultivado (RIGOTTO; VASCONCELOS; ROCHA, 2014; ROCHA; GRISOLIA, 2018; FAO; IFAD, 2019). Segundo Carbonari e Velini (2021) o quociente de impacto ambiental vem diminuindo ao longo dos anos no Brasil, a partir das novas e mais eficientes moléculas de herbicidas lançadas no mercado, isso mostra que as novas moléculas têm menor potencial de contaminação, o que pode explicar o fato do Brasil ter menos utilização de agrotóxicos por hectare cultivado. O boletim anual de consumo de agrotóxicos no Brasil, disponibilizado pelo IBAMA, o montante comercializado no âmbito nacional é de 686,35 mil t de agrotóxicos/ano (BRASIL, 2021).

Tabela 1 - Tabela com as vendas de agrotóxicos e afins, os valores são crescentes de 2009 a 2020.

Ano	Agrotóxicos e afins
2020	686,35 mil t
2019	621,02 mil t
2018	552,64 mil t
2017	549,43 mil t
2016	543,92 mil t
2015	527,90 mil t
2014	506,32 mil t
2013	507,36 mil t
2012	479,94 mil t
2011	422,17 mil t
2010	383,57 mil t
2009	306,79 mil t

Fonte: adaptado de IBAMA, 2022

Os adjuvantes têm papel fundamental na aplicação dos agrotóxicos, atuando no aumento da eficiência da aplicação e ação, quando necessário seu uso como para herbicidas de contato, são substâncias que agem modificando a característica da calda de aplicação ou o agente alvo (CUNHA *et al.*, 2010). Os adjuvantes são cada vez mais usados na agricultura mundial e representam 4% a 5% de participação no mercado de defensivos agrícolas no mundo (Tabela 2).

Tabela 2 - Participação dos adjuvantes no mercado em 2018

REGIÕES	Proteção de cultivo		Adjuvantes	
	Participação de mercado %	Participação de mercado \$	Participação de mercado %	Participação de mercado \$
América do Norte	18%	\$ 8.82 B	6%	\$ 529 M
América Latina	27%	\$ 11.27 B	3% - 4%	\$ 396-529 M
Europa	23%	\$ 13.23 B	2.5%	\$ 281 M
Ásia	27%	\$ 13.23 B	2,50%	\$ 330 M

Fonte: Registro de Agrotóxicos e o Atual Status Regulatório dos Adjuvantes (2018)

Segundo o boletim anual disponibilizado pelo IBAMA (2022), em 2020 a venda de adjuvantes com princípio ativo de óleo mineral estava em 28° em relação a venda total de agrotóxicos e afins, com uma comercialização de 3,52 mil t, e o óleo vegetal estava em 62° com 1,75 mil t. Na figura 3, é possível identificar que os dados sofreram uma redução ao longo dos anos, principalmente depois dos Atos N° 104 e Ato N° 108, de 2017.

Tabela 3 - Comercialização do óleo vegetal e mineral dos anos de 2009 a 2020

Ano	Comercialização de óleo mineral e vegetal
2020	4,70 mil t
2019	6,25 mil t
2018	13,39 mil t
2017	34,71 mil t
2016	36,53 mil t
2015	35,85 mil t
2014	34,94 mil t
2013	44,29 mil t
2012	44,73 mil t
2011	52,23 mil t
2010	49,46 mil t
2009	40,18 mil t

Fonte: adaptado de IBAMA, 2022

É possível observar na tabela 3 que os valores de comercialização do óleo vegetal e mineral começaram a decair a partir do ano de 2018, uma vez que os adjuvantes não possuem

mais registro e nem um acompanhamento das vendas. Possivelmente as vendas de adjuvantes aumentaram no mercado, com o surgimento de novas moléculas, através das facilidades de se obter um produto novo no mercado, pelos atos 107 e 108 de 2017. Os valores mostrados na tabela a partir de 2018 podem ser somente os agrotóxicos a base destes óleos como acaricidas e inseticidas.

2.3 A LEGISLAÇÃO SOBRE ADJUVANTES NO BRASIL

A primeira legislação que tratou do registro dos adjuvantes é a Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989, a qual dissociava e separava os agrotóxicos dos adjuvantes (chamados afins), criando uma confusão sobre a real definição, ou seja, era descrito que os adjuvantes tinham a mesma função dos agrotóxicos, mas não se encaixavam na definição de agrotóxicos, levando à criação do termo “afins” (BRASIL, 1989). Em janeiro de 2002, entrou em vigor o Decreto Nº 4.074, o qual regulamenta a Lei 7.802 de 11 de julho de 1989 e define adjuvante, no Art. 1º. II como: “*produto utilizado em mistura com produtos formulados para melhorar a sua aplicação*” (BRASIL, 2002).

As últimas regulamentações vigentes entraram em vigor em 2017: o Ato Nº 104, no dia 20 de novembro e o Ato Nº 108, no dia 28 de novembro. Segundo essa nova regulamentação, todos os produtos classificados como adjuvantes tiveram cancelados seus registros no MAPA, apesar de continuarem sendo considerados como insumos agrícolas. Outra determinação do decreto é que todos os adjuvantes são produtos de venda livre, sem qualquer necessidade de autorização do MAPA. O motivo pelo qual essas novas regras foram tomadas, é que os adjuvantes não se encaixam na regulamentação de registro obrigatório na Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989 e no Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002.

Atualmente esta para ser aprovada a PL 6299/02, no qual faz algumas mudanças quanto a regulação dos agrotóxicos, o IBAMA e a ANVISA continuaram realizando as avaliações toxicológicas e ecotoxicológicas, entretanto, será de exclusiva autorização do MAPA para aplicar as penalidades e auditar empresas e institutos, além disso terá uma mudança do termo “agrotóxico” para “pesticida” (BRASIL, 2022). A nova PL não cita os adjuvantes, portanto não terá alterações quanto a sua regulamentação.

2.4 TIPOS DE ADJUVANTES

Os adjuvantes podem ser divididos em aditivos e surfactantes (VARGAS; ROMAN, 2006). Os aditivos são moléculas químicas que aumentam a absorção dos agrotóxicos, pois atuam diretamente na cutícula das plantas (VARGAS; ROMAN, 2006). Os principais adjuvantes aditivos são:

- a) **Óleos** (mineral e vegetal): atuam dissolvendo gorduras da cutícula e membrana celular para aumentar a absorção;
- b) **Sulfato de amônia e ureia**: formam íons de sulfato e amônio e reagem com a água, quando dissociado e tem a função de romper ligações na cutícula, abrindo caminho para os herbicidas.

Os surfactantes são adjuvantes que atuam nas propriedades dos líquidos (calda de aplicação), promovendo um ajustamento entre as moléculas, para melhor eficiência do agrotóxico (VARGAS; ROMAN, 2006), visto que o principal solvente utilizado para as aplicações é a água. Os tipos de surfatantes são:

- a) **Espalhantes**: atuam na tensão superficial do líquido, diminuindo o ângulo de contato entre a gota formada e a superfície do alvo (folha), aumentando assim a área de absorção;
- b) **Aderentes**: têm a função de aumentar a aderência dos agrotóxicos + água na planta, fazendo com que não escorra e chegue ao solo, o que consiste em uma forma de perda do agrotóxico;
- c) **Molháveis**: retardam a evaporação da água, fazendo com que a calda permaneça mais tempo sobre a folha para a absorção;
- d) **Emulsificantes**: suspendem um líquido em outro, para reduzir a tensão superficial entre eles; e também para que não haja incompatibilidade entre diferentes princípios ativos adicionados a calda;
- e) **Detergentes**: removem as impurezas da superfície das plantas, para aumentar a área de contato e assim melhorar a absorção;
- f) **Dispersantes**: evitam a aglomeração, para que as partículas se mantenham estáveis por mais tempo.

Dentre as várias composições de adjuvantes estão o óleo mineral (hidrocarbonetos alifáticos) e os vegetais (éster metílico ou etílico de soja, óleo de casca de laranja), além dos álcoois lineares (nonil-fenol), sulfato de amônio, siliconados (Copolímero poliéter – polimetil siloxano), dentre outras diversas composições encontradas no mercado.

Os produtos vendidos como adjuvantes, raramente são classificados em apenas um tipo, ou seja, podem ser espalhantes e aderentes, ou espalhantes, detergente, e molhável, dentre outros exemplos (BELLUCCI *et al.*, 2017).

2.5 FAUNA DO SOLO

O solo é o habitat natural de uma grande quantidade de organismos que tem papel fundamental nos serviços ecossistêmicos, como a ciclagem de nutrientes - de extrema importância para agricultura (BROWN, 2015). A fauna do solo compreende uma grande quantidade de organismos, que podem ser classificados conforme seu tamanho (SWIFT *et al.*, 1979). A microfauna compreende organismos com tamanho corpóreo de 4 à 100 µm, como Nematoda, Protozoa e Rotifera, enquanto a mesofauna é formada por organismo de tamanho corpóreo 100 µm à 2 mm, como Acari, Collembola, Protura, Diplura entre outros. A macrofauna corresponde a organismo de 2 mm à 20 mm, como Araneida, Coleoptera, Megadrili (minhocas), Isopoda, Mollusca, Diplopoda e Chilopoda (SCHUBERT *et al.*, 2017; SWIFT *et al.*, 1979).

Sobre o papel ecológico, a microfauna é composta por organismos que atuam de maneira indireta na ciclagem dos nutrientes; estes organismos predam bactérias e fungos, responsáveis pela mineralização ou a imobilização do material vegetal presente no solo (CORREIA; OLIVEIRA, 2000). Na mesofauna estão incluídos organismos que habitam poros no solo, na camada mais superficial do solo, são de grande importância para controle da microfauna, através da predação, e muito importantes no processo de fragmentação vegetal, além de promoverem a humidificação, agregação do solo, ciclagem de nutrientes e a formação de bióporos (ZAGATTO *et al.*, 2020).

Na macrofauna estão presentes invertebrados de quase todas as ordens da mesofauna, com exceção dos proturos, dipluros e colêmbolos. Também chamados de “engenheiros dos ecossistemas” pela grande capacidade de construir e formar galerias e ninhos no solo, atuam por consequência em aumentar a área superficial para a microfauna, modificando propriedades físicas no solo, além de exercer a fragmentação de animais e vegetais (ZAGATTO *et al.*, 2020), promovem a mumificação, controlam a população da microfauna, mesofauna e de fungos (CORREIA; OLIVEIRA, 2000; BALIN *et al.*, 2017).

A fauna do solo tem grande importância nos ecossistemas agrícolas, por sua participação em todos os processos químicos, físicos e biológicos. A fauna também é muito utilizada como indicador de qualidade do ambiente, uma vez que vários organismos são muito sensíveis a alterações no seu habitat (BERUDE *et al.*, 2015).

2.6 ECOTOXIDADE DOS ADJUVANTES

Avaliar e entender os riscos de produtos químicos para fauna do solo é um dos objetivos da ecotoxicologia, ciência que utiliza elementos da ecologia, como interações entre populações e espécies, além da química e física do solo, para avaliar efeitos de contaminantes sobre os ecossistemas (CARDOSO; ALVES, 2012). A ecotoxicologia terrestre, um dos ramos da ecotoxicologia, se baseia em estudos com solos contaminados, através de ensaios padronizados, utilizando espécies padrões e solo artificial, como o SAT (solo artificial tropical), ou solo natural (NIVA; BROWN, 2019).

Os estudos com adjuvantes ainda são escassos. De Santo *et al.* (2018, 2019) mostraram que o óleo mineral sozinho pode ser mais tóxico para minhocas e colêmbolos do que sua adição a um herbicida do grupo das sulfoniluréias. Stark e Walthall (2003) testaram o efeito agudo e crônico de vários adjuvantes para *Daphnia pulex*, e, apesar de nenhum produto ter alto nível de mortalidade, no ensaio de reprodução alguns apresentaram efeitos negativos sendo o adjuvante R-11® (polyethylene glycol mono (branched p-nonylphenyl) ether) o de maior probabilidade de causar danos nas populações nas doses recomendadas. Alguns trabalhos mostram resultados em estudos usando as moléculas semelhantes aos adjuvantes, como é o caso do Biodiesel, composto por Éster metílico de rícino. Bamgbose e Anderson (2020) testaram as minhocas *Eisenia fetida* em um teste de eclodibilidade de casulos, e concluíram que o óleo vegetal (biodiesel) é tão tóxico quanto o diesel comum. Niedobova (2019) realizaram um estudo utilizando doses de adjuvantes surfatantes formulados como Agrovital® e Wetcit Gold®, e em conjunto com herbicida Roundup klasik pro® (glifosato), e também somente adjuvante em aranhas *Pardosa agrestis*, para avaliar o comportamento das aranhas. Os resultados mostraram que a atividade predatória das aranhas foi reduzida em curto espaço de tempo com a utilização dos adjuvantes, mostrando que existe efeitos maléficos nas aranhas.

Carraschi *et al* (2012) realizaram um ensaio com organismo vertebrado *Phalloceros caudimaculatus*, onde utilizaram várias produtos comerciais de surfatantes em ensaios ecotoxicológicos de toxicidade aguda, utilizando as recomendações de campo, os produtos utilizados foram o Agral® (NONIL FENOXI POL 200 g/L), Aterbane* BRI, (alcoolfenóis com óxido de eteno e sulfonatos orgânicos 466 g L⁻¹), Ag-Bem® (Resina Sintetica Emulsionada + Agente Tensoativo Anionico 387 + 129 g L⁻¹) e Gotafix® (Nonil Fenol Polietileno Glicol Eter g L⁻¹), e em todos os produtos houve sinais de intoxicação como: aumento do batimento opercular; perda da capacidade de arfagem; natação errática e espasmos, entretanto não ocorreu alterações na qualidade da água.

Os trabalhos na literatura ainda são escassos, mas os existentes indicam que pode haver risco para os invertebrados com o uso de adjuvantes. Trabalhos anteriores realizados pelo Grupo

de Pesquisa Ecologia de Ecossistemas, da UFSC Curitibanos (DE SANTO *et al.*, 2018, 2019) nos motivaram a iniciar este trabalho de varredura para responder se os adjuvantes, na dose recomendada de campo, poderiam ocasionar efeitos sobre a fauna edáfica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no campus de Curitibanos, Laboratório de Ecologia (UFSC), no período de 2020 a 2021. Para a realização dos ensaios de ecotoxicidade foram utilizados organismos-teste pré-existentes no Núcleo de Ecologia e Ecotoxicologia do Solo (NECOTOX), vinculado ao Grupo de Pesquisa Ecologia de Ecossistemas. Os ensaios seguiram as normas da *International Organization for Standardization* (ISO), traduzidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), apresentadas nos itens seguintes. Os adjuvantes foram selecionados pelo seu princípio ativo e tipo.

3.1 ADJUVANTES SELECIONADOS

Os adjuvantes escolhidos são os produtos mais utilizadas no Brasil, e outros adjuvantes que possuem poucos relatos na literatura sobre sua ecotoxicologia, como mostra a Tabela 4.

Tabela 4 - Adjuvantes escolhidos para os ensaios de ecotoxicidade.

Marca comercial	Ingrediente ativo	Formulação	Tipo	Titular de registro
Aureo®	Éster metílico de óleo de soja (Óleo vegetal)	Concentrado Emulsionável (EC)	Aditivo	Bayer Ltda
Wetcit Gold®	Óleo de casca de laranja (óleo vegetal)	*	Surfatante	Oro agri international Ltda
Break-Thru®	Copolímero poliéter – polimetil siloxano (siliconado)	Concentrado Solúvel (CS)	Surfatante	Evonik Degussa Ltda
Nimbus®	Óleo mineral (hidrocarbonetos alifáticos)	Concentrado Emulsionável (EC)	Aditivo	Syngenta proteção de cultivos Ltda
Agral®	Noni poli (etilenoxi) etanol (alquil febois etoxilado)	Concentrado Solúvel (CS)	Surfatante	Syngenta proteção de cultivos Ltda

* Asterisco indica informações não encontradas.

Dos produtos utilizados, o Wetcit Gold® é um produto à base de resíduo de casca de laranja, bastante utilizado, e um dos mais novos no mercado e não possui classificação toxicológica e de periculosidade ambiental. Como o produto foi lançado depois de 2017, em 2019, ele não possui bula e nem informação sobre o tipo de formulação (se é concentrado

emulsionável, ou concentrado solúvel). O Agral® é um produto do tipo não-iônico e possui classificação toxicológica da classe I, faixa vermelha (extremamente tóxico) e classificação do potencial de periculosidade ambiental – IV (pouco perigoso). O Nimbus® é um dos produtos à base de óleo mineral mais utilizados possui classificação toxicológica IV – (pouco tóxico) e classificação do potencial de periculosidade ambiental III (produto perigoso ao meio ambiente). O produto Break Thru® com composição a base de silicone possui classificação toxicológica III (medianamente tóxico) e classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental III (produto perigoso ao meio ambiente). O produto Aureo® a base de óleo de soja, possui classificação toxicológica IV (pouco tóxico) e classificação do potencial de periculosidade ambiental IV (produto pouco perigoso ao meio ambiente)

Todos os produtos são utilizados comumente pelos agricultores para a aplicação de herbicidas, fungicidas e inseticidas, e neste trabalho os adjuvantes foram testados usando suas doses recomendadas para herbicidas segundo fabricante, uma vez que as recomendações variam com o agrotóxico a ser aplicado em mistura de tanque (fungicida, inseticida ou herbicida). As doses utilizadas foram calculadas para uma mistura de tanque de 100 L de água por hectare: para o produto Agral® foi utilizado 30 mL; o produto Nimbus® foi utilizado a dosagem de 500 mL; Break Thru® e Aureo® a dose de 100 mL; o Wetcit Gold® a dosagem de 300 mL.

3.2 SOLO TESTE

O solo teste o Solo Artificial Tropical (SAT) foi preparado a partir da adaptação de Garcia (2004). Este solo foi composto por 75 % de areia fina lavada e seca, 20 % de caulim e 5 % de pó de casca de coco. Inicialmente o composto era formado por 10 % de pó de casca de coco (material orgânico), entretanto a redução do material orgânico segue o proposto na norma OECD 226 (2016) e garante representatividade nos solos naturais (NIEMEYER *et al.*, 2018).

Para a realização do ensaio foi inicialmente feita uma lavagem da areia com água corrente a fim de eliminar as partículas muito finas; em seguida foi colocada em estufa à temperatura de 105°C por 24 h. O pó de casca de coco foi peneirado em malha de 5 mm e colocado em estufa de circulação a 40° C por 24 h. O caulim utilizado teve como requisito uma composição mínima de 30 % de caulinita. Em seguida foi feita a mistura dos ingredientes manualmente e a correção do pH em uma faixa de 5,5 a 6,5.

Figura 1 - A: Materiais que compõem o Solo Artificial Tropical (SAT).; B: SAT pronto para uso.



Fonte: Do Autor

3.3 CONTAMINAÇÃO DO SOLO

A dose recomendada pelo fabricante para aplicação dos adjuvantes com herbicida foi utilizada como base em todos os ensaios. Para a realização dos cálculos, o primeiro passo foi calcular a quantidade de solo existente em um hectare (10.000 m^2), assumindo a aplicação do produto nos primeiros 5 cm de solo e uma densidade do solo de $1,5 \text{ g cm}^3$, que, após os ajustes de unidades, resultou em $750.000 \text{ kg de solo ha}^{-1}$.

Uma vez estabelecida a dose recomendada do produto comercial, obteve-se, portanto, a concentração desejada para cada adjuvante. A contaminação ocorreu após o SAT ser pesado e acondicionado em sacos plásticos. Para cada ensaio foi feito o umedecimento levando em consideração os 50% da capacidade de retenção da água do SAT e a substância a ser adicionada.

3.4 ORGANISMOS-TESTES

3.4.1 *Folsomia candida* Willem 1902

A espécie de colêmbolos *F. candida* pertence à classe Entognatha que junto com os insetos, formam a subfilo Hexapoda. São organismos de fácil reprodução no laboratório, pois são partenogênicos. São muito utilizados em ensaios ecotoxicológicos, por possuírem características de sensibilidade a alterações ecológicas. Estes organismos são responsáveis por facilitar os processos de decomposição da matéria orgânica (TRAJANO; BICHUETTE, 2006).

O cultivo dos colêmbolos seguiu a norma ABNT NBR ISO 11267 (ABNT, 2011) e foi realizado em um meio composto por carvão ativado e gesso na proporção 1:10, num recipiente plástico de 9 cm de diâmetro e 5,5 cm de profundidade, sendo mantidos em câmara incubadora a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12h: 12h claro: escuro. Os cultivos foram alimentados semanalmente com o fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) ativado pela adição de gotas de água destilada.

Para a utilização dos organismos, foi feita a indução da oviposição através da troca do meio e isolamento dos ovos. Após a eclosão dos ovos, os juvenis de 10 a 12 dias foram utilizados para os ensaios.

3.4.2 *Eisenia andrei* Bouché 1972

As minhocas da espécie *E. andrei* são representantes da subclasse Oligochaeta, sendo responsáveis por construir galerias no solo, facilitando a infiltração de água e oxigênio, e participando significativamente na ciclagem de nutrientes (HOFFMANN *et al.*, 2009). As minhocas são utilizadas como bioindicadores por serem sensível às ações antrópicas (FERNANDES *et al.*, 2010).

O cultivo das minhocas seguiu o descrito na norma ABNT NBR 17512-1 (ABNT, 2011) e foi realizado em substrato composto por pó de casca de coco e estrume bovino desfaunado e livre de antibióticos, na proporção 1:1, e umedecido com água destilada. A manutenção semanal dos cultivos foi feita pela hidratação e alimentação com estrume bovino desfaunado. A idade dos cultivos para teste foi entre 3 e 12 meses, considerando que as minhocas cliteladas estarão aptas para os ensaios. Os cultivos são mantidos em caixas de 10 litros e em sala climatizada a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, e fotoperíodo 12h: 12h, claro: escuro.

3.4.3 *Enchytraeus crypticus* Westheide & Graefe 1992

Os Enchytraeidae são oligoquetas extremamente diversos na mesofauna, e ocupam a parte superficial do solo (até 20 cm). Eles têm papel importante na ciclagem de nutrientes em solos temperados, e também atuam na microporosidade. Possuem maior sensibilidade quanto à baixa umidade e ao pH (NIVA *et al.*, 2010).

O cultivo dos enquitreídeos segue as recomendações da norma ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012). O cultivo foi realizado em Solo Artificial Tropical (SAT) composto por 75%

areia, 20% caulim e 5% de matéria orgânica, e umedecido até 50% da capacidade de retenção de água. Os organismos foram mantidos em recipiente de 125 mL com furos na tampa para permitir aeração. A alimentação foi feita com farinha de aveia e a manutenção do cultivo realizada semanalmente. Os cultivos foram alocados em incubadora com temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12h: 12h, claro: escuro. Para utilizar os enquitreídeos foi necessária a troca do meio mensalmente, para que os organismos se mantivessem saudáveis, clitelados e aptos aos ensaios.

3.5 ENSAIOS

3.5.1 Ensaio de fuga

O ensaio de fuga é um ensaio comportamental que busca entender se os organismos se permanecem em um meio com determinado contaminante, ou se migram para uma porção de solo que não possui contaminação (ABNT, 2011; ISO, 2007). Os organismos utilizados nos ensaios de fuga foram as minhocas da espécie *E. andrei* e os colêmbolos da espécie *F. candida*. Os ensaios tiveram duração de 48 horas e foram colocados em incubadora com $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, em fotoperíodo de 12h:12h (claro: escuro) (ABNT, 2011; ISO, 2007).

3.5.1.1 Colêmbolos

O ensaio de fuga com colêmbolos seguiu a norma ISO 17512-2 (ISO, 2011). Foram utilizados recipientes de 125 mL com 30 g de solo contaminado ou 30 g de solo controle (com apenas água destilada). As porções de solo foram pesadas nos recipientes-teste com o auxílio de uma divisória, a qual foi removida imediatamente antes de colocar os organismos. Foram realizadas 5 repetições com 20 organismos cada mais uma repetição para aferição dos parâmetros ao final do ensaio (pH e umidade), sem adição de organismos, para cada adjuvante e para o controle. Ao final do ensaio, as porções de solo foram separadas para a contagem dos colêmbolos, o que foi realizado com a adição de água e tinta de carimbo. A validação do ensaio ocorreu quando houve <20% de mortalidade e distribuição aleatória das minhocas na combinação Controle x Controle.

3.5.1.2 Minhocas

As minhocas da espécie *E. andrei* foram submetidas aos ensaios de fuga, seguindo a norma ABNT NBR/ISO 17517-1 (ABNT, 2011). Os organismos foram colocados em uma caixa com duas seções contendo solo-teste e solo-controle, permitindo as minhocas escolher entre os dois solos. A quantidade de solo de cada réplica foi de 250 g de solo umedecido para cada seção. Os ensaios de fuga foram realizados com 5 réplicas para cada combinação de adjuvante x controle, e para a combinação controle x controle. Ao final do ensaio, as porções de solo foram separadas para a contagem das minhocas em cada lado da caixa. A validação do ensaio ocorreu quando houve mortalidade < 10% e distribuição aleatória das minhocas na combinação Controle x Controle.

3.5.2 Ensaios de letalidade de colêmbolos

O ensaio de letalidade, também chamado de ensaio preliminar, seguiu a norma ABNT NBR/ISO 11267 (ISO, 2011). Cada tratamento foi composto por 5 réplicas e mais um parâmetro e então colocados 10 indivíduos de idades entre 10 a 12 dias, em 30 g de solo contaminado ou controle, em recipientes de 125 mL. As réplicas foram colocadas de forma aleatória na incubadora com temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h:12 h (claro: escuro). Foi feita alimentação dos organismos com fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*), e a manutenção na semana seguinte com água destilada (até alcançar o peso inicial) e fermento biológico. A duração do ensaio foi de duas semanas. Após este período, realizou-se a leitura do ensaio de forma semelhante ao ensaio de reprodução, com água e gotas de tinta de carimbo e agitação com um pequeno bastão de madeira, e então a contagem manual dos indivíduos.

O ensaio teve validação seguindo a norma ABNT NBR/ISO 11267, onde a letalidade dos organismos no solo controle dever ser inferior a 20%.

3.5.3 Ensaio de reprodução

3.5.3.1 Colêmbolos

Os colêmbolos da espécie *F. candida* foram submetidos ao ensaio de reprodução seguindo a norma ABNT NBR ISO 11267 (ABNT, 2011). Para o ensaio foram utilizados colêmbolos com idades de 10 a 12 dias e recipientes de 125 mL. Cada tratamento (adjuvante) ou controle contaram com 5 réplicas e mais um parâmetro sem colêmbolos. As réplicas tiveram 30 g de solo contaminado ou solo-controle e 10 organismos cada. Ao iniciar o ensaio, foi registrado o peso inicial, para que fosse possível a reposição da água perdida semanalmente. Os recipientes foram abertos duas vezes por semana para ocorrer as trocas gasosas, e a alimentação dos organismos ocorreu no primeiro e no 14^a dia de ensaio, com a adição de fermento biológico. Os recipientes ficaram em ambiente controlado com fotoperíodo 12h: 12h, claro: escuro, e temperatura $20\pm 2^{\circ}\text{C}$.

O ensaio teve duração de 28 dias. Após este período, a leitura foi realizada com a adição de tinta de carimbo e água e, após uma leve agitação com auxílio de um bastão de madeira, os colêmbolos subiram até a superfície, permitindo então, a captura fotográfica para posterior contagem dos adultos e juvenis usando o Programa Image J (RASBAND, 1997).

A validação do ensaio ocorreu através da taxa de reprodução de juvenis (mínimo de 100 por recipiente), e um coeficiente de variação (não podendo exceder 30%), verificados nos recipientes com solo-controle.

3.5.3.2 *Enquitreídeos*

O ensaio seguiu a norma ABNT NBR/ISO 16387 (ABNT, 2012). Para a realização do ensaio, foram utilizados enquitreídeos com idade adulta (organismos com clitelo) com tamanho em torno de 15 mm. Cada tratamento teve 5 réplicas e mais uma réplica para a leitura de parâmetros ao final do ensaio. Em cada réplica, foram adicionados 10 organismos. Os recipientes possuíam capacidade de 125 mL com 30 g de solo contaminado ou solo-controle, sendo o peso final anotado. As réplicas do ensaio foram distribuídas de forma aleatória na incubadora com temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h:12 h (claro: escuro). A alimentação inicial foi de 50 mg de aveia por recipiente, enquanto na manutenção semanal, foi de 25 mg. O peso perdido foi repostado com água destilada.

Após o período de 28 dias foi realizado a leitura do ensaio. A fixação e coloração dos organismos foi realizada para facilitar a leitura, utilizando a adição de álcool e algumas gotas de uma solução de rosa de Bengala a 1% em etanol (100 mL de álcool para 1 g de rosa de

Bengala). A partir de 48 h após este procedimento, foi iniciada a contagem dos organismos em estereomicroscópio (aumento de 40x).

A validação do ensaio seguiu a norma ABNT NBR ISO 16387 (2012), onde a taxa de reprodução de juvenis é de 25 organismos por recipiente, e o coeficiente de variação não pode exceder 50% comparados ao solo-controle.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os ensaios foram realizados através de delineamento inteiramente casualizado (DIC), uma vez que as réplicas ficaram ao acaso dentro das incubadoras. As análises estatísticas foram realizadas pelo software Statística®, e a validação dos ensaios de ecotoxicidade seguiu os critérios estabelecidos nas normas ABNT. As análises estatísticas e os critérios de validação estão apresentados nos itens seguintes.

3.6.1 Ensaio de fuga de *E. andrei* e *F. candida*

A avaliação foi feita pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$), e percentual de mortalidade ($\leq 10\%$ para minhocas e $\leq 20\%$ para colêmbolos), verificados nos recipientes com solo-controle. Para a porcentagem do efeito de contaminação do contaminante, foi aplicada a equação:

$$x = \left(\frac{Nc - NT}{N} \right) \times 100$$

Onde:

X= é a fuga, expressa em porcentagem;

Nc= é o número de organismos no solo controle;

Nt= é o número de organismos no solo teste;

N= é o número total de organismos.

3.6.2 Ensaios de reprodução e letalidade

Para a análise estatística dos ensaios de reprodução e letalidade, foi usada Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de comparações de média de Dunnett ($p < 0,05$), comparando o número de organismos presentes nos tratamentos com o número presente no

controle. Os dados foram testados em relação às premissas da normalidade e homogeneidades com os testes de Shapiro-Wilk, Levene e Fligner.

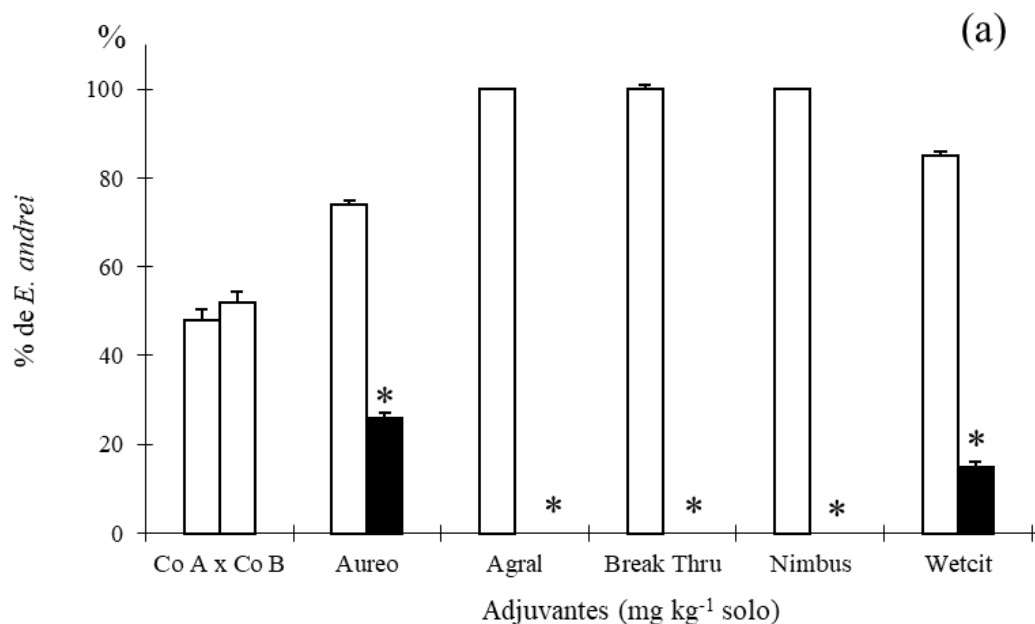
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

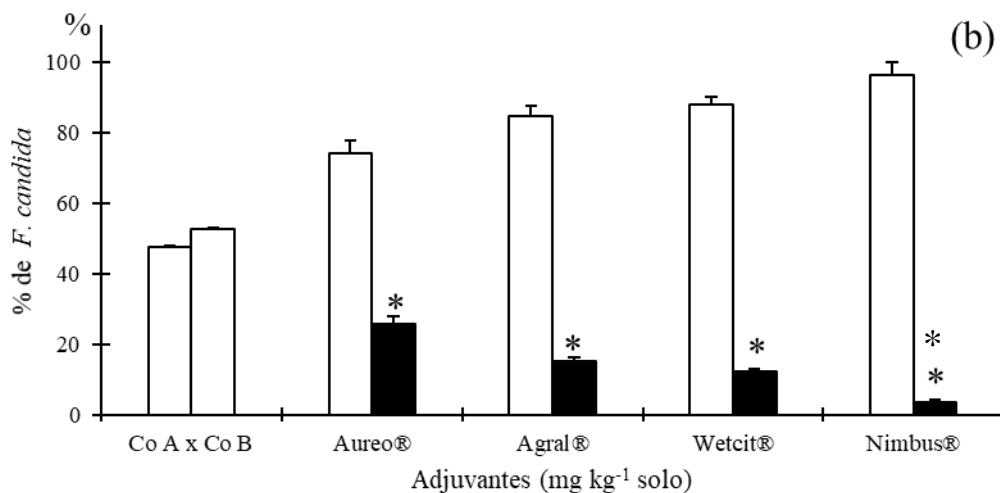
4.1 ENSAIOS DE FUGA

Após a exposição de 48 horas das minhocas e colêmbolos (*E. andrei* e *F. candida*), os critérios de validação do ensaio foram alcançados, segundo as normas ABNT NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011) e ISO 17512-2 (ISO, 2007): a letalidade no controle foi <10% para as minhocas e <20% para os colêmbolos, e a distribuição dos organismos foi aleatória na combinação controle x controle (CoA x CoB). Os resultados do ensaio de fuga são apresentados na Fig. 2.

Figura 2 - Número médio de indivíduos em solo controle (barras brancas) vs solo contaminado (barras pretas), após 48 horas de exposição em ensaios de fuga. Asteriscos indicam diferenças estatísticas pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$) comparadas ao controle.

(a): *Eisenia andrei*; (b): *Folsomia candida*.





Após a análise do teste exato de Fisher foi possível observar que, para as espécies testadas, ocorreu fuga ($p < 0,05$) em todos os produtos (Figura 2), para ambos os organismos. Além disso, foi observada letalidade acima de 20% nos colêmbolos em todos os solos contaminados com adjuvantes, sendo o Aureo® com letalidade de 26%, o Agral® com 54%, o Nimbus® com 73% e o Wetcit Gold® com 26%. Nas minhocas apenas o produto Break thru® apresentou letalidade de 4% dos organismos.

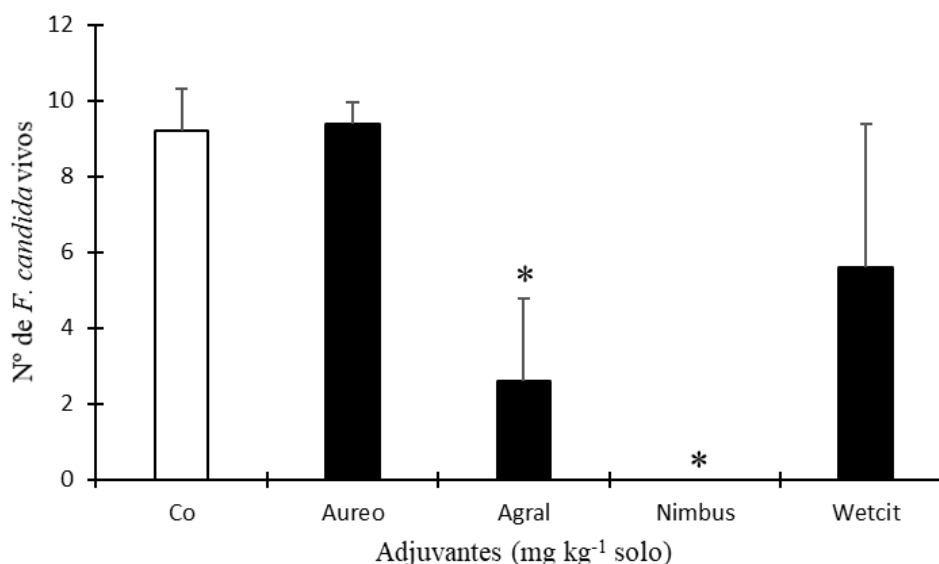
Todos os produtos, com exceção do Aureo®, apresentaram porcentagem de organismos abaixo de 20% no lado contaminado, o que segundo as normas ABNT NBR ISO 17512-1 e ISO 17512-2 (ABNT, 2011; ISO, 2007), demonstra uma função de habitat limitada. Significa que, caso esta perspectiva ocorresse em ambiente natural, as funções destes organismos estariam afetadas (SEGAT *et al.*, 2018).

Na Fig. 2, é possível observar que a espécie de minhocas *E. andrei*, apresentou maior sensibilidade aos adjuvantes, quando comparada aos colêmbolos *F. candida*. De Santo *et al* (2018) observaram comportamento semelhante quando avaliaram o óleo mineral (Assist®), mesma composição do adjuvante Nimbus®, sozinho e combinado com o herbicida Ally® (600 g L⁻¹ Metsulfuron-methyl) em dose recomendada, simulando uma aplicação de pós emergência em campo.

4.2 ENSAIO DE LETALIDADE DE COLEMBOLOS

Após a exposição dos colêmbolos aos adjuvantes, no tempo determinado pela norma ABNT NBR/ISO 11267, os critérios de validação foram alcançados, com letalidade <10% no controle. Os resultados são apresentados na Fig 3.

Figura 3 - Ensaio de letalidade: Número de sobreviventes ao final da exposição \pm desvio padrão. Solo controle (barras brancas) vs. solo contaminado (barras pretas). Asterisco apresenta as diferenças estatísticas pelo teste de Dunn ($p < 0,05$) dos adjuvantes para o controle.



Os resultados mostram que houve letalidade significativa de colêmbolos nos produtos Agral® e Nimbus®, sendo que neste último a mortalidade foi de 100%. Os produtos à base de óleo de casca de laranja (Wetcit Gold®) e éster metílico de óleo de soja (Aureo®) não apresentaram efeitos significativos.

Adjuvantes com formulações não-iônicas, como o Noni poli etanol (Agral®), podem causar desorientações nos organismos. Artz e Pitts-Singer (2015) realizaram um ensaio utilizando os fungicidas Rovral 4F® (iprodiona) e Pristine® (mistura de piraclostrobina + boscalid), e o adjuvante não-iônico N-90® (nonilfenol polietoxilado a 90%), produto semelhante ao Agral®, para abelhas das espécies *Osmia lignaria* e *Megachile rotundata*. Foi feita a exposição das abelhas aos produtos formulados, simulando condições de campo, onde se analisou o comportamento de forrageamento e mortalidade dos organismos, e identificou-se que não houve letalidade. Entretanto, foi observado que as abelhas ficaram desorientadas, aumentando o número de tentativas de entradas no próprio ninho e de confecção das células de reprodução.

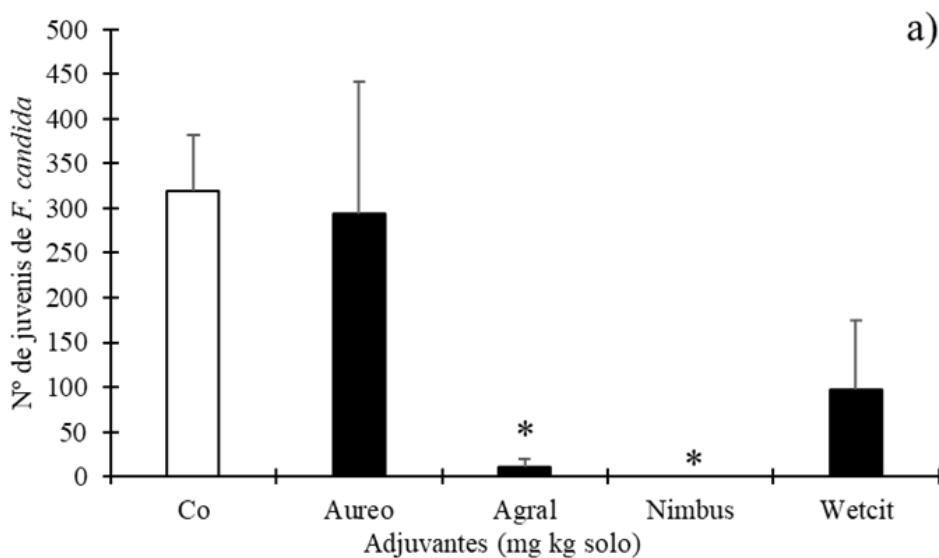
Niedobová *et al.* (2018) testaram o glifosato Roundup Klasik Pro® (glifosato) com e sem a adição dos adjuvantes surfactantes Wetcit® e Agrovital®, bem como o efeito isolado dos adjuvantes, em aranhas do gênero *Pardosa*. Apenas o produto isolado não apresentou alterações comportamentais e nem letalidade, enquanto a adição dos adjuvantes e os adjuvantes isolados mostraram uma redução significativa na atividade predatória, levando a uma alta taxa de

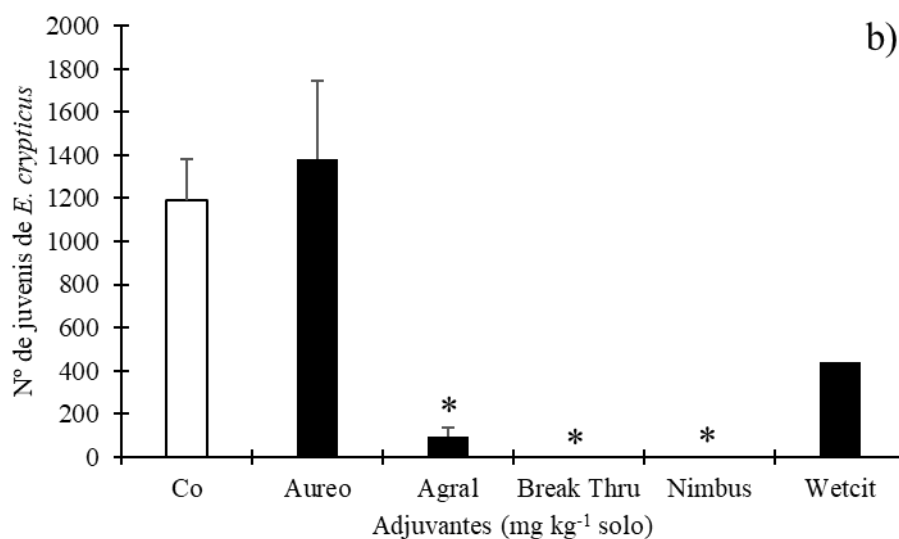
letalidade. Este resultado mostra que os adjuvantes podem quebrar a tensão superficial das cerdas das aranhas e de outros organismos como colêmbolos, diminuindo suas atividades de forrageamento e levando à letalidade em um período de tempo maior, o que poderia se esperar também para os colêmbolos.

4.3 ENSAIOS DE REPRODUÇÃO

Após o período de exposição determinado pelas normas ABNT NBR ISO 11267 para colêmbolos e ABNT NBR ISO 16387 para enquitreídeos, os critérios de validação dos ensaios foram alcançados: letalidade < 20% dos adultos, reprodução mínima de 100 colêmbolos e 25 enquitreídeos, e coeficiente de variação <30% nos controles para colêmbolos e <50% para enquitreídeos.

Figura 4 - Ensaios de reprodução, onde número médio de juvenis \pm desvio padrão, em solo controle (barras brancas) e solo contaminado (barras pretas). (a): colêmbolos; (b): enquitreídeos. Asterisco indicam diferenças significativas em relação ao controle; ANOVA, teste de Dunnet ($p < 0,05$).





Para o ensaio de reprodução dos organismos *F. candida* e *E. crypticus*, o adjuvante Aureo® não apresentou redução na reprodução dos indivíduos, enquanto os outros adjuvantes tiveram um número menor de juvenis, ou até uma mortalidade de 100% dos adultos como é o caso do óleo mineral Nimbus®. O adjuvante Agral® também apresentou uma redução significativa na reprodução de ambas espécies.

De Santo *et al* (2019) também encontraram reduções significativas na reprodução de *E. andrei*, e de *E. crypticus* quando adicionaram o óleo mineral (Assist®) ao herbicida Ally®. Entretanto, não houve efeitos significativos para a reprodução de *F. candida*.

Como observado na Fig. 3, o produto Aureo®, composto por éster metílico de óleo de soja (720 g L⁻¹) não apresentou redução na reprodução dos organismos. Resultados semelhantes foram encontrados por Muller *et al.* (2019) com *Daphnia magna* ao comparar o éster metílico de óleo de soja (Biodiesel) com o diesel comum S500 (Petrobrás/Brasil), utilizando a CE₅₀ de 39,6% para o diesel e 94,4% para o Biodiesel.

Uma vez que os colêmbolos são indicadores de qualidade do solo, a letalidade ou a não reprodução destes organismos pode desencadear efeitos deletérios no meio agrícola, pois com a diminuição das populações, ocorre também a diminuição da fragmentação da matéria vegetal, agregação do solo, controle de outros organismos como fungos e a ciclagem de nutrientes (OLIVEIRA FILHO; BARETTA, 2016; ZAGATTO *et al.*, 2020).

Com os resultados obtidos é possível observar que os adjuvantes com composições de óleos vegetais, produtos mais naturais, como o de soja e de casca de laranja, são menos tóxicos para os organismos testados no ensaio de letalidade e reprodução, isso pode ser explicado devido a estes compostos serem moléculas semelhantes as encontradas em resíduos orgânicos no solo encontrados mais facilmente no ambiente. O óleo mineral foi um dos adjuvantes mais

tóxicos testados, a sua toxicidade pode ser explicada devido ao fato de existir acaricida e inseticidas a base de hidrocarboneto alifático e tem como modo de ação por contato, onde o produto entra em contato com o cutâneo do alvo, e causa a letalidade. E que inclusive pode ser encontrado no site do Agrifit, onde existem aproximadamente 9 produtos (AGROFIT, 2021).

Os adjuvantes tem entre uma das suas funções a capacidade de quebra da tensão superficial da calda, através da função de emulsificantes e espalhantes a fim de aumentar a eficiências dos agrotóxicos aplicados juntos. Entretanto, essa capacidade de quebra da tensão superficial pode atuar também nos organismos não alvos, como organismos do solo e que possuem cerdas, como os colêmbolos e outros organismos como aranhas, formigas, cupins e mariposas. Esta alteração que os adjuvantes causam nos organismos podem diminuir sua atividade predatória, e reprodutora, diminuindo ainda mais a abundancia destes organismos, que por consequência diminuir a ciclagem dos nutrientes e a modificações nas estruturas do solo do solo, que são realizadas por organismos do solo, como coleópteros, cupins e minhocas, estas modificações causam um desequilíbrio ecológico, prejudicando diretamente o agricultor que cultiva o solo (LEE; FOSTER, 1991; EDWARDS *et al.*, 2004).

Com as alterações da legislação sobre os adjuvantes, estes produtos deixaram de trazer informações sobre sua toxicidade e potencial de periculosidade ambiental, uma vez que eram realizados pelos órgãos federais que fiscalizavam os adjuvantes (IBAMA, ANVISA) assim como fazem para os agrotóxicos. Os novos adjuvantes que saem no mercado não possuem as informações sobre as questões ambientais, deixando uma lacuna sobre seu real risco ao meio ambiente e aos seres humanos.

O trabalho realizado mostrou que os adjuvantes possuem um certo nível de toxicidade para a fauna do solo, sem levar em conta que estes produtos são utilizados com agrotóxicos, podendo ter efeitos sinérgicos. São necessários mais estudos com os adjuvantes, utilizando outras formulações não testadas como os adjuvantes aditivos a base de ureias e sulfato de amônio, além da mistura de tanque de adjuvantes com outros agrotóxicos. Novos adjuvantes são lançados no mercado a todo instante, devido as novas facilidades das legislações de 2017, estes produtos também devem ser testados e avaliados. É recomendado também utilizar outros organismos testes para avaliações, além de ensaios utilizando solos naturais, e ensaios a campo testando atividade alimentar dos organismos presentes em solo agrícola. É necessário também entender mais sobre o comportamento dos adjuvantes no solo, quanto a sua durabilidade e decomposição no solo e efeitos que causam.

5 CONCLUSÃO

Com os resultados encontrados conclui-se que alguns adjuvantes podem apresentar alta ecotoxicidade na dose recomendada de campo para a reprodução de colêmbolos e enquitreídeos, nos produtos à base de óleo mineral (Nimbus®), não iônicos como siliconados (Break thru® *não testado em colêmbolos) e Noni poli etanol (Agral®). Nos ensaios comportamentais de fuga, foi observado que os organismos testados evitaram o solo contaminado com todos os adjuvantes testados. O ensaio de letalidade mostrou que as formulações a base de Noni poli etanol (Agral®) e óleo mineral (Nimbus®) causaram letalidade para os colêmbolos, enquanto as formulações a base de óleo de casca de laranja (Wetcit Gold®) e éster metílico de óleo de soja (Aureo®) não apresentaram ecotoxicidade na dose de campo.

São necessários mais estudos que identifiquem os efeitos à longo prazo dos adjuvantes para a fauna do solo, testando outros produtos formulados e outros organismos. Além disso, estudos que demonstrem o efeito da aplicação em campo e o possível carreamento, abordando a função de retenção do solo, são fundamentais para entender o comportamento dos adjuvantes.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT (org.). **Relatório Consolidado de Produtos Formulados**: Produtos Formulados e Ingredientes Ativos. 2021. AGROFIT. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 15 fev. 2022.
- ARTZ, D. R.; PITTS-SINGER, T. L. Effects of fungicide and adjuvant sprays on nesting behavior in two managed solitary bees, *Osmia lignaria* and *Megachile rotundata*. **PloS one**, v. 10, n. 8, p. e0135688, 2015.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR/ISO 16387**: Qualidade do solo – Efeitos de poluentes em Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp) – Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. 1 ed. Rio de Janeiro: Abnt, 25 p. 2012.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 17512-1**: Qualidade do solo – Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro: ABNT, 26p, 2011a.
- BALIN, N. M. *et al.* Fauna edáfica sob diferentes sistemas de manejo do solo para produção de cucurbitáceas. **Revista Scientia Agraria**, Curitiba, v. 18, n. 3, p.74-84, 2017. Acesso em: 10 jan de 2022.
- BAMGBOSE, I. A.; ANDERSON, T. A. Ecotoxicity of three plant-based biodiesels and diesel using, *Eisenia fetida*. **Environmental Pollution**, v. 260, p. 113965, 2020.
- BELLUCCI, E. R. B. *et al.* Efeito de adjuvantes na vazão e porcentagem de cobertura em pulverizações. **Varia Scientia Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 117-123. 2017.
- BERUDE, M. C. *et al.* A mesofauna do solo e a sua importância como bioindicadora. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 22, p. 14-28, 2015.
- BRASIL. **Ato nº 104, 20 de Novembro de 2017 e Ato Nº 108, 28 de Novembro de 2017**. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/legislacao/copy2_of_ATOSADJUVANTES.pdf. Acesso em:20 nov. 2020.
- BRASIL. **Decreto 4074, de 4 de Janeiro de 2002**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074. Acesso em: 20 nov. 2021.
- BRASIL. **Lei 7802, de 11 de Julho de 1989**.Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm. Acesso em: 20 nov. 2021.
- BRASIL. **PL 6299 de 13 mar de 2002**. 2022 Disponível em: https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra;jsessionid=node01w5qii8wa55yt1tnyicgyuzorh55488201.node0?codteor=1672866&filename=PL+6299/2002. Acesso em: 15 mar de 2022.
- BROWN, G. G.R *et al.* Biodiversidade da fauna do solo e sua contribuição para os serviços ambientais. In: PARRON, L. M. *et al.* **Serviços Ambientais em Sistemas Agrícolas e Florestais do Bioma Mata Atlântica**. Brasília: Embrapa, 2015. Cap. 10. p. 122-154.

CARBONARI A.C.; VELINI D. E. Risk Assessment of herbicides compared Other pesticides in Brazil. **Advances in Weed Science**, 2021. Disponível em https://awsjournal.org/wp-content/uploads/articles_xml/2675-9462-aws-39-e21202032/2675-9462-aws-39-e21202032.pdf. Acesso em: 1 jan de 2022.

CARDOSO, E. J. B. N.; ALVES, P. R. L. Soil ecotoxicology. In: *Ecotoxicology*. **IntechOpen**, p. 24. 2012.

CARRASCHI, S. P. *et al.* Toxicidade aguda e risco ambiental de surfactantes agrícolas para o guaru *Phalloceros caudimaculatus* (Pices: Poecilidae). **Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology**, v. 7, n. 1, p. 28-32, 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF, v. 9, safra 2021/22, n. 6 sexto levantamento, março 2022.

CORREIA, M. E.; OLIVEIRA, L. C. M.; Fauna de solo: aspectos gerais e metodológicos. **Embrapa Agrobiologia-Documents (INFOTECA-E)**, Seropédica, p. 46, 2000.

CORREIA, M. E. F.; DE OLIVEIRA, L. C. M. Fauna de solo: aspectos gerais e metodológicos. **Embrapa Agrobiologia-Documents (INFOTECA-E)**, 2000.

COUTINHO, C. F. B. *et al.* Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 15, p. 66-72, 2005.

CUNHA, J. P. A. R.; ALVES, G. S.; REIS, E. F. Efeito da temperatura nas características físico-químicas de soluções aquosas com adjuvantes de uso agrícola. **Planta Daninha**, v. 28, p. 665-672, 2010.

DE SANTO, F. B. *et al.* Laboratory and field tests for risk assessment of metsulfuron-methyl-based herbicides for soil fauna. **Chemosphere**, v. 222, p. 645-655, 2019.

DE SANTO, F. B. *et al.* Screening effects of metsulfuron-methyl to collembolans and earthworms: the role of adjuvant addition on ecotoxicity. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 25, n. 24, p.43-49, 12 jun. 2018.

EDWARDS, Clive A. The importance of earthworms as key representatives of the soil fauna. **Earthworm ecology**, v. 2, p. 3-11, 2004.

FAO & IFAD, 2019. United Nations Decade of Family Farming 2019-2028. **Global Action Plan**. Rome: ISBN 978- 92-5-131472-2.

FERNANDES, J. O.; UEHARA-PRADO, Marcio; BROWN, George G. Minhocas exóticas como indicadoras de perturbação antrópica em áreas de Floresta Atlântica. **Acta zoológica mexicana**, v. 26, n. SPE2, p. 211-217, 2010.

GARCIA, M. **Effects of pesticides on soil fauna**: Development of ecotoxicological test methods for tropical regions. Gottingen: Cuvillier Verlag Göttingen, 2004. 281 p.

HOFFMANN, R. B. *et al.* Diversidade da mesofauna edáfica como bioindicadora para o manejo do solo em areia, Paraíba, Brasil. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 3, p.117-121, set. 2009.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ed.). **Vendas de agrotóxicos e afins, de 2009 a 2020. 2022**. Disponível em:<

<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 15 fev. 2022.

IMAGE J, R. W. S *et al.* Bethesda. **Maryland, USA**, v. 2012, 1997.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 17512-2**: Soil quality – Avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals – Part 2: Test with collembolans (*Folsomia candida*). Berlin: ISO, 2007. 24 p.

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

LEE, K. E.; FOSTER, R. C. Soil fauna and soil structure. **Soil Research**, v. 29, n. 6, p. 745-775, 1991.

MÜLLER, J. B. *et al.* Comparative assessment of acute and chronic ecotoxicity of water soluble fractions of diesel and biodiesel on *Daphnia magna* and *Aliivibrio fischeri*. **Chemosphere**, v. 221, p. 640-646, 2019.

NIEDOBOVÁ, J. *et al.* Synergistic effects of glyphosate formulation herbicide and tank-mixing adjuvants on *Pardosa* spiders. **Environmental Pollution**, v. 249, p. 338-344, 2019.

NIEMEYER J. C.; de SANTO F. B.; GUERRA N.; FILHO A. M. R.; PECH T. M. Do. recommended doses of Glyphosate based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. **Chemosphere**; V. 198 P. 154–160, 2018.

NIEMEYER, J. C. *et al.* Boric acid as a reference substance in avoidance behaviour tests with *Porcellio dilatatus* (Crustacea: Isopoda). **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], v. 161, p.392-396, out. 2018a.

NIVA, C. C. *et al.* Enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta, Annelida). Manual de biologia dos solos tropicais: amostragem e caracterização da biodiversidade. Lavras: **UFLA**, p. 351-365, 2010.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. **Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE)**, 2019.

OCTAVIANO, C; Muito além da tecnologia: os impactos da Revolução Verde. **Com Ciência**, n. 120, 2010.

OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; BARETTA, D. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos? **Scientia agraria**, v. 17, n. 2, p. 21-40, 2016.

Organisation for Economic Co-operation and Development. OECD 226: OECD guidelines for the testing of chemicals. Paris: **OECD**, 2016. 26 p.

ORGIAZZI, A. *et al.* Global soil biodiversity atlas. **European Commission**, 2016.

PIMENTEL, D. Green revolution agriculture and chemical hazards. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 188, n. 1, p.86-98, set. 1996.

REGISTRO DE AGROTÓXICOS E O ATUAL STATUS REGULATÓRIO DOS ADJUVANTES, 2., 2018, Jundiaí. MAPA. Jundiaí-sp: **Ministério da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento (mapa)**, 2018. 438 p. Disponível em: <http://sabri.com.br/wp-content/uploads/2018/10/Anais-do-II-Workshop-sobre-Adjuvantes-em-Caldas-Fitossanit%C3%A1rias.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2021.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1360-1362, 2014.

ROCHA, G. M.; GRISOLIA, C. K. Why pesticides with mutagenic, carcinogenic and reproductive risks are registered in Brazil. **Developing World Bioethics**, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 148-154, 6 dez. 2021.

SANTOS, M. L.; PYHN, E.G; Idade biológica: comportamento humano e renovação celular. **SENAC**, São Paulo, 2003.

SCHUBERT, R. N. Estudo da fauna edáfica na vermicompostagem de resíduos orgânicos. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**, Pelotas, 2017

SEGAT, J. C.; MACCARI, A. P.; OLIVEIRA FILHO, L. C. L.; ZEPPELINI, D.; LOPESLEITZKE, E. R. Ecotoxicologia Terrestre. In: OLIVEIRA FILHO, L. C. L-. Ecotoxicologia terrestre: método e aplicações de ensaios com collembola e isopoda. Método e aplicações de ensaios com collembola e Isopoda. **Udesc**, Florianópolis, Cap. 1. p. 11-50. 2018

SPADOTTO, C. A. *et al.* Fundamentos e aplicações da modelagem ambiental de agrotóxicos. **Embrapa Monitoramento Por Satélite**, Campinas-SP, Documentos 78, 64 p., 2010

STARK, J. D.; WALTHALL, W. K. Agricultural adjuvants: acute mortality and effects on population growth rate of *Daphnia pulex* after chronic exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 22, n. 12, p. 3056-3061, 2003.

SWIFT, M.J.; CURE, O. W.; ANDERSON, J. M. Decomposition in terrestrial ecosystems. Blackwell Scientific, **Oxford**, 372p. 1979.

TRAJANO, E.; BICHUETTE, M.E. Biologia subterrânea: **Introdução**. 2006.

VARGAS, L.; ROMAN, E. S; Conceitos e aplicações dos adjuvantes. **Embrapa Trigo- Documentos (INFOTECA-E)**, 2006.

ZAGATTO, M. R. *G et al.* Mesofauna and Macrofauna in Soil and Litter of Mixed Plantations. In: **Mixed Plantations of Eucalyptus and Leguminous Trees**. Gewerbestrasse-suiça: Springer, 2020. Cap. 8. p. 155-172. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-3c2365-3>. Acesso em: 15 nov. 2021.