

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Escola de Engenharia de São Carlos

**Intensificação de pastagem e conversão de pastagem à
cana-de-açúcar: efeitos sobre a estrutura biológica,
funções do solo e serviços do ecossistema**

Dayane de Oliveira

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Engenharia Ambiental

Área de Concentração: Ciências da Engenharia Ambiental

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

DAYANE DE OLIVEIRA

Intensificação de pastagem e conversão de pastagem à cana-de-açúcar: efeitos
sobre a estrutura biológica, funções do solo e serviços do ecossistema

São Carlos

2023

DAYANE DE OLIVEIRA

Intensificação de pastagem e conversão de pastagem à cana-de-açúcar: efeitos sobre a estrutura biológica, funções do solo e serviços do ecossistema

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Ciências – Programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Vanessa Bezerra de Menezes Oliveira

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2023

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues
Fontes da EESC/USP

O48i Oliveira, Dayane de
 Intensificação de pastagem e conversão de pastagem à
cana-de-açúcar : efeitos sobre a estrutura biológica,
funções do solo e serviços do ecossistema / Dayane de
Oliveira; orientadora Vanessa Bezerra de Menezes
Oliveira. -- São Carlos, 2024.

 Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área de
Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental
-- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2024.

 1. Fipronil. 2. 2,4-D. 3. Invertebrados terrestres.
4. Avaliação de risco ecológico. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Tecnóloga **DAYANE DE OLIVEIRA**.

Título da tese: "Intensificação de pastagem e conversão de pastagem à cana-de-açúcar: efeitos sobre a estrutura biológica, funções do solo e serviços do ecossistema".

Data da defesa: 19/02/2024.

Comissão Julgadora

Resultado

Dra. Vanessa Bezerra de Menezes Oliveira
(Orientador)

(Universidade Federal do Tocantins/UFT)

APROVADA

Prof. Titular Evaldo Luiz Gaeta Espindola
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

APROVADA

Profa. Dra. Cassiana Maria Reganhan Coneglian
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

APROVADA

Profa. Dra. Julia Carina Niemeyer
(Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC)

APROVADA

Dra. Maria Edna Tenorio Nunes
(Pesquisadora Autônoma)

APROVADA

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:
Prof. Tit. **Marcelo Zaiat**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Carlos De Marqui Junior**

DEDICATÓRIA

*Ao meu futuro marido Eduardo
Spinardi pelo apoio incondicional.
Seu amor, fé e acolhimento me
fizeram chegar até aqui.*

AGRADECIMENTOS

Honro o fechamento deste ciclo agradecendo imensamente a Deus e a Nossa Senhora que me guiaram e me sustentaram em toda essa trajetória. Mesmo diante de tantas provações e dificuldades, o Senhor me carregou no colo e me permitiu chegar até aqui.

Agradeço ao Eduardo Spinardi, meu futuro marido, meu alicerce, meu companheiro que em todos os momentos me acolheu e incentivou. Tenho eterna gratidão por todo o amparo recebido, e se eu pudesse, esse título certamente também teria seu nome.

Agradeço aos meus pais, pois sem eles nada seria possível.

À Maria Carolina pelo profissionalismo, amizade e pelas incontáveis trocas, sempre com muito carinho e empatia.

A toda minha família pelo apoio, força e orações, em especial aos meus sobrinhos Bryan, Stella e Lohany.

Às minhas avós (*in memoriam*), Maria de Lourdes e Francisca Maria de Jesus Cruz, que tanto oravam pelas minhas provas da escola quando eu ainda era menina. Sei que de onde estão seguem pedindo a Deus pelos meus caminhos.

Agradeço à minha orientadora Vanessa B.M. Oliveira pelo conhecimento, afeto e incentivo. Sua sustentação foi essencial para a conclusão dessa pesquisa.

A todos os colegas e grandes pesquisadores do NEEA por tanta cooperação, profissionalismo e risadas.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental -EESC-USP.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Doutorado concedida.

À FAPESP pelo financiamento do projeto processo 2015/187903.

Agradeço a todos que fizeram parte dessa trajetória e contribuíram de alguma forma para que essa pesquisa se concretizasse.

EPÍGRAFE

“Compreendi que tudo o que realizamos, por mais brilhante que seja, não vale nada sem amor.”

Santa Terezinha do Menino Jesus

RESUMO

OLIVEIRA, D. **Intensificação de pastagem e conversão de pastagem à cana-de-açúcar: efeitos sobre a estrutura biológica, funções do solo e serviços do ecossistema.** 2023. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

O Brasil exerce forte atividade sucroalcooleira, necessitando de extensas áreas de cultivo de cana-de-açúcar para produção de etanol. Por sua vez, a atividade canvieira acaba competindo por áreas agricultáveis disponíveis para produção alimentar, além de causar o desmatamento de matas nativas. Diante dessa disputa e da demanda energética, no intuito de evitar que novas áreas florestais sejam abertas, tem sido amplamente aplicada no Brasil a conversão de pastagens de baixa intensidade em cultivo de cana, ao mesmo tempo em que ocorre a intensificação de áreas de pastagem subutilizadas. Entretanto, essa alternativa anteriormente mencionada propõe práticas de uso e manejo do solo que podem provocar efeitos nocivos sobre a fauna edáfica, comprometendo os serviços do ecossistema terrestre e a manutenção da qualidade do solo. Desta forma, perante a necessidade de conhecer e avaliar os efeitos da expansão da cana-de-açúcar sobre os ecossistemas terrestres, esse estudo visa, por meio de ensaios laboratoriais e de campo, compreender as consequências ambientais da conversão de pastagem em canavial e da intensificação de pastagem sobre a estrutura biológica, funções e serviços do solo, considerando as intervenções físicas e químicas (aplicação de agrotóxicos) das metodologias de manejo empregadas tanto em cultivo de cana-de-açúcar quanto nas pastagens. Na área experimental, inicialmente de pasto extensivo, foram aplicadas técnicas convencionais de manejo (aragem, gradagem, calagem e fertilização) e aplicação do inseticida Regent® 800 WG (ingrediente ativo fipronil) e de herbicida DMA® 806 BR (ingrediente ativo 2,4-D), além da colocação do gado, a fim de obter três cenários: pasto extensivo, pasto intensivo e canavial. Os efeitos da intensificação e conversão de pastagem sobre a comunidade edáfica foram estudados utilizando desde testes ecotoxicológicos simples a abordagens mais complexas como a construção de uma curva de distribuição de sensibilidade de espécies e ainda avaliação da comunidade edáfica em campo. Independentemente do nível de caracterização de efeitos utilizado, o inseticida fipronil apresentou alto risco para a comunidade edáfica em concentrações ecologicamente relevantes (<1,04 mg de fipronil. kg⁻¹ de solo seco). Assim, os resultados demonstraram que as práticas de intensificação e conversão canvieira aplicadas em campo alteram a performance da mesofauna edáfica e colocam em risco as funções e serviços do ecossistema terrestre.

Palavras-chave: Fipronil, 2,4-D, invertebrados terrestres, Avaliação de Risco Ecológico

ABSTRACT

OLIVEIRA, D. **Pasture and conversion of pasture to sugar cane plantation: effects on biological structure, soil functions and ecosystem services.** 2023. Dissertation (PhD) –São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos, 2023.

Brazil has a strong sugar and alcohol industry, requiring extensive areas for sugarcane cultivation to produce ethanol. In turn, sugarcane activity ends up competing for agricultural areas available for food production, in addition to causing the deforestation of native forests. Faced with this dispute and the energy demand, in order to prevent new forest areas from being opened, the conversion of low-intensity pastures into sugarcane cultivation has been widely applied in Brazil, at the same time as the intensification of underutilized pasture areas occurs. However, this previously mentioned alternative proposes soil use and management practices that can cause harmful effects on soil fauna, compromising terrestrial ecosystem services and the maintenance of soil quality. Thus, given the need to know and evaluate the effects of sugarcane expansion on terrestrial ecosystems, this study aims, through laboratory and field tests, to understand the environmental consequences of converting pasture into sugarcane fields and the intensification of pasture on the biological structure, functions and services of the soil, considering the physical and chemical interventions (application of pesticides) of the management methodologies used both in sugarcane cultivation and in pastures. In the experimental field, initially occupied by extensive pasture, conventional management techniques were applied (ploughing, harrowing, liming and fertilization) as well as application of the insecticide Regent® 800 WG (active ingredient fipronil) and the herbicide DMA® 806 BR (active ingredient 2,4-D), in addition to cattle placement, in order to obtain three scenarios: extensive pasture, intensive pasture and sugarcane field. Effects of pasture intensification and conversion on the edaphic community were studied using simple ecotoxicological tests and more complex approaches such as the construction of Species Sensitivity Distribution curves and assessment of the edaphic community in the field. Regardless the level of characterization of effects used, the insecticide fipronil presented a high risk to the soil community at ecologically relevant concentrations (1.04 mg of fipronil.kg⁻¹ dry weight soil). Therefore, results showed that sugarcane intensification and conversion practices applied in the field do alter the soil mesofauna's performance and put terrestrial ecosystem functions and services at risk.

Keywords: Fipronil, 2,4-D, soil invertebrates, Ecological Risk Assessment

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL: ESTADO DA ARTE, JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	19
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 ESTADO DA ARTE	22
2.1 Demanda por biocombustíveis.....	22
2.2 Conversão de áreas de pastagens a áreas agrícolas.....	23
2.3 Demanda por agrotóxicos	26
2.4 Invertebrados terrestres e os serviços do ecossistema	28
2.4.1 Atributos funcionais	31
2.5 Efeitos de agrotóxicos sobre os invertebrados terrestres	34
2.4 Fipronil e 2,4- D.....	36
3 JUSTIFICATIVA	39
4 OBJETIVOS.....	40
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO II: INTENSIFICAÇÃO DE PASTAGEM E CULTIVO DE CANA: IMPACTOS DO USO E MANEJO DO SOLO SOBRE MESOFAUNA E AS FUNÇÕES DO ECOSSISTEMA TERRESTRE	54
1 INTRODUÇÃO.....	56
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	58
2.1 Agrotóxicos.....	58
2.2 Análises químicas	58
2.3 Área experimental.....	58
2.4 Desenho experimental.....	60
2.4.1 Intervenções no campo experimental.....	60
2.4.2 Reconhecimento da fauna do solo - Coleta de mesofauna.....	63

2.4.3 Efeitos sobre as funções do solo: <i>Bait lamina</i> , <i>Litterbags</i> e solução do solo	65
2.4.4 Coleta de solução do solo.....	68
2.5 Análises estatísticas	70
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
3.1 Determinação de agrotóxicos na fase sólida e líquida do solo	70
3.2 Efeitos do uso e manejo do solo sobre a estrutura da comunidade edáfica.....	73
3.3 Efeitos sobre as funções da fauna edáfica.....	80
4 CONCLUSÕES.....	85
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
APÊNDICE A – Caracterização da comunidade edáfica em grandes grupos taxonômicos	91
CAPÍTULO III: INTENSIFICAÇÃO DE PASTAGEM E CONVERSÃO DE PASTAGEM EM CANA-DE-AÇÚCAR: RESPOSTAS DE COLÊMBOLOS COMO BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO SOLO EM DIFERENTES USOS DO SOLO	93
1 INTRODUÇÃO.....	95
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	96
2.1 Campo experimental	96
2.2 Agrotóxicos.....	96
2.3 Análises químicas	97
2.4 Amostragem e extração de colêmbolos	97
2.5 Índice QBS (Qualidade biológica do solo).....	99
2.6 Análises estatísticas	101
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
3.1 Caracterização da comunidade de colêmbolos e índices ecológicos.....	102
4 CONCLUSÕES.....	107
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

CAPÍTULO IV: AVALIAÇÃO DE RISCO DE FIPRONIL EM SOLOS TROPICAIS: CONCENTRAÇÕES RELEVANTES CAUSAM ALTO RISCO À COMUNIDADE EDÁFICA.....	111
1 INTRODUÇÃO.....	115
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	116
2.1. Pesquisa na literatura	116
2.2. Experimentos crônicos de toxicidade	117
2.2.1. Solos teste.....	117
2.2.2. Substância teste	118
2.2.3. Procedimentos experimentais.....	118
2.2.4. Análise estatística de dados dos ensaios crônicos.....	119
2.2.5. Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSD).....	119
2.3. Concentrações ambientais de fipronil.....	120
2.3.2. Concentrações previstas de fipronil (PEC)	121
2.4. Estimativa de risco: Razão Toxicidade-Exposição (TER).....	121
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	122
3.1. Experimentos de toxicidade crônica	122
3.2. Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSDs).....	125
3.3. Estimativas de risco	128
3.3.1. Concentrações Ambientais de Fipronil	128
4. CONCLUSÕES.....	131
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	133

**CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL: ESTADO DA ARTE,
JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS**

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população humana e a conseqüente demanda por alimento e energia têm intensificado a exploração de recursos naturais. Em contrapartida, diante da busca pela segurança alimentar, a disponibilidade de terras agricultáveis tem diminuído, tornando-se um relevante fator de preocupação. Segundo projeções, até 2050, a produção de alimentos deverá ser aumentada em mais de 50% para suprir a demanda global, dado que por volta do final do século XXI, a população mundial poderá alcançar seus 11 bilhões de habitantes (Onu, 2019; Van Dijk; Morley; Rau; Saghai, 2021).

A disponibilidade de terras é elemento limitante não só na produção alimentar, mas também na geração de energia e, conseqüentemente na produção de biocombustíveis. No Brasil, a área dedicada à agricultura corresponde a aproximadamente 87 milhões de hectares dos quais, 8,2 milhões de hectares advém das áreas de cultivo de cana-de-açúcar para bioenergia, colocando o Brasil na posição de segundo maior produtor e exportador global de etanol (*ranking* liderado pelos Estados Unidos) (UNICA, 2023; CONAB, 2023). Desse modo, a atividade sucroalcooleira no país exerce forte influência econômica ao mesmo tempo em que compete com as áreas disponíveis para a produção alimentar.

Os impactos dos biocombustíveis sobre a segurança alimentar, *nexus* comida-energia, precisam ser investigados, dada a demanda de consumo e disponibilidade de recursos naturais. De acordo com Rulli *et al.* (2016), os biocombustíveis dependem de cerca de 2 a 3% da água e do solo global utilizados na agricultura, fração que poderia alimentar cerca de 280 milhões de pessoas, um quarto da população desnutrida do mundo.

No Brasil, perante o potencial agrícola do país e sua posição de liderança no mercado sucroenergético global, com mais de 100 países beneficiados com a cana-de-açúcar brasileira, a competição por terras agricultáveis tem se tornado uma realidade (Lopes, Parente, Baumann, Miziara e Ferreira, 2020; UNICA, 2023). Para se compreender melhor a representatividade brasileira no setor bioenergético, atualmente sua produção corresponde a 20% da produção mundial de etanol e, de acordo com as projeções da UNICA (União da Indústria de Cana-de-Açúcar) (2023), considera-se que em um período de 12 anos haverá um aumento de quase 70% no consumo de etanol.

Perante as projeções e incentivos governamentais no setor bioenergético, abraçando a expansão da produção de etanol de cana no Brasil e os desafios socioambientais envolvidos, tem-se buscado a conversão de pastagens subutilizadas em cana-de-açúcar e a intensificação de pastagem como alternativas, a fim de preservar áreas de florestas nativas, zelar pela segurança

alimentar, e permitir o avanço na produção de bioetanol. Desta forma, as áreas de pasto extensivo — áreas estas subutilizadas e de baixa produção animal —, têm sido utilizadas na produção de cana-de-açúcar, enquanto uma parcela dessas áreas de pasto degradado tem sua intensidade aumentada. Essas metodologias de intensificação e conversão têm por objetivo dar melhor aproveitamento às áreas de pasto degradado no Brasil, que somam aproximadamente 70% dos 159 milhões de hectares de pastagem (Bordonal *et al.*, 2018).

Do ponto de vista agropecuário, integrar no mesmo espaço, antes subutilizado, uma atividade agropecuária mais produtiva (maior produção animal em menor área) e produção de bioálcool de cana, configuram uma alternativa potencial (Defante; Vilpoux; Sauer, 2018). Contudo, do ponto de vista ambiental, assim como outras atividades de manejo convencional e uso do solo, essas metodologias de intensificação e conversão de pastagem podem causar impactos diretos no meio ambiente (Franco *et al.*, 2016; Peron *et al.*, 2023).

As práticas de manejo e diferentes usos da terra envolvidos na intensificação de pastagem e conversão de pasto em cana podem afetar o ecossistema terrestre em seus aspectos físico-químicos, alterando o teor de água no solo, a temperatura, a aeração, grau de contato entre materiais orgânicos e partículas minerais, disponibilidade de alimento, e outros fatores que afetam diferentes grupos de organismos de maneiras distintas e em diferentes níveis (Kladivko, 2001; Rutgers *et al.*, 2012; Franco *et al.*, 2016; Graaff *et al.*, 2019; FAO, 2020).

As alterações ambientais resultantes das práticas convencionais agropecuárias (*e.g.* aragem, gradagem, adição de agrotóxicos e fertilização) podem comprometer a qualidade do solo e prejudicar a biodiversidade ali existente, assim como as funções e serviços que dela dependem. Por exemplo, a biodiversidade edáfica afeta de maneira direta e/ou indireta o fornecimento de “produtos” do ecossistema como alimento, água potável e regulação do clima, elementos essenciais para manutenção da vida (Brown *et al.*, 2015; FAO, 2020; Peron *et al.*, 2023)

A concessão desses produtos ecossistêmicos depende de processos funcionais do solo como ciclagem de nutrientes, produção de biomassa e estoque de carbono, dentre outros. Estes processos, por sua vez, dependem do bom funcionamento das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (Lavelle *et al.*, 2006; Orgiazzi *et al.*, 2016; FAO, 2020). Sendo assim, no cenário de expansão sucroenergético e na proteção da segurança alimentar, o uso e ocupação do solo devem ocorrer de maneira a preservar suas propriedades, conservando a biodiversidade terrestre e preservando a fertilidade e produtividade do solo (Barrios, 2007; Adhikari; Hartemink, 2016).

Diante desse contexto, essa pesquisa objetivou compreender as consequências ambientais da conversão de pastagem em canavial e da intensificação de pastagem sobre a estrutura biológica, funções e serviços do solo, considerando as intervenções físicas (desestruturação, compactação e erosão) e químicas (aplicação de agrotóxicos) relacionadas às metodologias de manejo empregadas no campo experimental de Brotas-SP. Esta pesquisa tem o intuito de auxiliar nas tomadas de decisões que orientem a expansão do cultivo de cana-de-açúcar e a sustentabilidade do biocombustível. Para tanto, neste documento, serão abordadas questões que incluem os serviços ecossistêmicos e particularidades funcionais relativas à fauna terrestre.

2 ESTADO DA ARTE

2.1 Demanda por biocombustíveis

Devido ao aumento da população mundial, a demanda por recursos naturais para produção energética e alimentar tem crescido. No mesmo compasso, a busca por fontes renováveis de energia tem gerado intensa produção e consumo de biocombustíveis (Rulli *et al.*, 2016; CONAB, 2023). Entre os biocombustíveis, o etanol é o que mais avançou no mundo, sendo atualmente uma opção viável econômica e tecnologicamente (Salles-Filho *et al.*, 2016). A produção de bioetanol vem configurando-se como uma potencial estratégia de segurança energética, representando mais de 94% da produção mundial de biocombustíveis, com a maioria proveniente da cana-de-açúcar (Araújo, 2016; Manochio *et al.*, 2017).

Outros fatores que impulsionaram o aumento na demanda global por biocombustíveis na última década foram: a produção de carros flex (etanol e gasolina), elevação dos preços internacionais do petróleo, a necessidade de reduzir a emissão de Gases de Efeito Estufa (GEE), políticas de incentivo para maior uso de biocombustíveis, além de investimentos do Brasil, Estados Unidos e Europa (Araújo, 2016; Bellezoni *et al.*, 2018; Faria, 2023).

O bioetanol é uma alternativa energética de menor impacto ambiental, limpa, renovável e verde, fatores que diminuem a emissão de Gases de Efeito Estufa (GEE) entre 40 e 62% em comparação com a gasolina. Ele é produzido a partir da fermentação de moléculas de açúcar encontradas em vegetais como a cana-de-açúcar, milho ou mandioca (Almeida; Colombo, 2021). Esse combustível é oxigenado, característica que torna a combustão mais eficiente e completa, reduzindo a formação de hidrocarbonetos (Balat; Balat; Öz, 2008; Lopes *et al.*, 2016; Almeida; Colombo, 2021).
Midades trabalhistaDentre as matérias primas utilizadas na

produção do biocombustível, a cana-de-açúcar se destaca devido ao baixo consumo de energia na produção e ao baixo custo, pois possui um alto teor de açúcares facilmente fermentáveis, apresentando características excelentes para a produção de bioetanol (Manochio *et al.*, 2017; Almeida; Colombo, 2021).

Em 1975, após o fim segunda guerra e a crise mundial do petróleo, o uso do etanol no Brasil como alternativa energética se expandiu, juntamente com o Programa PROALCOOL (Duarte *et al.*, 2022). Em 2003, iniciou-se a inserção de carros flex no Brasil, impulsionando ainda mais a produção de bioetanol (Defante, Vilpoux e Sauer, 2018). Hoje, o país ocupa a segunda posição no ranking mundial de países produtores de etanol (Araújo, 2016; Bellezoni *et al.*, 2018; CONAB, 2023).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) (2023), a produção de cana-de-açúcar destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2017/18 atingiu 38,6 milhões de toneladas produzidas e 27,8 milhões de toneladas exportadas, equivalentes a 20% da produção global e 45% da exportação mundial. Em São Paulo, estima-se que essa produção represente 59,7% da produção nacional de açúcar, comprometendo uma área plantada de mais de 4 milhões de hectares. Essas estimativas ressaltam a demanda por terras agrícolas e a necessidade de expansão com menor agressão ambiental, em particular em São Paulo (Ferreira Filho; Horridge, 2014; CONAB, 2023; FARESP, 2023).

Logo, a expansão da cana-de-açúcar tem gerado uma crescente demanda por novas áreas de produção, resultando em escassez de água e de terras, impactos ambientais crescentes, e diminuição da disponibilidade de recursos (*e.g.* alimento) (Bellezoni *et al.*, 2018).

2.2 Conversão de áreas de pastagens a áreas agrícolas

Aproximadamente 1,5 milhão de hectares destinados a pastagem no Brasil foram convertidos em plantio de cana-de-açúcar entre os anos de 2000 e 2009, representando 64% da área de expansão de cana-de-açúcar no país (Filoso *et al.*, 2015). Segundo Ogura *et al.* (2022), no estado de São Paulo, ocorreu redução de 53,5% nas áreas de pastagens e aumento de 143,8% no cultivo de cana-de-açúcar.

Em paralelo às grandes áreas de cultivo de cana, de um total aproximado de 30%, estima-se que as pastagens cultivadas respondam a 13% da área relativa de terras antropizadas no Brasil, e que áreas de pastagem degradadas correspondam a aproximadamente 15 milhões de hectares (Landau *et al.*, 2020).

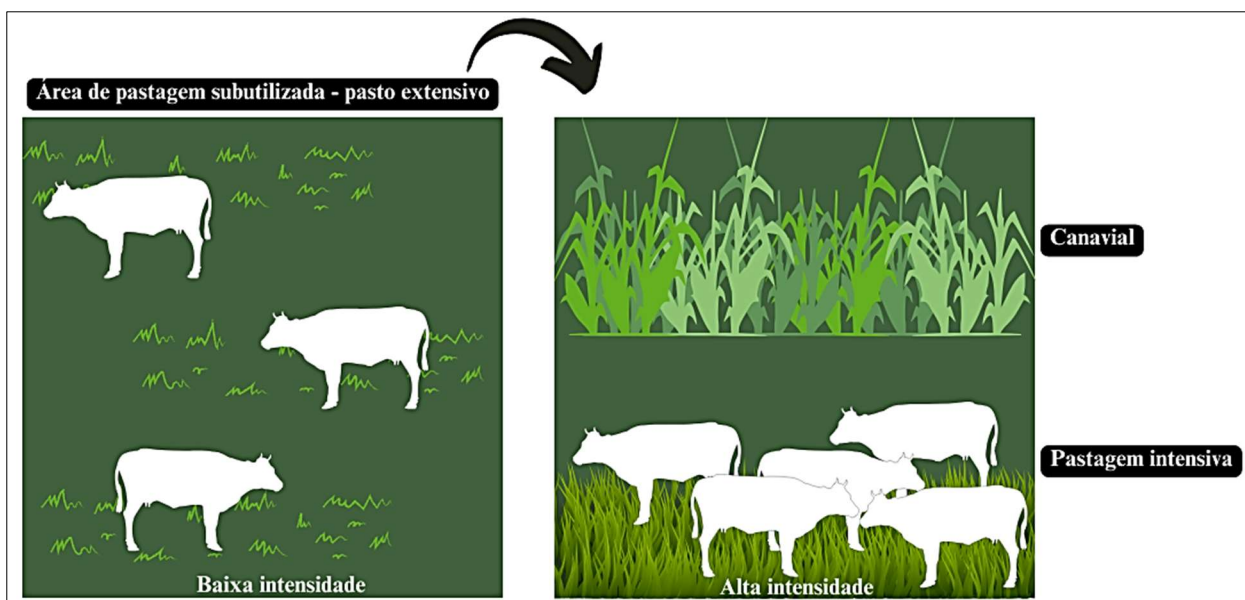
Nesse cenário de avanço sucroenergético, em 2012, o governo lançou o programa ABC, a fim de reduzir a emissão dos gases do efeito estufa pela agricultura e promover a integração

lavoura-pecuária-floresta, dando melhor aproveitamento às extensões de pasto subutilizadas e degradadas (Brasil, 2012; Landau *et al.*, 2020).

Do ponto de vista ambiental, visando evitar o desmatamento de floresta nativa, a expansão de cana-de-açúcar a partir da intensificação de pastagem e da conversão de áreas de pastagens degradadas são medidas que tem potencial de melhorar o aproveitamento de áreas subutilizadas de pasto, evitando o desflorestamento e diminuindo a concorrência por terra para produção de alimentos, e permitindo a expansão de culturas de biocombustíveis (Alkimim; Sparovek; Clarke, 2015; Spera; Vanwey; Mustard, 2017). Porém, para real compreensão das vantagens ambientais destes processos, são necessários estudos mais aprofundados e integrados, principalmente referentes a qualidade do solo (Martíni, Valani, Boschi, Bovi, Silva e Cooper, 2020).

As medidas alternativas de uso do solo citadas acima embasam-se na conversão de pastagens subutilizadas em áreas de cultivo produtivo, intensificando-se uma parcela da área de pastagem extensiva (baixa produtividade), aumentando a produtividade do pasto, e permitindo-se a conversão do restante da área extensiva em produção de cana (Figura 1).

Figura 1 - Conversão de pastagem em canavial e intensificação de pastagem



Fonte: Autor, 2023

Na visão pecuária, a intensificação de pastagem visa aumentar a taxa de produção animal, mantendo-se o sistema de produção estável e com alta produtividade. Para que haja

aumento da produção animal por unidade de área, são aplicadas metodologias de manejo que acabam por suprimir a qualidade do solo, como aumento da taxa da utilização da forragem — mudança que exige uma espécie forrageira de boa qualidade e necessita da aplicação de fertilizantes e herbicidas — medidas de correção (calagem), desestruturação e adubação do solo. Deve-se também aumentar a taxa de lotação que é determinada pela massa de forragem. Esse processo conta com o melhoramento de diferentes fatores ligados ao clima, ao solo, à planta forrageira e ao animal (Martha Júnior *et al.*, 2003; Euclides e Montagner, 2013; Alkimim; Sparovek; Clarke, 2015).

Silva *et al.* (2017) apontam medidas de intensificação sustentável como forma de melhor gerenciamento de pastagem, resultando em benefícios econômicos e ambientais. Dentre os benefícios estão; a recuperação das áreas de pastagens, aumento do sequestro de carbono no solo, redução de desmatamento e, conseqüentemente, redução das emissões de gases de efeito estufa.

Em estudo, Alkimim, Sparovek e Clarke (2015) indicaram que as áreas de pastagens do estado de São Paulo estão dentre as mais adequadas para conversão em produção de cana-de-açúcar, isso porque essas zonas possuem grandes áreas contíguas de pastagens com potencial físico (*e.g.* tipo de solo, fertilidade, clima e bioma), disponibilidade de infraestrutura (*e.g.* estradas, ferrovias e usinas) e fatores socioeconômicos (*e.g.* educação e estrutura etária) para a produção de cana-de-açúcar. Condições adequadas que podem justificar o crescimento 143,8% no cultivo de cana-de-açúcar no estado (Ogura *et al.*, 2022)

De acordo com Bento *et al.* (2018), as mudanças nas práticas de uso e manejo do solo, conversão de pastagem de baixa intensidade para agricultura convencional de cana-de-açúcar e pastagem de manejo intensivo, aumentam as emissões de gases de efeito estufa (GEE), como o CO₂, o N₂O e o CH₄, pelo menos durante o estágio de transição. Esses resultados foram obtidos por meio da medição de gases *in situ*, durante o período de um ano, havendo a necessidade de estudos a longo prazo.

Mello *et al.* (2014) também demonstraram que a conversão de áreas de pastagem em canavial gera emissão de carbono, mas que essa geração pode ser compensada em dois a três anos após o plantio de cana, enquanto seriam necessários oito anos para compensar a perda de carbono gerada pela ocupação de áreas de vegetação nativa como o Cerrado, domínio fitogeográfico que já perdeu mais da metade de sua cobertura natural devido à expansão agrícola (Filoso *et al.*, 2015).

Outro aspecto a ser considerado no plantio de cana, é a perda de cobertura vegetal envolvida na conversão de pastagem. Segundo o estudo sobre qualidade do solo realizado por Martíni *et al.* (2020), existem lacunas de estudos que considerem a complexidade de fatores físicos, químicos e biológicos, além de hidrofísicos, micromorfológicos e de macrofauna, envolvidos no cultivo de cana-de-açúcar. Adicionalmente, Cavalcanti *et al.* (2020) em seu estudo sobre as alterações físicas do solo ocasionadas pela cana-de-açúcar no bioma Mata Atlântica demonstraram que o cultivo, abordando metodologias de aração e preparo, reduziu a porosidade do solo, suas funções físicas, o carbono e a estabilidade dos agregados, reduzindo também sua capacidade de plantio. Conforme descrito por Martíni *et al.* (2020), outras pesquisas têm evidenciado que o cultivo de cana em larga escala com mecanização intensiva também causa danos significativos no solo, afetando a densidade, porosidade e a comunidade biológica.

Ainda sobre a conversão de pastagem e a expansão da cana, Cherubin *et al.* (2016) identificaram que a qualidade física do solo diminuiu com plantio de cana, que a compactação do solo reduziu a aeração do meio e a disponibilidade de água sob pastagens e cana-de-açúcar, e que os solos canavieiros são mais suscetíveis à degradação pelo processo erosivo. Os autores indicaram que capacidade do solo de desempenhar suas funções físicas diminuiu de 90% sob vegetação nativa para 73% sob pastagem, e 68% para cana.

Nesse contexto, ainda que a conversão de áreas de pastagens a áreas agrícolas seja uma alternativa considerável em aspectos de disponibilidade de terra e conservação de áreas preservadas, é de extrema relevância analisar as problemáticas ambientais e ecológicas envolvidas no processo de conversão e intensificação. A fim de analisar a real sustentabilidade ambiental da expansão de cana a partir de pastagens de baixa intensidade, deve-se também atentar-se para outras práticas agropecuárias convencionais e intensivas que envolvem a utilização de insumos agrícolas, tais como agrotóxicos, corretivos e fertilizantes que também podem ser prejudiciais ao meio ambiente (Graaff *et al.*, 2019; Peron *et al.*, 2023).

2.3 Demanda por agrotóxicos

O mercado mundial de consumo de agrotóxicos cresceu aproximadamente 95% nos últimos dez anos, sendo utilizadas mais de 3 milhões de toneladas de agrotóxicos anualmente no mundo, movimentando 101,7 bilhões de reais no ano de 2020 no Brasil (Bombardi, 2017; Fernandes *et al.*, 2020; Fundação Heinrich Böll, 2023). O Brasil se configura como o maior

consumidor de agrotóxicos do mundo, utilizando aproximadamente 719 mil toneladas no ano de 2020, desempenhando forte influência econômica no setor (FAOSTAT, 2023).

No Brasil, dados do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), no ano de 2022, a importação de produto formulado foi de 283,31 mil toneladas, a exportação de 5,59 mil toneladas e a produção de 664,43 mil toneladas. Com base nas vendas totais, as classes de agrotóxicos mais vendidas foram herbicidas, fungicidas e inseticidas (IBAMA, 2023).

Dentre os *commodities*, a cana-de-açúcar está entre as culturas que mais consomem agrotóxicos no país. Segundo o documento “Atlas dos Agrotóxicos: Fatos e dados do uso dessas substâncias na agricultura” divulgado pela Fundação Heinrich Böll (2023), o volume total de agrotóxicos consumidos no Brasil no ano de 2021 foi superior a 720 toneladas, representando um aumento de 87% quando comparado com o ano de 2010, onde os cultivos que mais consomem agrotóxicos são: soja, cana-de-açúcar, milho e algodão. Segundo a Fundação Heinrich Böll (2023), essas quatro culturas juntas consomem 83% dos agrotóxicos comercializados no país.

Dentre os 1610 produtos aprovados entre 2019 e 2022, 36,2% dos produtos formulados tinham indicação para o cultivo de cana (Hess *et al.*, 2022). Estes mesmos autores destacam que, de 31 ingredientes ativos com mais de 3.000 toneladas comercializadas no país em 2020, 14 têm uso proibido pela União Européia: glifosato, clomazona, picloram, mancozebe, trifloxistrobina, atrazina, tebuconazol, acefato, piraclostrobina, clorotalonil, carbosulfano, malationa, metomil, enxofre, tiofanato-metílico, imidacloprido, dibrometo de diquate, clorpirifós, tebutiurom, dicloreto de paraquate, ametrina, diurom, óleo mineral, carbendazim, tiametoxam, cletodim, azoxistrobina, oxicloreto de cobre, lambda-cialotrina, s-metolaclo. r.

Sobre a comercialização nacional de agrotóxicos proibidos na união europeia:

Empresas sediadas na União Europeia têm vendido agrotóxicos proibidos em seus próprios territórios para outros países, dentre eles, os países que compõem o Mercosul (Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai). A Sipcam Oxon Spa, por exemplo, exportou para os países do Mercosul 200 toneladas de Atrazina e 100 toneladas de Ametryn, em 2019. Já a Bories, neste mesmo ano, exportou para o Mercosul 440 toneladas de Carbaryl, a Bayer exportou 34 toneladas de Ethoxysulfuron e a BASF exportou 554 toneladas de Fipronil para os países do Mercosul (Fundação Heinrich Böll, 2023, p. 14)

Neste contexto, o crescente número de novos produtos aprovados para uso no território brasileiro e sua intensa utilização configuram uma relevante problemática de saúde pública, visto que esses xenobióticos representam risco à saúde humana — com efeitos crônicos, agudos e conseqüentemente carcinogênicos — e ao meio ambiente (Fernandes *et al.*, 2020; Lopes-Ferreira *et al.*, 2022).

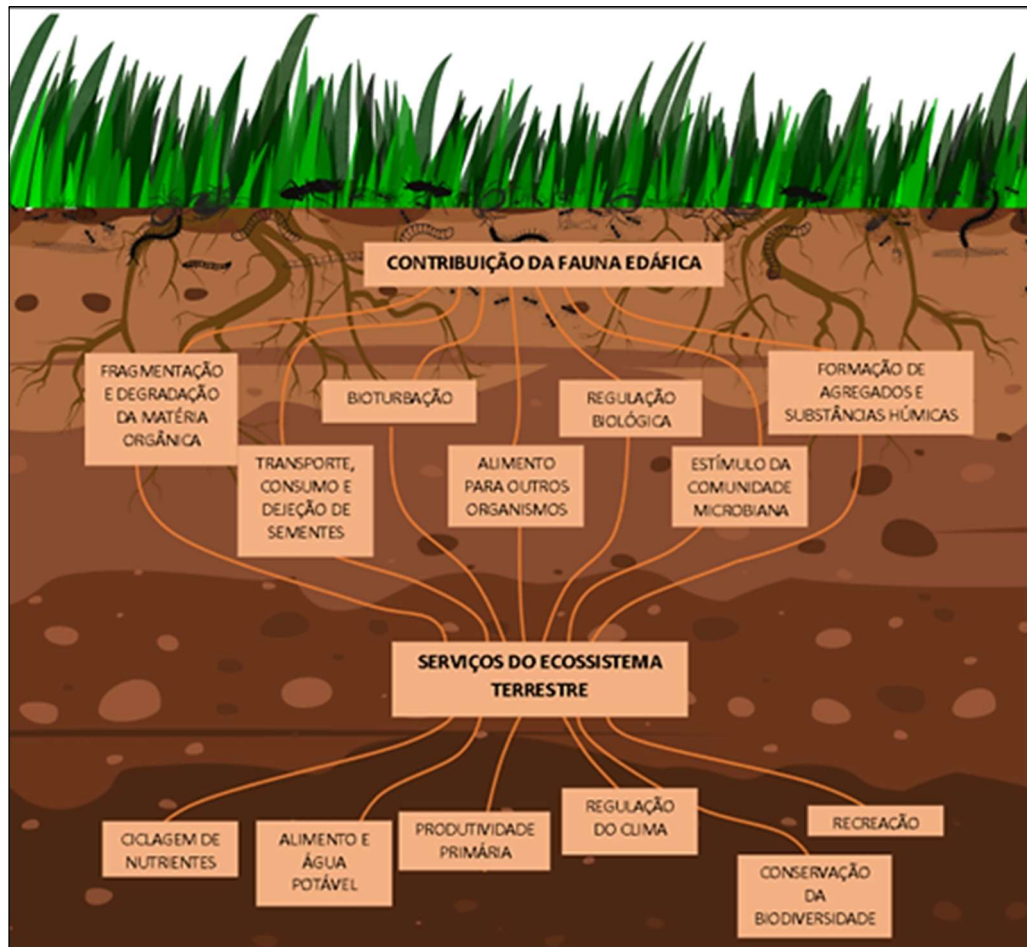
2.4 Invertebrados terrestres e os serviços do ecossistema

A elevada demanda por agrotóxico na escala de produção agropecuária voltada para sua conversão em *commodities* e em agroenergia tem levado a sérias conseqüências ambientais, inclusive impactos sobre a qualidade do solo (Franco *et al.*, 2016; Bombardi 2017; Lopes-Ferreira *et al.*, 2022).

Dados de Franco *et al.* (2016) sobre a expansão da cana-de-açúcar a partir de pastagens apontaram perda significativa de biodiversidade e qualidade do solo. Segundo Martini *et al.* (2020), nos últimos 9 anos, o interesse pelos impactos cultivo da cana-de-açúcar sobre a qualidade do solo tem crescido consideravelmente no meio acadêmico.

A qualidade do solo depende da diversidade e abundância de organismos, assim como das características físico-químicas, estruturais e climáticas do meio. Um solo de boa qualidade é capaz de promover atividade biológica, fornecendo elementos essenciais à vida, desempenhando papel de fixador para vegetais, função de regulador de água no ambiente, recarregando aquíferos com água de qualidade, ciclagem do nitrogênio, carbono, fósforo, zinco e outros nutrientes, assimilando ainda resíduos orgânicos e remediando contaminantes (Vezzani; Mielniczuk, 2009; Lepsch, 2010; FAO, 2020). Cada organismo é capaz de desempenhar uma função no ambiente e influir no fornecimento dos serviços do ecossistema (Figura 2).

Figura 2 - Representação geral sobre as contribuições da fauna edáfica e suas funções sobre serviços do ecossistema do solo



Fonte: Adaptado de Brown *et al.* (2015)

Em 2001, a Millennium Ecosystem Assessment (MEA) criou o conceito “serviços do ecossistema”, definindo-o como benefícios que as pessoas obtêm dos ecossistemas e que, direta ou indiretamente, suportam a sua sobrevivência e qualidade de vida. Esse conceito foi estabelecido com o intuito de fornecer avaliação integrada das consequências das alterações nos ecossistemas para o bem-estar humano; providenciar base científica para melhorar a gestão dos ecossistemas da terra; e garantir a conservação e uso sustentável dos recursos, respondendo ao mesmo tempo às necessidades humanas. Esses serviços são divididos em quatro categorias (MEA, 2005):

- **Serviços de provisão** - Produtos que as pessoas obtêm dos ecossistemas como alimentos, combustível, fibras e água doce;

- **Serviços de regulação** - Os benefícios que as pessoas obtêm da regulação dos processos ecossistêmicos, incluindo manutenção da qualidade do ar, regulação do clima, controle da erosão, controle de doenças humanas e purificação de água;
- **Serviços culturais** - Benefícios como enriquecimento espiritual, desenvolvimento cognitivo, reflexão, recreação e experiências estéticas;
- **Serviços de suporte** - Serviços que são necessários para a produção de todos os outros serviços como produção primária, produção de oxigênio e formação de solo.

A biodiversidade da fauna edáfica influencia os serviços do solo e contribui para regulação climática, a produção de alimento e provisão de água limpa, além de outros benefícios essenciais. A biota terrestre influi nos serviços através de funções de decomposição da matéria orgânica, ciclagem de carbono (pela fragmentação e decomposição da serapilheira, servindo de estímulo para o desenvolvimento de microrganismos), ciclagem de nutrientes (por processos físicos como bioturbação e transporte de partículas do solo, e químicos, pela digestão), agregação e humificação do solo (húmus e pelotas fecais), produção primária (cobertura vegetal) e controle de pragas (Lavelle *et al.*, 2006; Turbé *et al.*, 2010; Chagnon *et al.*, 2014; Brown *et al.*, 2015; Orgiazzi *et al.*, 2016; FAO, 2020).

Os organismos terrestres são capazes de criar poros no interior do solo e alterar sua rugosidade, facilitando a permeabilidade da água para os aquíferos subterrâneos e para o abastecimento de água superficial, regulando o fluxo de água no ambiente, contribuindo com a produção primária (provisão de alimento). Esses organismos também participam de processos de degradação de contaminantes na água e no solo, e estão envolvidos no controle populacional de insetos e patógenos de plantas, por meio de relações ecológicas (Lavelle *et al.*, 2006; Turbé *et al.*, 2010; Chagnon *et al.*, 2014; Orgiazzi *et al.*, 2016; FAO, 2020). Logo, esses organismos terrestres são capazes de reduzir a poluição ambiental e propiciar melhor produção agrícola (Araújo; Monteiro, 2007).

A fauna edáfica pode ser classificada por tamanho (Correia; Oliveira, 2000; Turbé *et al.*, 2010):

- A comunidade de microorganismos é composta de fungos, bactérias, nemátodos e protozoários. Esses organismos possuem tamanho menor que 100 μm , e são considerados engenheiros químicos do solo, atuando na transformação de carbono através da decomposição de resíduos de plantas e matéria orgânica, e na transformação de nutrientes (por exemplo, nitrogênio, fósforo, enxofre).

- Os organismos representantes da mesofauna edáfica possuem tamanho variado entre 100 µm e 2 mm, e exercem função de reguladores biológicos. Eles são capazes de regular as populações de fungos e bactérias da microfauna; alterar a ciclagem de nutrientes (*e.g.* bioturbação e transporte de partículas do solo); fragmentar detritos vegetais; produzir pelotas fecais; criar bioporos e promover humificação. São exemplos de organismos da mesofauna enquitreídeos, colêmbolos e ácaros.
- A macrofauna pode ser representada por formigas, cupins, minhocas, organismos maiores que 2 mm. Alguns invertebrados da macrofauna como cupins, minhocas e formigas são conhecidos como engenheiros do ecossistema, atuando na estrutura do solo pela formação de redes de poros e bio-estruturas, agregação, e/ou transporte de partículas.

Os indivíduos da mesofauna podem habitar diferentes zonas no ambiente: vegetação (zona epígea) até os níveis orgânicos na superfície do solo (zona hemiedáfica) e extratos profundos (zona euedáfica) (Baretta *et al.*, 2011).

2.4.1 Atributos funcionais

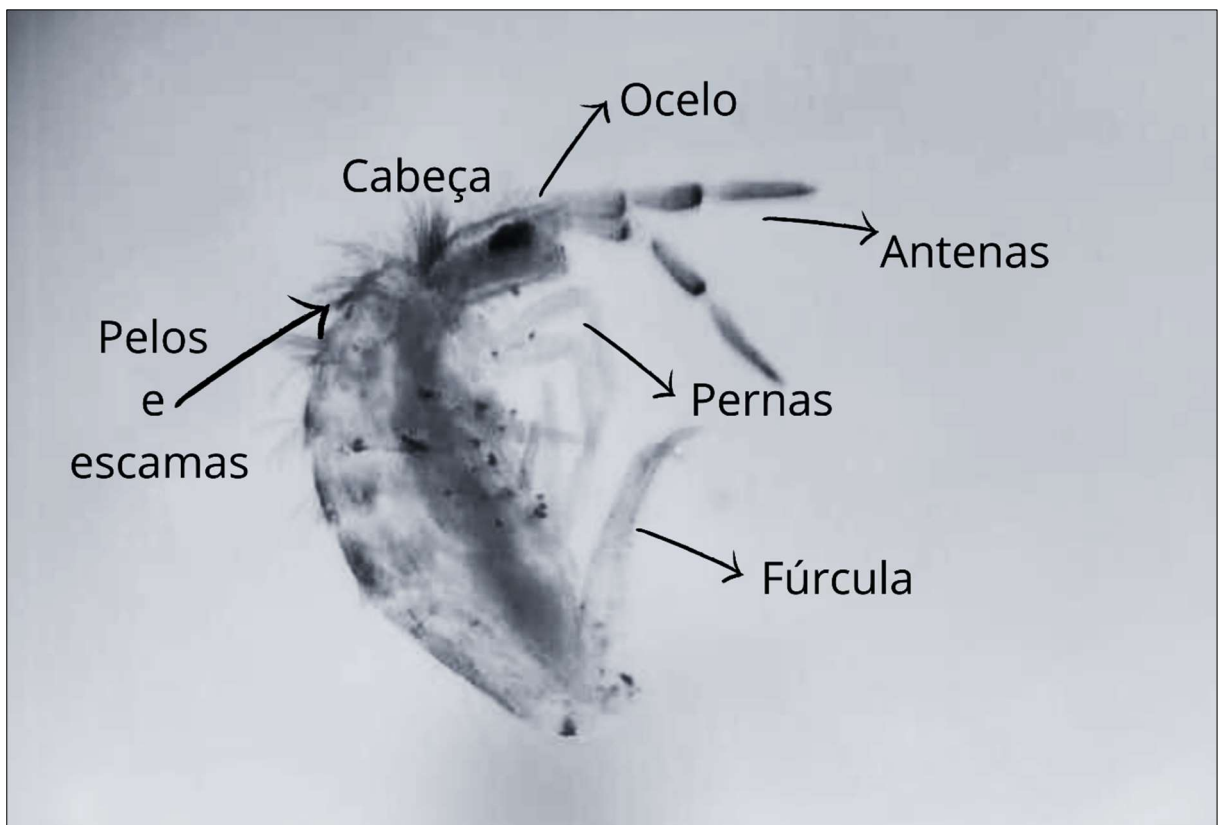
Os atributos funcionais são indicadores potenciais para o monitoramento da biodiversidade e baseiam-se nas características funcionais de espécies e comunidades (Vandewalle *et al.*, 2010). Eles representam características de um organismo, que possuem relação direta com as funções desempenhadas por ele no ecossistema, refletindo suas adaptações às alterações no ambiente, além de influenciarem fortemente seu desempenho no mesmo, indicando seu tipo de habitat no solo (epiedáfico, hemiedáfico e euedáfico), hábitos comportamentais e alimentares (Mcgill *et al.*, 2006; De Bello *et al.*, 2010; Podgaiski; Mendonça Junior; Pillar, 2011).

Os processos e serviços dos ecossistemas dependem da ação combinada de diferentes espécies, fato que indica que o tipo, a variedade e especialmente a abundância relativa de características funcionais (biodiversidade funcional) em comunidades bióticas exercem um controle significativo sobre os diferentes serviços ecossistêmicos (De Bello *et al.*, 2010).

Para a escolha dos atributos funcionais é necessário conhecer sobre a interação do organismo com seu habitat e como seus atributos variam sobre gradientes ambientais, informações estas que permitem associar e determinar características funcionais específicas às

funções. Esses atributos devem ser escolhidos de acordo com a função de interesse (Petchey *et al.*, 2006). Os colêmbolos, por exemplo, apresentam características morfológicas ligadas à adaptação de cada espécie ao ambiente do solo como ocelos, fúrcula, antenas, pigmentação e presença de pelos e escamas (Figura 3). Através dessas características é possível determinar qual a 'forma de vida' do organismo no ambiente, e as funções que ele desempenha. Para tal determinação, são utilizados cálculos baseados na soma de todos os escores de cada característica individual, sendo compreendida entre 2 (mínimo, indicando uma espécie com maior adaptação às camadas superficiais) e 18 (máximo, indicando uma espécie com maior adaptação às camadas profundas do solo) (quadro 1) (Vandewalle *et al.*, 2010).

Figura 3 - Características morfológicas do colêmbolo



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Quadro 1 - Atributos funcionais de colêmbolos, pontuações e respostas ao ambiente

Atributo funcional	Pontuação	Resposta do atributo ao ambiente
Desenvolvimento da fúrcula	1= reduzida 3= desenvolvida 5= muito desenvolvida	Preferência de habitat; movimentação e locomoção; fuga de predadores
Ocelos	0= ausência 1= presença	Preferência de habitat
Tamanho da antenna	1= $0 < x < 0,5$ tamanho do corpo 3= $0,5 < x < 1$ tamanho do corpo 5= > 1 tamanho do corpo	Preferência de habitat; detecção de mudanças no microclima
Pigmentação	1=branco 3= colorido 5=colorido com manchas	Preferência de habitat; proteção contra raios UV; camuflagem
Presença de pelos e escamas	1=ausência 3= presença de pelos 5= presença de pelos e escamas	Preferência de habitat e resistência à dessecação

Fonte: Pinto (2018) adaptado de Chelinho *et al.*, (2014).

2.5 Efeitos de agrotóxicos sobre os invertebrados terrestres

No aspecto ambiental, os xenobióticos de uso agrícola têm a capacidade de afetar organismos alvo e não-alvo, suprimindo mecanismos de controle biológicos do solo e modificando a estrutura trófica de suas comunidades edáficas, além de impactar a qualidade da água, ar e solo (Sánchez-Bayo, 2011; EFSA, 2017; FAO, 2020).

Os invertebrados terrestres, além de possuírem relevante papel ecológico, desempenham função de indicadores de qualidade do solo. Estudos têm sugerido especialmente colêmbolos e enquitreídeos como indicadores biológicos, podendo ser acreditados como indicadores de uso e manejo da terra (Nelson *et al.*, 2011; Pulleman *et al.*, 2012; Pelosi E Römbke; 2017; EFSA, 2017).

Considerando os invertebrados terrestres como bioindicadores de qualidade do solo, em meio aos estudos sobre os efeitos xenobióticos sobre organismos edáficos não alvo, tem sido crescente os estudos que relatam os danos acentuados que os agrotóxicos causam na biodiversidade edáfica (Alves, 2014; EFSA, 2017; Triques *et al.*, 2021; 2022; FAO, 2020)

Os efeitos desses compostos não dependem somente de sua composição química, mas também de seu método de aplicação, dose, tipo de solo, textura, estrutura, pH, teor de matéria orgânica, temperatura do meio, sensibilidade das espécies, e outros aspectos que influenciarão efeitos diretos ou indiretos sobre a saúde do solo e biodiversidade (Correia, 2000; Sánchez-Bayo; Hyne 2011; Thomsen; Faber; Sorensen, 2012; Filoso *et al.*, 2015; Orgiazzi *et al.*, 2016). Esses impactos, letais e subletais, têm potencial de afetar as comunidades terrestres e o desempenho dos indivíduos, modificando as interações ecológicas intra e interespecíficas (Orgiazzi *et al.*, 2016, Oriordan *et al.*, 2021).

A exposição dos invertebrados terrestres aos agrotóxicos pode resultar em efeitos nocivos sobre a fisiologia e a sobrevivência desses organismos, consequências estas que dependerão da concentração da exposição, da duração da exposição, da via de exposição, que pode ser por ingestão ou contato, da taxa de absorção e da sensibilidade inerente às espécies (PISA *et al.*, 2014; Daam *et al.*, 2019).

Na literatura são relatados efeitos crônicos e agudos causados por agrotóxicos, a uma série de invertebrados não alvo, incluindo colêmbolos, ácaros e minhocas (Zortéa *et al.*, 2018; Carniel *et al.*, 2019; Daam *et al.*, 2019; Triques *et al.*, 2021).

Frampton *et al.* (2006), em estudo sobre a sensibilidade de invertebrados do solo a agrotóxicos, apontaram que a espécie padrão de ensaios de sensibilidade com minhoca, *Eisenia*

fetida, é a espécie menos sensível a inseticidas, com base na mortalidade aguda, em comparação com o colêmbolo *Folsomia candida* (Collembola), que está entre as espécies mais sensíveis para fungicidas, herbicidas e inseticidas. Pisa *et al.* (2014), em seu artigo de revisão, descreveram efeitos letais e subletais causados por inseticidas neonicotinóides e fipronil, sobre borboletas, mariposas, moscas, aranhas, colêmbolos, minhocas, abelhas e besouros, indicando impactos biológicos e ecológicos negativos de grande escala e ampla variação.

Oliveira; Bianchi; Espíndola (2018) estudaram os efeitos ecotoxicológicos dos agrotóxicos Kraft 36 EC e Score em solo tropical natural utilizando o enquitreídeo *Enchytraeus crypticus*, o colêmbolo *Folsomia candida* e o ácaro *Hypoaspis aculeifer*. Os autores apontaram que concentrações ambientalmente relevantes de ambos os agrotóxicos apresentaram um risco potencial para os invertebrados do solo, mesmo nas doses recomendadas.

Os efeitos de agrotóxicos sobre os invertebrados terrestres compõem a avaliação de risco ecológico (ARE). A ARE é um processo de coleta, organização e análise de dados ambientais. Ela é realizada com a intenção de estimar o risco ou a probabilidade de efeitos indesejados sobre organismos, populações ou ecossistemas, causados por vários estressores associados às atividades humanas, como a aplicação de agrotóxicos (Jensen; Pedersen, 2006).

A avaliação de risco ecológico ao ambiente terrestre iniciou-se em meados de 1980, mais tarde do que a avaliação do risco ao ambiente aquático (Van Gestel, 2012). Esse estudo, relativamente novo, é considerado complexo devido à alta heterogeneidade do solo, e pode ser descrito em dois principais tipos: ARE prospectiva, baseada em extrapolações mais ou menos genéricas de estudos semi-campo, de laboratório ou controlados, normalmente aplicada na avaliação de efeitos de substâncias (*e.g.* agrotóxicos) e/ou atividades futuras (*e.g.* autorização de produtos químicos novos); e ARE retrospectiva, usualmente utilizada na descrição/estimativa de mudanças em populações ou ecossistemas em locais contaminados, configurando uma avaliação de impacto (Aqeel; Jamil; Yusoff, 2014; Jensen E Mesman; 2006).

Na ARE o conceito de serviços ecossistêmicos tem lugar de destaque, desde o desenvolvimento de novos métodos até sua aplicação como forte ferramenta de comunicação e valoração desses serviços, integração esta que tem influenciado no avanço de políticas ambientais de proteção (Chapman, 2008; Faber; Van Wensem, 2012). Segundo Faber e Van Wensem (2012), empregar os serviços ecossistêmicos na ARE fundamenta-se em fazê-los foco central da avaliação de risco. Os indicadores de serviços ecossistêmicos e as unidades contábeis relacionadas têm papel primordial no desenvolvimento de estruturas de decisão para sistemas de gestão sustentável da terra (Rutgers *et al.*, 2012; Thomsen; Faber; Sorensen, 2012).

De uma forma geral, a utilização dos serviços ecossistêmicos como *endpoints* promove a integração de métodos de avaliação ambiental, em diferentes compartimentos, suscita a comunicação através de uma linguagem comum entre os interessados (cientistas, órgãos ambientais, empresa, público e sociedade), e possibilita a valoração dos serviços ecossistêmicos, indicando a qualidades de oferta e demanda dos mesmos, o que facilita as tomadas de decisões (Thomsen; Faber; Sorensen, 2012; Faber; Van Wensem, 2012; Nienstedt *et al.*, 2012; Geijzendorffer; Martín-López; Roche, 2015; Niemeyer, 2018).

A avaliação dos efeitos na ARE se dá em níveis distintos, partindo desde testes individuais e um pouco mais simples até ensaios mais complexos, a fim de preservar os serviços ambientais, objetivando alcançar condições mais realistas, abordando o maior número de espécies possíveis (EFSA, 2017).

As Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSD) compõem uma abordagem mais complexa de ARE, apanhando um maior número de espécies em nível intermediário de análise (EFSA, 2017). As SSDs estão sendo empregadas na ecotoxicologia terrestre para substituir experimentos de semicampo em nível intermediário de análise devido à sua facilidade e boa representação das comunidades biológicas quando bem executadas (Frampton *et al.*, 2006; EFSA, 2017; Fox *et al.*, 2006; Fox *et al.* al., 2021). As SSDs permitem estimar diferentes concentrações perigosas (valores de HC (*Hazardous Concentration*)) responsáveis por danificar x% das espécies do ambiente estudado (Gredelj *et al.*, 2018). Dessa forma, calculando o HC5, por exemplo, é possível entender a concentração máxima aceitável em que 95% dos organismos estão seguros, e compreender o risco aos serviços do solo nas condições estudadas.

2.4 Fipronil e 2,4- D

Dentre os agrotóxicos mais utilizados no plantio de cana e atividade pecuária, inclusive presentes nos processos de intensificação e conversão de pastagem, estão o herbicida 2,4-D e o inseticida fipronil, com 110 e 85 produtos formulados, respectivamente (Christofoletti *et al.*, 2017; IBAMA, 2023).

O fipronil (5 - amino - 1 - [2,6 - dichloro - 4 - (trifluoromethyl) phenyl] - 4 - (trifluoromethylsulfinyl) -1H -pyrazole - 3 - carbonitrile) é ingrediente ativo do produto comercial Regent® 800 WG (BASF). Esse inseticida pertence ao grupo dos fenilpirazóis, possui caráter hidrofóbico com baixo potencial de lixiviação, forte adsorção no solo e em sedimentos, e maior afinidade por matrizes orgânicas tais como lipídios, óleos e solventes

orgânicos, sendo considerado um composto estável à temperatura ambiente. A solubilidade do composto em água é baixa (2,4 mg L⁻¹ em pH 5), com coeficiente de sorção (K_{oc}) igual a 803 mL g⁻¹ e o log K_{ow} igual a 4,01 (Barceló, 1997; Gunasekara *et al.*, 2007; Silva, Cardoso & Júnior, 2015; Feitosa *et al.*, 2023).

O composto, quando exposto à luz, sofre fotodegradação e sua meia-vida é de 3,6 horas em água e 34 dias em solo argiloso (NPIC, 2018). Em solo argilo-arenoso a vida média do fipronil é de 122-128 dias, e se aplicado em outros tipos de solo, pode variar de 3 a 7 meses (USEPA, 1996). De acordo com Gunasekara *et al.* (2007), o fipronil e seus metabólitos são persistentes no solo, com degradação de aproximadamente 111 a 350 dias, dependendo das características do meio. Sanchez-Bayo (2011) concluiu que valores de meia-vida do fipronil são mais longos em solos de ambientes tropicais, sendo em média de 9 a 200 dias, enquanto em solo não tropical, de 6 a 135 dias.

O modo de ação do fipronil ocorre no sistema nervoso de insetos e ácaros por meio da ligação a receptores de ácido gama aminobutírico (GABA) e glutamato, que inibem a abertura dos canais de íons cloreto e, conseqüentemente, levam à hiperatividade neuronal, paralisando organismo-alvo e podendo leva-lo à morte (Sluijs *et al.*, 2014; Bhatt *et al.*, 2023).

Para aplicação em cultura de cana, a maior dose recomendada (DR) do produto formulado Regent® 800 WG (i.a. fipronil) é de 1,3 mg kg⁻¹ solo seco, equivalente a 1,04 mg fipronil kg⁻¹ solo seco, fato que configura concentrações ecologicamente relevantes, considerando-se o contexto de aplicação. Logo, alguns estudos ecotoxicológicos com invertebrados terrestres não alvo têm apontado que a DR se encontra acima das concentrações de efeito. Alves (2014) avaliou a toxicidade do fipronil no organismo não alvo *Folsomia candida* (Collembola), apresentando uma redução de 20% na reprodução do colêmbolo na concentração de 0,12 mg de fipronil kg⁻¹ de solo artificial seco, sob condições tropicais (23 ± 2°C).

Zortéa *et al.* (2018) avaliaram a toxicidade do inseticida sobre *F. candida*, em três tipos de solo (Solo Artificial, Latossolo e Latossolo Vermelho). O agrotóxico reduziu a reprodução dos organismos significativamente na concentração de 0,15 mg fipronil kg⁻¹ de solo seco. Alves (2013) demonstrou os efeitos do fipronil sobre a minhoca *Eisenia andrei*, observando 20% de redução na reprodução dos organismos na concentração de 23,16 mg/kg em solo artificial.

Triques *et al.*, 2021 também avaliaram os efeitos dos agrotóxicos fipronil e 2,4-D em plantas e organismos do solo, e indicaram que em doses recomendadas, ambos produtos causam efeitos negativos graves aos invertebrados terrestres, incluindo espécies de plantas não-alvo.

Em complemento às informações citadas acima, diante do potencial risco ambiental do fipronil, em 29 de dezembro de 2023 o IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) suspendeu, como medida cautelar, a aplicação de agrotóxicos à base de fipronil por meio de pulverização foliar em área total, objetivando proteger os insetos polinizadores, até a total reanálise do inseticida em 2012 (IBAMA, 2024).

Já o herbicida 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético) é altamente solúvel em água e considerado moderadamente persistente, podendo apresentar meia vida entre 20 a 312 dias, dependendo das condições ambientais (Walters, 2011; Serbent *et al.*, 2019). Esse herbicida mundialmente utilizado tem alta popularidade devido ao seu baixo custo e eficácia, do ponto de vista agropecuário, além do amplo espectro de controle de plantas daninhas, podendo ser encontrado como ingrediente ativo em mais de 1500 produtos formulados, representando, assim, potencial risco para plantas não alvo (Islam *et al.*, 2018; Triques *et al.*, 2021). Devido a sua alta solubilidade, quando o 2,4-D é aplicado diretamente no solo ou sobre as plantações, ele pode ser facilmente carregado por meio do escoamento superficial até corpos hídricos adjacentes, que acabam recebendo cerca de 91,7% da concentração aplicada (Gaultier *et al.*, 2008; Mountassif *et al.*, 2008; Serbent *et al.*, 2019; Feitosa *et al.*, 2023).

O 2,4-D pode ser potencialmente mineralizado no solo pela ação de microrganismos, evitando a contaminação de outros compartimentos. Sua degradação é influenciada tanto pelo teor de matéria orgânica, quanto pelo pH do solo. Em solo, sob condições aeróbias, a degradação do 2,4-D é rápida, com tempo de meia vida de 6,2 dias. Em ambientes aquáticos aeróbios a meia vida do composto é de 15 dias (RED, 2005).

A dose recomendada do herbicida DMA 806[®] BR para a eliminação de plantas daninhas na etapa de pré-emergência da cana-de-açúcar é de 7 µL de produto comercial kg⁻¹ de solo seco, o equivalente a 4,7 mg de 2,4-D kg⁻¹ de solo seco, conforme a bula do composto.

Correia e Moreira (2010) testaram em laboratório diferentes concentrações (1; 10; 100; 500; 1000 mg/kg de solo seco) de glifosato e de 2,4-D dispersos em solo natural tropical (Argissolo; umidade 60% WHC (*Water Holding Capacity*); pH 5,5) sobre a espécie de minhoca *Eisenia fetida*, por 56 dias, a 20 ± 2°C. Para o 2,4-D, houve mortalidade de 30% - 40% nas concentrações ecologicamente relevantes de 1 e 10 mg/kg, respectivamente, após 14 dias de exposição, além de uma redução gradual (≤30%) do peso médio dos organismos na

concentração de 10 mg/kg, depois de 56 dias, em comparação com a concentração controle, apontando para a geração de efeitos crônicos por parte desse herbicida.

3 JUSTIFICATIVA

O *status* mundial que o Brasil ocupa na produção de biocombustíveis, e as futuras projeções relacionadas à demanda, têm exigido áreas extensas e próprias para cultivo de cana-de-açúcar, disputa que tem gerado desmatamento e competição com a produção de alimento. Diante deste cenário o questionamento sobre a real sustentabilidade da produção de bioetanol é inevitável.

A produção de biocombustíveis no país ganha ainda mais força com a proposta RENOVA BIO, um programa do governo federal que visa a expansão dessa produção no país, duplicando a de etanol, até 2030. Diante disso, a possibilidade de desmatamento de florestas nativas ou em recuperação, e a redução de área disponível para a produção de alimento tornam-se preocupantes. Desta forma, medidas devem ser adotadas para que esta expansão ocorra da maneira mais sustentável possível.

Para atender tais demandas de produção de cana-de-açúcar, sem competir com a produção de alimentos e sem desmatar novas áreas, pesquisadores vêm estudando a viabilidade e sustentabilidade da conversão de áreas subutilizadas de pastagem (extensiva) em áreas de cultivo de cana-de-açúcar combinadas com uma intensificação de pastagem.

No entanto, para pensar em sustentabilidade, deve-se considerar que diversos outros fatores estão envolvidos que refletirão na qualidade dos ecossistemas. No que concerne à qualidade dos solos, avaliar as consequências físicas, químicas e biológicas de medidas de uso e manejo do solo envolvidas na conversão das áreas torna-se imprescindível. No que diz respeito à estrutura biológica, compreender esses possíveis impactos sobre a biodiversidade edáfica pode ser uma peça-chave para definir medidas realmente mais sustentáveis, visto os importantes papéis que os organismos desempenham com impacto direto sobre funções do solo que irão impactar diretamente a produção agrícola (ex.: ciclagem de nutrientes).

Logo, esta pesquisa foi desenvolvida com base na necessidade de fornecer dados que auxiliem tomadas de decisão e adoção de medidas de mitigação, por meio da Avaliação de Risco Ecológico, e que orientem a expansão sustentável do cultivo de cana de açúcar, no que se refere à estrutura biológica do solo, preservando a integridade ambiental e os serviços do ecossistema.

Baseado nessa problemática, a hipótese central desta pesquisa foi:

“A estrutura biológica e funções do solo são alteradas pelo seu tipo de uso (por intervenções físicas ou químicas) com impactos significativos sobre as funções do ecossistema.”

4 OBJETIVOS

No intuito de comprovar ou refutar a hipótese central desta pesquisa, os seguintes objetivos foram propostos:

Objetivo geral

Compreender os efeitos das atividades de conversão de pastagem em canavial e intensificação de pastagem, sobre a estrutura biológica (ênfase em mesofauna edáfica) e funções do solo, além de suas possíveis implicações a importantes serviços do ecossistema terrestre, tal como o ciclo da água no solo e a ciclagem de nutrientes, utilizando-se ensaios de semi-campo (microcosmos) e campo na região de Brotas, interior do Estado de São Paulo.

Objetivos específicos

Para melhor compreensão dos objetivos específicos, estes foram divididos em tarefas.

Tarefa 1 -

- Reconhecimento da mesofauna edáfica e as mudanças na composição da comunidade nas diferentes situações de uso do solo;
- avaliação da sensibilidade da mesofauna edáfica aos agrotóxicos utilizados na cultura de cana-de-açúcar no campo experimental (Regent[®] 800 WG (i.a. fipronil) e DMA[®] 806 BR (i.a. 2,4-D));
- avaliação dos efeitos dos agrotóxicos Regent[®] 800 WG (i.a. fipronil) e DMA[®] 806 BR (i.a. 2,4-D) sobre a comunidade de colêmbolos, considerando seus atributos funcionais;

Tarefa 2

- Avaliação dos efeitos dos agrotóxicos (Regent[®] 800 WG (i.a. fipronil) e DMA[®] 806 BR (i.a. 2,4-D)) sobre invertebrados do solo por meio de ensaios individuais, em laboratório;

Tarefa 3:

- determinar os efeitos dos agrotóxicos Regent® 800 WG (i.a. fipronil) e DMA® 806 BR (i.a. 2,4-D) sobre as funções (e.g. degradação de matéria orgânica e atividade alimentar) e serviços do ecossistema solo, a partir de ensaios no campo experimental;
- avaliar os efeitos do uso do solo, no campo experimental, sobre o ciclo da água, considerando os impactos na capacidade do solo em regular o fluxo de água no ambiente, assimilar e degradar contaminantes;

Tarefa 4:

- avaliar os riscos ecológicos a partir da exposição da comunidade à utilização de agrotóxicos.

De forma a melhor relatar os resultados obtidos relativos a cada objetivo específico, a tese foi dividida em 4 capítulos, como definidos a seguir.

Capítulo I – *Introdução geral: estado da arte, justificativa e objetivos;*

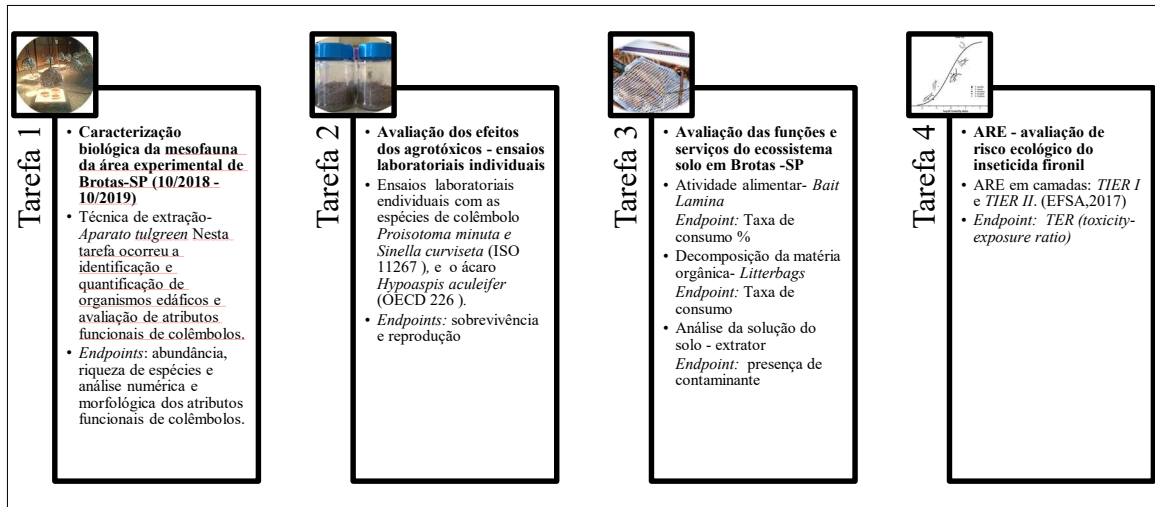
Capítulo II – *Intensificação de pastagem e cultivo de cana: impactos do uso e manejo do solo sobre mesofauna e as funções do ecossistema terrestre, contemplando as tarefas 1 e 3;*

Capítulo III – *Intensificação de pastagem e conversão de pastagem em cana-de-açúcar: respostas de colêmbolos como bioindicadores de qualidade do solo em diferentes usos do solo, contemplando as tarefas 1 e 3;*

Capítulo IV – *Avaliação de risco de Fipronil em solos tropicais: concentrações relevantes causam alto risco à comunidade edáfica, contemplando as tarefas 2 e 4.*

Com intuito de atender aos objetivos, identificando e caracterizando os possíveis efeitos, foi realizado o seguinte delineamento experimental (Figura 4):

Figura 4 - delineamento experimental



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Os capítulos a seguir abordarão os objetivos específicos aqui descritos e apresentarão as respectivas metodologias e resultados obtidos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADHIKARI, Kabindra; HARTEMINK, Alfred E.. Linking soils to ecosystem services — A global review. **Geoderma**, [s.l.], v. 262, p.101-111, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.009>.
- ALKIMIM, Akenya; SPAROVEK, Gerd; CLARKE, Keith C.. Converting Brazil's pastures to cropland: An alternative way to meet sugarcane demand and to spare forestlands. **Applied Geography**, [s.l.], v. 62, p.75-84, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeog.2015.04.008>.
- ALMEIDA, Milla Araújo de; COLOMBO, Renata. Production Chain of First-Generation Sugarcane Bioethanol: characterization and value-added application of wastes. *Bioenergy Research*, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 924-939, 2 jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12155-021-10301-4>.
- ALVES, Paulo Roger L. *et al.* Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. **Chemosphere**, [s.l.], v. 90, n. 11, p.2674-2682, mar. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.11.046>.
- ALVES, Paulo Roger L. *et al.* Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 105, p.65-71, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.010>.
- AQEEL, Muhammad; JAMIL, Mohd.; YUSOFF, Ismail. Soil Contamination, Risk Assessment and Remediation. **Environmental Risk Assessment Of Soil Contamination**, [s.l.], p.3-56, 26 mar. 2014. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/57287>.
- ARAÚJO, A.S.F. & MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, jul./set. 2007.
- ARAÚJO, Wilson A.. Ethanol Industry: Surpassing Uncertainties and Looking Forward. **Global Bioethanol**, [s.l.], p.1-33, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-803141-4.00001-0>.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT –. **NBR 6457**. Amostras de solo — Preparação para ensaios de compactação e ensaios de caracterização. Rio de Janeiro, 2016. 8p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT –. **NBR ISO 11267**. Qualidade do solo — Inibição da reprodução de Collembola (*Folsomia candida*) por poluentes do solo. Rio de Janeiro, 2011. 18p. 52
- 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. Rio de Janeiro, 2012. 29p.

- BALAT, Mustafa; BALAT, Havva; ÖZ, Cahide. Progress in bioethanol processing. **Progress In Energy And Combustion Science**, [s.l.], v. 34, n. 5, p.551-573, 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2007.11.001>.
- BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. **Trace determination of pesticides and their degradation products en water**. 3 ed. Amsterdam: Elsevier, 1997, 542 p.
- BARETTA, D. *et al.* Fauna edáfica e qualidade do solo. In: KLAUBERG FILHO, O.; MAFRA, A.L. (Org.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2011, v. 7, p. 119-170.
- BARETTA, D.; MAFRA, A.L.; SANTOS, J.C.P.; AMARANTE, C.V.T. & BERTOL, I. Análise multivariada da fauna edáfica em diferentes sistemas de preparo e cultivo do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**., 41:1675-1679, 2006.
- BARETTA, D.; SANTOS, J.C.P.; MAFRA, A.L.; WILDNER, L.P.; MIQUELLUTI, D.J. Fauna edáfica avaliada por armadilhas de catação manual afetada pelo manejo do solo na região oeste catarinense. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.2, p.97-106, 2003.
- BARRIOS, E.. Soil biota, ecosystem services and land productivity. **Ecological Economics**, [s.l.], v. 64, n. 2, p. 269-285, 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.03.004>.
- BELLEZONI, R. A. et al. Water-energy-food nexus of sugarcane ethanol production in the state of Goiás, Brazil: An analysis with regional input-output matrix. **Biomass And Bioenergy**, [s.l.], v. 115, p.108-119, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.04.017>. 53.
- BENTO, Camila Bolfarini et al. Impacts of sugarcane agriculture expansion over low-intensity cattle ranch pasture in Brazil on greenhouse gases. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 206, p.980-988, 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.085>.
- BHATT, Pankaj; GANGOLA, Saurabh; RAMOLA, Sudipta; *et al.* Insights into the toxicity and biodegradation of fipronil in contaminated environment. **Microbiological Research**, v. 266, p. 127247, 2023.
- BOMBARDI, L.M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. São Paulo: FFLCH – USP, 2017. 296p.
- BORDONAL, Ricardo De Oliveira; CARVALHO, João Luís Nunes; LAL, Rattan; *et al.* Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, n. 2, p. 13, 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano setorial de mitigação e de adaptação às mudanças climáticas para a consolidação de uma economia de baixa emissão de carbono na agricultura: plano ABC - Agricultura de Baixa Emissão de Carbono. Brasília, DF, 2012. Disponível em: Acesso em: 12 nov. 2018.
- BROWN, G. G.; Niva, C. C.; Zagatto, M. R. G.; Ferreira, S. A.; Nadolny, H. S.; Cardoso, G. B. X.; Santos, A.; Martinez, G. A.; Pasini, A.; Bartz, M. L. C.; Sautter, K. D.; Thomazini,

M. J.; Baretta, D.; Silva, E.; Antonioli, Z. I.; Decaëns, T.; Lavelle, P. M.; Sousa, J. P.; Carvalho, F. **Biodiversidade da fauna do solo e sua contribuição para os serviços ambientais**. In: Parron, L.M.; Garcia, J. R.; Oliveira, E. B.; Brown, G. G.; Prado, R. B. (Ed.). **Serviços ambientais em sistemas agrícolas e florestais do bioma Mata Atlântica**. Brasília: Embrapa, 2015. p. 113-145.

CARNIEL, Letícia Scopel Camargo, Julia Carina Niemeyer, Luís Carlos Iuñes de Oliveira Filho, Douglas Alexandre, Luciano Gebler, e Osmar Klauberg-Filho. “The Fungicide Mancozeb Affects Soil Invertebrates in Two Subtropical Brazilian Soils”. *Chemosphere* 232 (October, 2019): 180–85. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.179>.

CAVALCANTI, Roberta Q.; ROLIM, Mário M.; LIMA, Renato P. de; TAVARES, Uilka E.; PEDROSA, Elvira M.R.; CHERUBIN, Maurício R.. Soil physical changes induced by sugarcane cultivation in the Atlantic Forest biome, northeastern Brazil. *Geoderma*, [S.L.], v. 370, p. 114353, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114353>.

CHAGNON, Madeleine et al. Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.119-134, 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3277-x>.

CHAPMAN, P. M.. Ecosystem services – assessment endpoints for scientific investigations. **Marine Pollution Bulletin**, [s.l.], v. 56, n. 7, p.1237-1238, 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.04.040>.

CHELINHO, Sónia et al. Soil microarthropod community testing: A new approach to increase the ecological relevance of effect data for pesticide risk assessment. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], v. 83, p.200-209, 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.06.009>. 54

CHERUBIN, Maurício R.; KARLEN, Douglas L.; FRANCO, André L.C.; TORMENA, Cássio A.; CERRI, Carlos E.P.; DAVIES, Christian A.; CERRI, Carlos C.. Soil physical quality response to sugarcane expansion in Brazil. *Geoderma*, [S.L.], v. 267, p. 156-168, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.01.004>.

CHRISTOFOLETTI, C. A. *et al.* O emprego de agrotóxicos na cultura de cana-de-açúcar. In: FONTANETTI, Carmem Silvia; BUENO, Odair Correa (Org.). **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. Bauru: Canal 6, 2017. Cap. 3, p. 278. Disponível em: <http://www.canal6.com.br/livros_loja/Ebook_Cana.pdf>. Acesso em: agosto, 2018.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. Disponível em: file:///C:/Users/Dayane/Downloads/E-book_BoletimZdeZSafrasZcana_2ZlevZ2023.pdf. Acesso em: 13 out. 2023.

CORREIA, F. V; MOREIRA, J. C. Effects of Glyphosate and 2,4-D on Earthworms (*Eisenia foetida*) in Laboratory Tests. **Bull Environ Contam Toxicol**. v. 85, n. 3, p. 264–268, 2010. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00128-010-0089-7L>>. Acesso em: agosto, 2018.

- CORREIA, M. E. F.; OLIVEIRA, L. C. M. de. **Fauna de Solo: Aspectos Gerais e Metodológicos**. Seropédica: Embrapa *Agrobiologia*, fev. 2000. 46p. (Embrapa *Agrobiologia*. Documentos, 112).
- DAAM, Michiel A., Sónia Chelinho, Júlia C. Niemeyer, Olugbenga J. Owojori, P. Mangala C. S. De Silva, José Paulo Sousa, Cornelis A. M. van Gestel, e Jörg Römcke. “Environmental Risk Assessment of Pesticides in Tropical Terrestrial Ecosystems: Test Procedures, Current Status, and Future Perspectives”. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 181, (October 2019): 534–47. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.038>.
- DE BELLO, F. et al. Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits. **Biodiversity and Conservation**, 2010, v. 19, p. 2873-55 2893. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1007/s10531-010-9850-9>> Acesso em: outubro, 2018.
- DEFANTE, Lilliane Renata; VILPOUX, Olivier François; SAUER, Leandro. Rapid expansion of sugarcane crop for biofuels and influence on food production in the first producing region of Brazil. *Food Policy*, [S.L.], v. 79, p. 121-131, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodpol.2018.06.005>.
- DOS PERON, Rafaela Alves Santos; TOMAZELLI, Daniela; KRAFT, Elston; *et al.* Grassland management intensification affects the soil fauna in a subtropical highland. *Annals of Applied Biology*, v. 183, n. 1, p. 53–66, 2023.
- DUARTE, Victória Huch et al. Biocombustíveis:: uma revisão sobre o panorama histórico, produção e aplicações do biodiesel. *Meio Ambiente (Brasil)*, [S.I.], v. 4, n. 2, p. 050-068, 25 jul. 2022.
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), Colin Ockleford, Paulien Adriaanse, Philippe Berny, Theodorus Brock, Sabine Duquesne, Sandro Grilli, *et al.* “Scientific Opinion Addressing the State of the Science on Risk Assessment of Plant Protection Products for In-soil Organisms”. *EFSA Journal* 15, nº 2, February 2017. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4690>.
- EUCLIDES V. B. P.; MONTAGNER D. B. Estratégias para intensificação do sistema de produção. In: ROSA, N. A.; MARTINS, E. M.; MENEZES, G.R.O.; SILVA, L.O.C. (Eds.) **Melhoramento genético aplicado em gado de corte: Programa Geneplus-Embrapa**. Brasília, Embrapa. 2013, p. 49-60.
- FABER, J. H.; VAN WENSEM, J.. Elaborations on the use of the ecosystem services concept for application in ecological risk assessment for soils. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 415, p.3-8, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.059>. 56
- FAO - Food and Agriculture Organization. **State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities**. 2020. [s.l.]:Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/cb1928en>>. Acesso em: 1 out. 2023.
- FAOSTAT. **Pesticides Use**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>. Acesso em: 14 out. 2023.

- FARESP (Federação das Associações Rurais do Estado De São Paulo). Faesp: maior do país, produção paulista de cana-de-açúcar é estimada em 308 milhões de toneladas, com alta de 3,2%. Disponível em: <https://faespsenar.com.br/faesp-maior-do-pais-producao-paulista-de-cana-de-acucar-e-estimada-em-308-milhoes-de-toneladas-com-alta-de-32/>. Acesso em: 07 fev. 2023.
- FARIA, Henrique dos Santos. Fatores de expansão do setor sucroenergético no Brasil no início do século XXI, *Geografares*, 36, 2023. Disponível em: URL: <http://journals.openedition.org/geografares/8727>. Acesso em: 1 out. 2023.
- FEITOSA, Ingrid; MUNIN, Nívea; GOULART, Bianca; *et al.* OCORRÊNCIA DE AGROTÓXICOS EM SOLOS ARGILOSOS E ARENOSOS APÓS APLICAÇÃO EM PASTAGENS E CANA-DE-AÇÚCAR. *Química Nova*, 2023. Disponível em: <https://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=9551&nomeArquivo=AR2022-0235.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2023.
- FERNANDES, Caroline Lopes Feijo; VOLCÃO, Lisiane Martins; RAMIRES, Paula Florêncio; *et al.* Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: a critical review. *Environmental Science: Processes & Impacts*, v. 22, n. 2, p. 256–270, 2020.
- FERREIRA FILHO, J. B. de S.; HORRIDGE, M.. Ethanol expansion and indirect land use change in Brazil. *Land Use Policy*, [s.l.], v. 36, p.595-604, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2013.10.015>.
- FILOSO, S.; CARMO, J. B.; MARDEGAN, S. F.; LINS, S. R. M.; GOMES, T. F.; MARTINELLI, L. A. Reassessing the environmental impacts of sugarcane ethanol production in Brazil to help meet sustainability goals. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 52, p. 1847-1856, 2015.
- FOX, D.R.; DAM, R.A.; FISHER, R.; *et al.* Recent Developments in Species Sensitivity Distribution Modeling. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 40, n. 2, p. 293–308, 2021.
- FRAMPTON, G. K. *et al.* Effects of pesticides on soil invertebrates in laboratory studies: a review and analysis using species sensitivity distributions. *Environmental Toxicology And Chemistry*, [s.l.], v. 25, n. 9, p.2480-2489, 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1897/05-438r.1>.
- FRANCO, André L.C.; BARTZ, Marie L.C.; CHERUBIN, Maurício R.; *et al.* Loss of soil (macro)fauna due to the expansion of Brazilian sugarcane acreage. *Science of The Total Environment*, v. 563–564, p. 160–168, 2016.
- FUNDAÇÃO HEINRICH BÖLL. Atlas dos Agrotóxicos Fatos e dados do uso dessas substâncias na agricultura. 2023. Disponível em: <https://br.boell.org/pt-br/2023/12/01/atlas-dos-agrotoxicos>. Acesso em: 02 jan. 2024.
- GAULTIER, J. *et al.* Degradation of [carboxyl-14C] 2,4-D and [ring-U-14C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 40, n. 1, p. 217–227, 2008.

- GEIJZENDORFFER, I. R.; MARTÍN-LÓPEZ, B.; ROCHE, P. K.. Improving the identification of mismatches in ecosystem services assessments. **Ecological Indicators**, [s.l.], v. 52, p.320-331, 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.12.016>.
- GRAAFF, Marie-Anne de; HORNSLEIN, Nicole; THROOP, Heather L.; KARDOL, Paul; VAN DIEPEN, Linda T.A.. Effects of agricultural intensification on soil biodiversity and implications for ecosystem functioning: a meta-analysis. *Advances In Agronomy*, [S.L.], p. 1-44, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.agron.2019.01.001>.
- GREDELJ, Andrea; BARAUSSE, Alberto; GRECHI, Laura; et al. Deriving predicted no-effect concentrations (PNECs) for emerging contaminants in the river Po, Italy, using three approaches: Assessment factor, species sensitivity distribution and AQUATOX ecosystem modelling. *Environment International*, v. 119, p. 66–78, 2018.
- GUNASEKARA, A. S.; TROUNG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S.. Environmental fate and toxicology of fipronil. **J. Pestic. Sci.**, [s.l.], v. 32, n. 3, p.189-199, 2007. Pesticide Science Society of Japan. <http://dx.doi.org/10.1584/jpestics.r07-02>.
- HESS, Sonia Corina; NODARI, Rubens. Agrotóxicos no Brasil Panorama dos produtos aprovados entre 2019 e 2022. **Ambientes em Movimento: DOSSIÊ AGROECOLOGIAS**, [S.I.], v. 2, n. 2, p. 39-52, 18 dez. 2022.
- IBAMA Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Painéis de informações de agrotóxicos**. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos#Painel-comercializacao>. Acesso em: 01 ago. 2023.
- IBAMA. Ibama suspende cautelarmente aplicação de agrotóxicos à base de fipronil. Disponível em: [https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/notas/2024/ibama-suspende-cautelarmente-aplicacao-de-agrotoxicos-a-base-de-fipronil#:~:text=Bras%C3%ADlia%20\(02%2F01%2F2024,ao%20solo%20ou%20%C3%A0s%20plantas](https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/notas/2024/ibama-suspende-cautelarmente-aplicacao-de-agrotoxicos-a-base-de-fipronil#:~:text=Bras%C3%ADlia%20(02%2F01%2F2024,ao%20solo%20ou%20%C3%A0s%20plantas). Acesso em: 2 de janeiro de 2024.
- ISLAM, F. et al. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. **Environment International**, v. 111, p. 332–351, 1 fev. 2018.
- JENSEN, J.; MESMAN, M. (Eds.). **Ecological risk assessment of contaminated land: decision support for site specific investigations**. Liberation: [s.l.], 2006.
- JENSEN, J.; PEDERSEN, M. B.. Ecological Risk Assessment of Contaminated Soil. **Reviews Of Environmental Contamination And Toxicology**, [s.l.], p.73-105, 2006. Springer New York. http://dx.doi.org/10.1007/0-387-32883-1_3.
- KLADIVKO, E. J.. Tillage systems and soil ecology. **Soil And Tillage Research**, [s.l.], v. 61, n. 1-2, p.61-76, ago. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0167-1987\(01\)00179-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-1987(01)00179-9).
- LANDAU, E.C.; SIMEÃO, R.M.; MATOS-NETO, F.C. Evolução da área ocupada por pastagens. *Dinâmica Da Produção Agropecuária e da Paisagem Natural no Brasil nas Últimas décadas: Produtos de Origem Animal e da Silvicultura*, 3rd ed.; Landau, E., da

Silva, G.A., Moura, L., Hirsch, A., Guimaraes, D., Eds.; Embrapa: Brasília, Brazil, 2020; pp. 1555–1578.

LAVELLE, P. *et al.* Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal Of Soil Biology**, [s.l.], v. 42, p.3-15, nov. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>.

LEPSCH, Igo F. **Formação e conservação dos solos/** Igo F. Lepsch.- 2. Ed. – São Paulo: Oficina de Textos, 2010.

LOPES, Mario Lucio *et al.* Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 47, p.64-76, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.003>. 59

LOPES, Vanessa Cristina; PARENTE, Leandro Leal; BAUMANN, Luís Rodrigo Fernandes; MIZIARA, Fausto; FERREIRA, Laerte Guimarães. Land-use dynamics in a Brazilian agricultural frontier region, 1985-2017. *Land Use Policy*, [S.L.], v. 97, p. 104740, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2020.104740>.

LOPES-FERREIRA, Monica; MALESKI, Adolfo Luis Almeida; BALAN-LIMA, Leticia; *et al.* Impact of Pesticides on Human Health in the Last Six Years in Brazil. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 6, p. 3198, 2022.

MANOCHIO, C. *et al.* Ethanol from biomass: A comparative overview. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 80, p.743-755, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.063>.

MARTHA JÚNIOR, G. B. *et al.* **Área de piquete e taxa de lotação no pastejo rotacionado.** Embrapa Cerrados: Comunicado Técnico 101, 2003.

MARTÍNI, Aline Fachin; VALANI, Gustavo Pereira; BOSCHI, Raquel Stucchi; BOVI, Renata Cristina; SILVA, Laura Fernanda Simões da; COOPER, Miguel. Is soil quality a concern in sugarcane cultivation? A bibliometric review. *Soil And Tillage Research*, [S.L.], v. 204, p. 104751, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2020.104751>.

MCGILL, B. J.; ENQUIST, B. J.; WEIHER, E.; WESTOBY, M. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution*, 2006, 2: 178-185, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002>.

MEA - Millennium Ecosystem Assessment, *Ecosystem and Human Well-being: A Framework for Assessment.* Island Press, 2005.

MELLO, F. F. C. *et al.* Payback time for soil carbon and sugar-cane ethanol. **Nature Climate Change**, [s.l.], v. 4, n. 7, p.605-609, 8 jun. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate2239>.

MOUNTASSIF, D. *et al.* Biochemical and histological alterations of cellular metabolism from jerboa (*Jaculus orientalis*) by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: effects on d-3-hydroxybutyrate dehydrogenase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 90, n. 2, p. 87–96, 2008. 60

- NELSON, Karen Lindsey *et al.* Influence of agricultural soils on the growth and reproduction of the bio-indicator *Folsomia candida*. **Pedobiologia**, [s.l.], v. 54, n. 2, p.79-86, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pedobi.2010.09.003>.
- NIEMEYER, Júlia Carina. **Avaliação de risco ecológico (ARE) de áreas contaminadas**: São Carlos - São Paulo: Slides, 2018. 79 slides, color.
- NIENSTEDT, Karin M. *et al.* Development of a framework based on an ecosystem services approach for deriving specific protection goals for environmental risk assessment of pesticides. **Science of the Total Environment**, [s.l.], v. 415, p.31-38, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.057>.
- NPIC - National Pesticide Information Center. Fipronil. Disponível em <<http://www.ace.orst.edu/info/nptn>> Acesso em: setembro. 2018.
- OGURA, Allan Pretti; SILVA, Andrêina Custódio da; CASTRO, Gleyson Borges; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta; SILVA, Aparecida Leonir da. An overview of the sugarcane expansion in the state of São Paulo (Brazil) over the last two decades and its environmental impacts. *Sustainable Production And Consumption*, [S.L.], v. 32, p. 66-75, jul. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.spc.2022.04.010>.
- OLIVEIRA, Vanessa Bezerra de Menezes; BIANCHI, Miriam de Oliveira; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta. Hazard assessment of the pesticides KRAFT 36 EC and SCORE in a tropical natural soil using an ecotoxicological test battery. *Environmental Toxicology And Chemistry*, [S.L.], v. 37, n. 11, p. 2919-2924, 23 fev. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.4056>.
- ONU. Nações Unidas. **Crescendo a um ritmo mais lento, a população mundial deverá atingir os 9,7 mil milhões em 2050 e poderá atingir um pico de quase 11 mil milhões por volta de 2100**. 2019. Disponível em: <https://www.un.org/development/desa/en/news/population/world-population-prospects-2019.html>. Acesso em: 17 jun. 2019.
- ORGIAZZI, A. *et al.* **Global Soil Biodiversity Atlas**. Luxembourg, European Commission. 2016, 176p.
- O'RIORDAN, Roisin; DAVIES, Jess; STEVENS, Carly; QUINTON, John N; BOYKO, Christopher. The ecosystem services of urban soils: a review. *Geoderma*, [S.L.], v. 395, p. 115076, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115076>.
- PELOSI, Celine; RÖMBKE, Jörg. Enchytraeids as bioindicators of land use and management. **Applied Soil Ecology**, [s.l.], p.2-5, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.05.014>.
- PERON, Rafaela Alves Santos; TOMAZELLI, Daniela; KRAFT, Elston; *et al.* Grassland management intensification affects the soil fauna in a subtropical highland. **Annals of Applied Biology**, v. 183, n. 1, p. 53–66, 2023.
- PETCHEY, O. L.; GASTON, K. J. Functional diversity: back to basics and looking forward. **Ecology letters**, Oxford, v. 9, n. 6, p. 741–58, jun. 2006.

- PINTO, E. D. C. P.. **Avaliação dos efeitos do Kraft 36EC sobre a estrutura biológica do solo utilizando atributos funcionais de colêmbolos.** 2018. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.
- PISA, L. W. et al. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.68-102, 17 set. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3471-x>. 62
- PODGAISKI, Luciana Regina; MENDONÇA JUNIOR, Milton de Souza; PILLAR, Valério D.. O uso de atributos funcionais de invertebrados terrestres na ecologia: O que, como e por quê?. **Oecologia Australis**, [s.l.], v. 15, n. 04, p.835-853, dez. 2011. Oecologia Australis. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2011.1504.05>.
- PULLEMAN, Mirjam *et al.* Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services—an overview of European approaches. **Current Opinion In Environmental Sustainability**, [s.l.], v. 4, n. 5, p.529-538, nov. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cosust.2012.10.009>.
- RED - Reregistration Eligibility Decision *2,4-D*; EPA 738-R-05-002; U.S. Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington, D.C., 2005.
- RULLI, Maria Cristina et al. The water-land-food nexus of first-generation biofuels. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.1-10, 3 mar. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/srep22521>. 63.
- RUTGERS, M. et al. A method to assess ecosystem services developed from soil attributes with stakeholders and data of four arable farms. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 415, p.39-48, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.04.041>.
- SALLES-FILHO, S.; BIN, A.; CASTRO, P.F.D.; FERRO, A.F.P.; CORDER, S.. Innovation in the Brazilian Bioethanol Sector: questioning leadership. *Global Bioethanol*, [S.L.], p. 122-141, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-803141-4.00005-8>.
- SÁNCHEZ-BAYO, Francisco. Impacts of Agricultural Pesticides on Terrestrial Ecosystems. **Ecological Impacts Of Toxic Chemicals (open Access)**, [s.l.], p.63-87, 27 ago. 2011. BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS. <http://dx.doi.org/10.2174/978160805121210063>.
- SANCHEZ-BAYO, Francisco; HYNE, Ross V. Comparison of environmental risks of pesticides between tropical and nontropical regions. *Integrated Environmental Assessment And Management*, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 577-586, 19 maio 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ieam.189>.
- SERBENT, Maria Pilar; REBELO, Andrey Martinez; PINHEIRO, Adilson; *et al.* Biological agents for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide degradation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 13, p. 5065–5078, 2019.

- SILVA, Rafael de Oliveira *et al.* Sustainable intensification of Brazilian livestock production through optimized pasture restoration. **Agricultural Systems**, [s.l.], v. 153, p.201-211, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2017.02.001>.
- SILVA, Raquel de Oliveira; CARDOSO, Claudia Andrea Lima; SCORZA JÚNIOR, Rômulo Penna. Desenvolvimento e validação de um método analítico para quantificação de atrazina do fipronil e seus produtos de degradação em amostras de solo por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Natura**, [s.l.], v. 37, n. 3, p.693-702, 20 ago. 2015. Universidad Federal de Santa Maria. <http://dx.doi.org/10.5902/2179460x18889>.
- SLUIJS, J. P. van Der et al. Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.148-154, 10 out. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3229-5>.
- SPERA, Stephanie; VANWEY, Leah; MUSTARD, Jack. The drivers of sugarcane expansion in Goiás, Brazil. **Land Use Policy**, [s.l.], v. 66, p.111-119, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2017.03.037>.
- State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities.** [s.l.]: FAO, 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/cb1928en>>. Acesso em: 1 out. 2023.
- THOMSEN, Marianne; FABER, Jack H.; SORENSEN, Peter Borgen. Soil ecosystem health and services – Evaluation of ecological indicators susceptible to chemical stressors. **Ecological Indicators**, [s.l.], v. 16, p.67-75, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.05.012>.
- TRIQUES, Maria Carolina, Fabianne Ribeiro, Dayane De Oliveira, Bianca Veloso Goulart, Cassiana Carolina Montagner, Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, e Vanessa Bezerra De Menezes-Oliveira. “The Ecotoxicity of Sugarcane Pesticides to Non-Target Soil Organisms as a Function of Soil Properties and Moisture Conditions”. *International Journal of Environmental Research* 16, nº 4 (agosto de 2022): 61. <https://doi.org/10.1007/s41742-022-00433-6>.
- TRIQUES, Maria Carolina; OLIVEIRA, Dayane; GOULART, Bianca Veloso; *et al.* Assessing single effects of sugarcane pesticides fipronil and 2,4-D on plants and soil organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111622, 2021.
- TURBÉ, A.; TONI, A.; BENITO, P; LAVELLE, P; LAVELLE, P; RUIZ, N; VAN DER PUTTEN, W. H.; LABOUZE, E.; MUDGAL, S. **Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers.** Bio Intelligence Service, IRD, and NIOO, Report for European Commission (DG Environment). 2010.
- U.S. EPA. New pesticide fact sheet. PB96 - 181516. **EPA 737 - F -96 -005.** U.S. EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 1996.
- UNICA. **União da Indústria de Cana-de-Açúcar: balanço de atividades 2018/19 2012/13. BALANÇO DE ATIVIDADES 2018/19 2012/13.** Disponível em: <https://unica.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Relatorio-Atividades-201213-a-201819.pdf>. Acesso em: 13 out. 2023.

- VAN DIJK, Michiel; MORLEY, Tom; RAU, Marie Luise; SAGHAI, Yashar. A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, [S.L.], v. 2, n. 7, p. 494-501, 21 jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>.
- VAN GESTEL, Cornelis A.M.. Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. *Zookeys*, [S.L.], v. 176, p. 275-296, 20 mar. 2012. Pensoft Publishers. <http://dx.doi.org/10.3897/zookeys.176.2275>.
- VANDEWALLE, Marie *et al.* Functional traits as indicators of biodiversity response to land use changes across ecosystems and organisms. ***Biodiversity And Conservation***, [s.l.], v. 19, n. 10, p.2921-2947, 9 mar. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10531-010-9798-9>.
- VEZZANI, Fabiane Machado; MIELNICZUK, João. Uma visão sobre qualidade do solo. ***Revista Brasileira de Ciência do Solo***, [s.l.], v. 33, n. 4, p.743-755, ago. 2009. Fap UNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-06832009000400001>.
- WALTERS, T. **Environmental Fate of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid**. Environmental Monitoring and Pest Management, Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA, USA, 2011. Disponível em: <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/24-d.pdf>.
- ZORTÉA, T. et al. Ecotoxicological effect of fipronil and its metabolites on *Folsomia candida* in tropical soils. ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, [s.l.], v. 62, p.203-209, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2018.07.011>.

**CAPÍTULO II: INTENSIFICAÇÃO DE PASTAGEM E CULTIVO DE
CANA: IMPACTOS DO USO E MANEJO DO SOLO SOBRE
MESOFAUNA E AS FUNÇÕES DO ECOSISTEMA TERRESTRE**

Capítulo II: Intensificação de pastagem e cultivo de cana: impactos do uso e manejo do solo sobre mesofauna e as funções do ecossistema terrestre

RESUMO:

Com o intuito de suprir as crescentes demandas alimentares e sucroalcooleiras, sem desmatamento de novas áreas de mata nativa, as metodologias de intensificação de pastagem e conversão de áreas subutilizadas de pasto em canavial têm sido frequentemente aplicadas. Essas metodologias contam com práticas convencionais de uso e manejo do solo, incluindo uma densa utilização de agrotóxicos, que alteram a estrutura do meio, gerando contaminação orgânica/inorgânica no habitat. Diante dos impactos químicos, físicos e biológicos desses processos no solo, surge a necessidade de investigar quais as reais consequências ambientais dessas técnicas de intensificação sobre organismos edáficos não-alvo. Sendo assim, esse capítulo visa, através de experimentos de campo realizados na região de Brotas-São Paulo, analisar e compreender os efeitos da conversão de pastagem extensiva em canavial e da intensificação de pastagem — incluindo a adição do herbicida 2,4-D e do inseticida fipronil — sobre a composição da comunidade de mesofauna edáfica. A área experimental de Brotas-SP (~701.820,96 m²) foi dividida em três tratamentos: 1) Plantio de cana-de-açúcar; 2) Pasto extensivo (PE.) e 3) Pasto Intensivo (P.I). Cada tratamento foi composto de cinco réplicas (2.500 m² /réplica). Através de ensaios experimentais de campo e coletas de mesofauna, realizou-se análise de comportamento da comunidade edáfica, avaliação da sensibilidade dos organismos terrestres aos agrotóxicos (Regent® 800 WG (i.a. fipronil) e DMA® 806 BR (i.a. 2,4-D); e a avaliação do desempenho das funções (degradação de matéria orgânica e atividade alimentar) da mesofauna edáfica. Em decorrência dos impactos do preparo e uso do solo (aragem, gradagem, calagem e adição do fipronil no solo para o plantio de cana), PI e Cana apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) na abundância da comunidade (- 80,5% e - 97,51%, respectivamente) em relação à área de referência PE. São necessários mais estudos que

orientem a expansão do cultivo de cana de açúcar e assegurem a sustentabilidade do biocombustível.

Palavras-chave: invertebrados terrestres; biodiversidade edáfica; fipronil; 2,4-D; manejo convencional

1 INTRODUÇÃO

Diante da escassez de áreas agricultáveis e do aumento da densidade populacional com suas altas demandas por alimento e energia, tem-se buscado cada vez mais alternativas sustentáveis para suprir essas necessidades. Logo, o bioetanol de cana-de-açúcar tem sido destaque no Brasil e no mundo, e sua expansão acelerada no território nacional tem sido uma realidade evidente. Perante esse desafio de disputa de terra, a intensificação de pastagem e a conversão de áreas de pastagem subutilizadas em canavial têm sido práticas recorrentes no cenário brasileiro, principalmente no estado de São Paulo (Ogura *et al.*, 2022).

Perante o percentual significativo de áreas degradadas e subutilizadas de pasto espalhadas pelo território brasileiro — onde 64% são pastagens degradadas, de um total de 159 milhões de hectares — essa metodologia pasto intensivo-cana tem sido considerada como uma alternativa “sustentável” de manejo das áreas, a fim de suprir as demandas por extensas áreas para cultivo de cana-de-açúcar para etanol (Muller *et al.*, 2017; Damian *et al.*, 2021; EMBRAPA, 2023).

As metodologias que envolvem a expansão de cana a partir de áreas de pastagem degradadas consistem, inicialmente, em partir de uma área de pasto extensivo (subutilizada) e integrar várias técnicas para obter um sistema pecuário mais produtivo, ou seja, de pasto intensivo. Em paralelo, no caso da conversão de pastagem em canavial, utiliza-se a área de pasto extensivo restante do processo de intensificação, e emprega-se práticas de manejo que englobam, entre outras, aplicação de agrotóxicos e desestruturação do solo, para o cultivo da cana-de-açúcar (Bordonal *et al.*, 2018).

No processo de intensificação do manejo das pastagens, diminui-se a área disponível para pastoreio, aumenta-se a densidade de gado, fertilizando e corrigindo o solo, e plantando uma espécie de braquiária melhorada, aprimorando assim o aproveitamento da área, do ponto de vista agropecuário (Bordonal *et al.*, 2018; Cardoso *et al.*, 2020).

Embora a utilização de áreas já degradadas como alternativa para o cultivo agrícola seja importante do ponto de vista de conservação de áreas nativas, a somatória dos impactos dessa atividade de intensificação/conversão também deve ser levada em consideração. A área de pastejo extensivo por si só disponibiliza um solo relativamente pobre em biodiversidade (animal e vegetal) e estruturalmente afetado pela compactação (Camara; Silva; Santos; Aguiar; Pereira; Silva; Silva, 2019). Logo, é relevante compreender as consequências da inserção de novas práticas de manejo em um solo já degenerado, principalmente a adição de inseticidas que podem colocar em risco a comunidade local existente, comprometendo serviços ecossistêmicos.

As práticas convencionais de produção e cultivo agropecuários colocam em risco organismos não-alvo, gerando efeitos nocivos sobre a fauna edáfica como perda de diversidade, abundância e interações ecológicas, comprometendo os serviços e a manutenção da qualidade do solo, papéis fundamentais desenvolvidos por esses organismos. As atividades de gradagem, aragem, calagem, fertilização e adição de agrotóxicos que são utilizadas no processo lavoura-pecuária são ações que alteram as características físico-químicas do meio, em toda sua complexidade, fator que impacta diretamente a comunidade edáfica (Franco *et al.*, 2016; Martíni *et al.*, 2020).

A comunidade terrestre contribui por meio de processos funcionais do solo (e.g.: ciclagem de nutrientes, produção de biomassa e estoque de carbono, dentre outros) para o fornecimento de produtos do ecossistema como água e produção primária, necessários para a manutenção da vida. Logo, a manutenção da biodiversidade terrestre e o desempenho de suas funções no solo incidem diretamente sobre os serviços do ecossistema terrestre e que, conseqüentemente, afetam o meio ambiente e a vida humana (Lavelle *et al.*, 2006; Oriordan *et al.*, 2021).

Diante desse contexto, é certo que o uso e ocupação do solo são necessários para garantir a segurança alimentar e provisão energética, mas não devem ocorrer em detrimento de suas propriedades ecológicas e estruturais, sem intuito de preservação (Barrios, 2007; Adhikari; Hartemink, 2016).

Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar os impactos da conversão de pastagem em canavial e da intensificação de pastagem sobre a composição da mesofauna edáfica, além de discutir prováveis influências sobre funções e serviços do ecossistema desempenhados pela fauna edáfica em uma área experimental localizada (APTA - Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio) na cidade de Brotas na região nordeste do estado de São Paulo, Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir, serão detalhadas as metodologias utilizadas na investigação dos impactos do uso e manejo do solo sobre a fauna e funções do ecossistema terrestre envolvidos na intensificação e conversão de pastagem em cana-de-açúcar.

2.1 Agrotóxicos

Nesta pesquisa foram escolhidos como objetos de estudo dois agrotóxicos muito utilizados no plantio de cana-de-açúcar do estado de São Paulo, o inseticida Regent 800[®] WG (80% de ingrediente ativo fipronil) e herbicida DMA 806[®]BR (67% de ingrediente ativo 2,4 D) (Christofolletti *et al.*, 2017; IEA, 2018). As concentrações e técnicas de aplicação seguiram as recomendações do produto comercial.

2.2 Análises químicas

As análises de quantificação dos agrotóxicos foram realizadas no Laboratório de Química Ambiental, do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e descritas por Goulart (2023).

Amostras de 50 gramas de solo natural arenoso (Neossolo Quartzarênico distrófico) do campo experimental foram coletadas (5 amostras/tratamento, uma por parcela). As concentrações de fipronil, subprodutos de fipronil (sulfide e sulfona) e 2,4-D foram quantificadas pelo Cromatógrafo Líquido Triplo Quadrupolo / Espectrômetro de Massa 6410B. A extração sólido-líquido foi realizada em três ciclos (10 min cada) com adição de 20 ml de diclorometano (grau HPLC > 99,8%) cada. Os limites de quantificação apontados por Goulart (2023) foram: 1; 0,1; 0,1 e 0,1 ($\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente para, 2,4 – D, Fipronil, Fipronil sulfide e Fipronil sulfona (Feitosa *et al.*, 2023; Goulart, 2023).

Para análise da fase aquosa do solo, as amostras extraídas foram analisadas e descritas por Goulart (2023), e a metodologia de quantificação utilizada está descrita no artigo “*Matrix effect challenges to quantify 2,4 – D and fipronil in aquatic systems*” de Goulart *et al.* (2020).

Quanto ao armazenamento, até o momento das análises, as amostras de solo e fase aquosa do solo foram mantidas sobre congelamento.

2.3 Área experimental

A área experimental utilizada nesta pesquisa foi definida no Projeto Temático “*Environmental effects of the pasture-sugarcane conversion and pasture intensification*” nº

2015/18790-3 aprovado pela FAPESP, sob a coordenação do Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli.

Localizado no município de Brotas, interior do estado de São Paulo, o campo utilizado no estudo faz parte da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) (coordenadas: 22°18'03.9"S 48°08'39.6"W). Para esta pesquisa, uma área de aproximadamente 37500 m² foi utilizada, tendo sido a mesma subdividida em três unidades menores, correspondentes aos diferentes tratamentos: 1) pasto extensivo (PE) (área de referência para a comunidade edáfica inicial); 2) plantio de cana-de-açúcar (CANA) e 3) pasto intensivo (PI). Cada tratamento possuiu cinco réplicas denominadas como *plots* (*plot* 1,2, 3, 4 e 5), de 2.500 m² cada (50m X 50 m), como pode ser observado na figura 1.

Figura 1 - Detalhe da disposição dos tratamentos na área experimental da APTA (Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio) no município de Brotas, interior do Estado de São Paulo



Fonte: modificado de Google Maps, 2019

A área demonstrada na figura 1 possui uma declividade de cerca de 5%, sendo o pasto extensivo o ponto mais alto, seguido de pasto intensivo e cana, com intuito de evitar contaminação por agrotóxicos ou fertilizantes na área destinada ao pasto extensivo.

Na tabela 1 segue a caracterização do solo classificado como arenoso Neossolo Quartzarênico distrófico (Triques *et al.*, 2021; Feitosa *et al.*, 2023) pertencente à área experimental:

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do solo da área experimental, pertencente à da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) - Brotas-SP

Textura e granulometria	Arenoso (8,2% argila; 2,0% silte; 89,8% areia)
Teor de matéria orgânica (%MO)	2,5
Capacidade máxima de retenção de água (%WHC)	26,83
pH	4,3
Capacidade de troca catiônica (mmolc/dm³ CTC)	37,8

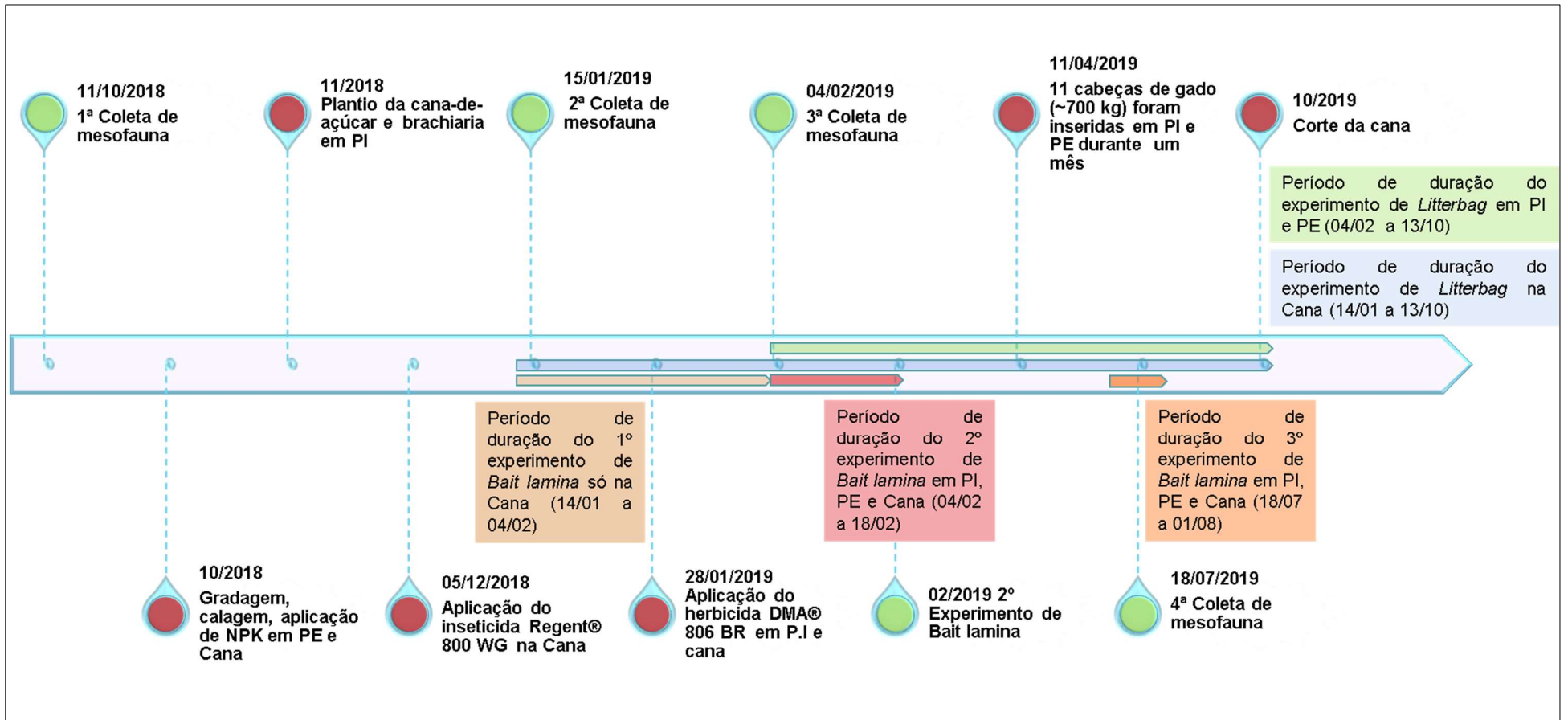
Fonte: Triques *et al.* (2021)

2.4 Desenho experimental

2.4.1 Intervenções no campo experimental

No campo experimental (Figura 1) ocorreram diferentes eventos durante o processo de intensificação de pastagens e conversão de pastagens em cana-de-açúcar. Os eventos relacionados ao manejo e uso do solo estão pontualmente descritos na figura 2.

Figura 2 - Linha do tempo: principais eventos e experimentos ocorridos durante a conversão de pastagens para cultivo da cana-de-açúcar de novembro de 2018 a outubro de 2019.



PE - pastagem extensiva; PI - pastagem intensiva.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Para o plantio de cana-de-açúcar e intensificação de PE em PI, foram aplicadas metodologias frequentemente adotadas no Estado de São Paulo, sob a orientação técnica da pesquisadora Dra. Raffaella Rosetto do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e outros colaboradores do projeto temático.

Inicialmente, todo o campo experimental (PE, PI e Cana) era formado de pasto extensivo, uma área subutilizada, e composta pela *Brachiaria decumbens*, uma espécie de capim muito utilizada na pecuária brasileira. Posteriormente (Figura 2 e Figura 3), essa espécie foi retirada das áreas destinadas a PI e Cana por meio do processo de gradagem, e em seguida, ambas as áreas foram fertilizadas com nitrogênio (N) na forma de nitrato de amônio (NH_4NO_3 - 60kg ha^{-1}), fosfato na forma de superfosfato simples (P_2O_5 - 40kg ha^{-1}) e potássio na forma de cloreto de potássio (KCl - 40kg ha^{-1}).

Figura 3 – Processo de gradagem na área experimental da APTA (Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio) no município de Brotas, interior do Estado de São Paulo



A – Gradeamento + preparo para o plantio de cana

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Após gradagem e fertilização, plantou-se “cana de ano-e-meio” (cana de 18 meses) de variedade IAC SP 97-4039 na área destinada para cana-de-açúcar, e em PI foi plantada a espécie

Brachiaria brizantha cv marandu. A substituição pela *Brachiaria brizantha* deveu-se à alta produtividade da espécie, resistência climática e capacidade adaptativa (EMBRAPA, 2023).

Em sequência, na área destinada ao plantio de cana, foram aplicados o inseticida Regent® 800 WG (i.a. fipronil) e o herbicida DMA® 806 BR (i.a. 2,4 -D). O herbicida foi aplicado também na área destinada ao PI.

Para aplicação dos agrotóxicos na cultura de cana, a dose recomendada (DR) do produto formulado Regent® 800 WG (i.a. fipronil) foi aplicada na concentração de 1,3 mg kg⁻¹ solo seco, equivalente a 1,04 mg fipronil kg⁻¹ solo seco (densidade do solo= 1g/cm³), para o controle do besouro *Migdolus fryamus*, com aplicação do produto no sulco de plantio de cana-de-açúcar, conforme a bula.

A dose utilizada e recomendada do herbicida DMA 806® BR para a eliminação de plantas daninhas na etapa de pré-emergência da cana-de-açúcar foi de 7 µL de produto comercial kg⁻¹ de solo seco, equivalente a 4,7 mg de 2,4-D kg⁻¹ de solo seco (densidade do solo= 1g/cm³ e profundidade de 5cm), conforme a bula do composto.

Além dos eventos anteriormente citados, no início de abril, nas áreas de PE. e P.I, foram inseridas 11 cabeças de gado por tratamento (~ 700 kg cada boi) durante o período de um mês. Em outubro de 2019, após o ciclo completo da cana, o corte foi realizado por meio de maquinário.

2.4.2 Reconhecimento da fauna do solo - Coleta de mesofauna

Para o desenvolvimento da pesquisa na área experimental, foram utilizados os equipamentos e vidrarias do Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA) do Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA) vinculado à Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP).

Para a realização das coletas de mesofauna, foram retiradas amostras intactas de solo com profundidade e diâmetro de 5 x 5 cm (ISO_23611-2, 2005), com auxílio de anéis de PVC, que foram posteriormente levados para um equipamento de extração (aparato adaptado de *Berlese-Tulgreen* – Figura 4).

Figura 4 - Sistema de extração de organismos edáficos de mesofauna: aparato adaptado de *Tulgreen*



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A metodologia fundamentou-se no aquecimento do solo com auxílio de lâmpada incandescente, induzindo a migração da fauna para a solução de ácido benzoico a 3% presente no recipiente inferior, onde foram recolhidos os organismos. Posteriormente, os animais foram transferidos para placas de Petri com etanol e glicerol para preservação e identificação de grandes grupos (*e.g.* colêmbolos, coleópteras, ácaros, formigas) (Oliveira; Bianchi; Espíndola, 2018).

Foram realizadas quatro coletas de mesofauna no campo experimental de Brotas, nos diferentes tratamentos (pasto extensivo - área de referência, pasto intensivo, cana-de-açúcar). Em média, foram 5 pontos de coleta por *plot*, com 31,5 m de distância entre eles, a 12 metros da borda. A primeira coleta ocorreu em outubro de 2018, a segunda em janeiro de 2019, a terceira em fevereiro e a quarta em julho do mesmo ano. As três primeiras coletas foram feitas em período chuvoso e a última em período de estiagem.

Em paralelo, para monitorar a temperatura no interior do solo, a partir do mês de fevereiro de 2019, foram adicionados 9 *dataloggers* em campo, a cerca de 5cm de profundidade

para monitorar a temperatura. Porém, devido aos interferentes ambientais e fatores de intervenção física do solo, somente 6 medidores foram encontrados ao final do experimento.

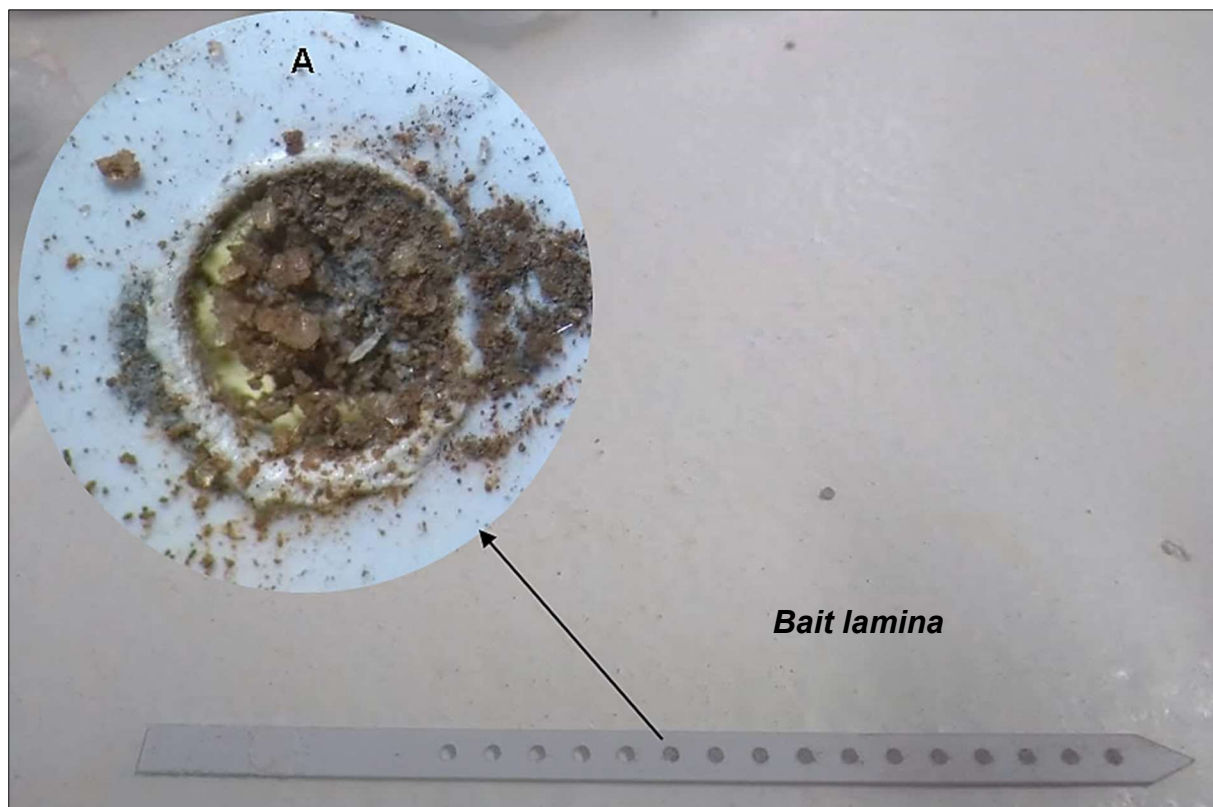
2.4.3 Efeitos sobre as funções do solo: *Bait lamina*, *Litterbags* e solução do solo

As metodologias abordadas nessa tarefa foram aplicadas para apontar a resultância das práticas agropecuárias executadas na área experimental sobre as funções e serviços relacionados ao ecossistema terrestre, abrangendo funções alimentares, funções de degradação da matéria orgânica, processos de filtragem, armazenamento e distribuição de água

Bait lamina

As *bait laminas* são varetas feitas de plástico PVC (Figura 5) e têm um tamanho de 120 mm x 6 mm x 1 mm. Elas possuem 16 furos de 1,5 mm de diâmetro e equidistantes em 5 mm. O substrato adicionado às perfurações foi composto de pó de celulose (70%), farelo de trigo finamente moído (25%) e carvão ativado (5%) (ISO 18311, 2016). Através do consumo do alimento adicionado aos orifícios da “vareta” (*bait lamina*), após inserção no solo por um determinado período, é possível caracterizar a atividade alimentar da região epiedáfica e hemiedáfica do solo, sendo que em locais perturbados, em que a fauna tenha sido negativamente afetada, espera-se um menor consumo.

Figura 5 - Bait lamina – orifício com substrato para avaliar a atividade alimentar da mesofauna edáfica



A – Orifício com substrato, atividade alimentar e com presença de mesofauna (colêmbolo)

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Para determinação da atividade funcional, foi utilizada uma escala de cinco pontos (0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1), sendo 1 = 100% de consumo do alimento disponível na bait lamina. Logo, de 0 – 25% = não consumido; 25-50% = parcialmente consumido; e de 75-100% = totalmente consumido.

Foram realizados três experimentos com *bait laminas*, o primeiro em janeiro de 2019, entre a segunda e terceira coleta, com duração de 22 dias, somente na área de cana. O segundo em fevereiro, entre a terceira e quarta coleta, com duração de 14 dias, e após a aplicação de 2,4-D. O terceiro em julho, também com 14 dias de duração, após a inserção do gado. Por evento foram inseridas, em média, 10 *baits* por ponto, sendo 3 pontos por plot, 150 por tratamento.

Litterbags

Nessa etapa foi avaliada a atividade de decomposição da matéria orgânica realizada pelos organismos da mesofauna. Para estimar as consequências sobre essa função foram

inseridas no solo bolsas de nylon (*litterbags*) contendo capim orgânico (origem: Fazenda Toca Orgânica – São Carlos) com o diâmetro de malha de 1,5 mm (Figura 6).

Figura 6 – *Litterbag* de mesofauna (1,5 mm) preenchido de material vegetal orgânico



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

O material orgânico foi seco em estufa até atingir peso constante. Em campo, em todos os tratamentos, os *litterbags* de mesofauna foram enterrados na vertical na camada de 0 – 10 cm de profundidade do solo.

O experimento de *litterbag* foi iniciado na cana em janeiro de 2019 e teve duração total de 272 dias, e nos tratamentos restantes o experimento teve duração de 251 dias. Uma parte dos *litterbags* foi retirada em abril, após 3 meses a partir da colocação no solo, contando a partir de janeiro, entre a terceira e a quarta coleta, e após a adição dos agrotóxicos no campo. A finalização do experimento em todos os tratamentos ocorreu no mês de outubro do mesmo ano, após a quarta coleta de mesofauna. Foram 40 *bags* por tratamento.

A taxa de consumo diária foi calculada com base no percentual de consumo total dividido pelo número de dias corridos do experimento.

2.4.4 Coleta de solução do solo

Com o intuito de avaliar a permeabilidade do solo e sua capacidade em atuar como “filtro” capaz de assimilar e até remediar os agrotóxicos aplicados em campo, foi empregada a metodologia de extração de solução de solo na área da Cana, tratamento onde ocorreu a adição de fipronil.

As soluções do solo foram retiradas utilizando-se extratores de 1,25 cm (1/2”) de diâmetro e 30 cm de comprimento (Figura 7). Esses equipamentos permitiram extrair amostras de água do solo na profundidade de 27 a 33 cm, possibilitando identificar e quantificar as substâncias químicas presentes nessa matriz aquosa.

Figura 7 - Extrator de solução de solo



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A análise de extração de solução do solo ocorreu somente na área de plantio de cana, sendo 4 extratores/*plot*. Foram realizadas três análises de solução de solo, duas no mês de fevereiro de 2019, após adição dos agrotóxicos e eventos de chuva, e uma em maio do mesmo ano.

Também foram avaliados o teor de umidade do solo e densidade do solo. Para umidade seguiu-se o método termogravimétrico (Donagema, 2011) que se baseia na subtração entre o solo úmido e solo seco (após 24 horas de estufa a 105 – 110°C) e posteriormente o resultado é

dividido pela massa seca de solo. Para determinação de densidade aplicou-se o método do anel volumétrico descrito no “Manual de Métodos de Análise de Solo” da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) (Donagema, 2011). Ocorreram três determinações da umidade e densidade do solo nos três tratamentos: em 10/2018, 15/01/2019 e 18/07/2019.

2.5 Análises estatísticas

Os efeitos da intensificação de pastagem e do plantio de cana sobre a composição da comunidade edáfica foram avaliados com base na variação dos dados da abundância e diversidade de grupos de mesofauna ao longo do tempo, entre todos os três tratamentos (PE. - Pasto Extensivo, P.I – Pasto Intensivo e Cana) através de ANOVA unidirecional seguida de teste de comparação múltipla *Duncan's Method* ($p < 0,05$). Todas as análises de variância foram realizadas no programa *SigmaPlot* 11.0 (Systat Software, 2008).

Todos os cálculos de índices ecológicos (*taxa_s (riqueza)*, *individuals*, *simpson_1-d*, *shannon_h* e *equitability_j*) foram executados no software Past 4 (Hammer *et al.*, 2001).

Para a avaliação das diferenças estatísticas entre os grupos foi utilizado o *Teste-t* com o auxílio do programa estatístico *SigmaPlot*.

Para análise das diferenças estatísticas das *bait laminas* e *litterbags*, foi realizado o *Teste-t* via *SigmaPlot*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de nortear a discussão sobre os resultados deste capítulo, inicialmente serão apresentados dados quantitativos das concentrações reais dos agrotóxicos aplicados no solo seguidos de dados de caracterização biológica da comunidade edáfica e funções.

3.1 Determinação de agrotóxicos na fase sólida e líquida do solo

Goulart (2023) quantificou o fipronil e seus metabólitos (fipronil sulfide e fipronil sulfona), e também o herbicida 2,4 – D presentes no solo da área experimental. Os dados de monitoramento químico do solo seguem na Tabela 2:

Tabela 2 – Médias amostrais de monitoramento das concentrações (mg/Kg) de fipronil, fipronil sulfide, fipronil sulfona e 2,4 -D em solo natural, dos três tratamentos (Cana, PE e PI) da área experimental de Brotas - SP

Data amostral	Compostos analisados	PE	PI	Cana
11_2018	2,4-D	>LQ	>LQ	>LQ
	Fipronil	0,00002	>LQ	0,00004
	Fipronil Sulfide	>LQ	>LQ	>LQ
	Fipronil Sulfona	0,00006	0,00041	0,00014
11/12/2018 (6 dias após aplicação de fipronil na Cana)	2,4-D	>LQ	>LQ	>LQ
	Fipronil	0,00004	0,00002	0,65194
	Fipronil Sulfide	>LQ	>LQ	0,00644
	Fipronil Sulfona	0,00006	0,00011	0,02091
04/02/2019 (4 dias após aplicação de 2,4 -D em PI e Cana)	2,4-D	>LQ	0,00729	0,08183
	Fipronil	>LQ	0,00002	0,11424
	Fipronil Sulfide	>LQ	>LQ	0,00608
	Fipronil Sulfona	0,00014	0,00010	0,02349
03_2019	2,4-D	>LQ	0,00024	0,00353
	Fipronil	0,00005	>LQ	0,07708
	Fipronil Sulfide	>LQ	>LQ	0,00847
	Fipronil Sulfona	0,00013	0,00011	0,03548
07_2019 (Após inserção do gado em PI e PE)	2,4-D	<LQ	<LQ	0,00341
	Fipronil	3,02301E-05	0,00039	0,04886
	Fipronil Sulfide	<LQ	0,00010	0,01391
	Fipronil Sulfona	9,42167E-05	0,00033	0,06440

LQ= Limite de quantificação. 2,4-D (LQ : 0,015 ng/g); Fipronil (LQ: 0,075 ng/g); Fipronil Sulfide (LQ: 0,075 ng/g); Fipronil Sulfona (LQ: 0,015 ng/g).

Fonte: Goulart (2023)

As quantificações relatadas são resultado das médias de 5 amostras de solo/tratamento, uma por *plot*. No caso do fipronil aplicado na cana, logo após a aplicação do inseticida, detalha-se que as seguintes concentrações foram, respectivamente para Cana *plot* 1;2;3;4 e 5: 0,14; 1,15; 0,32; 1,08 e 0,57 mg/Kg de fipronil. Tendo-se como parâmetro a DR 1,04 mg de fipronil/Kg de solo seco, as concentrações determinadas em campo demonstram valores acima do esperado.

A seguir também serão apresentados os resultados referentes às três análises de fipronil obtidas através da extração da solução do solo, após a adição do inseticida na área de cana (Tabela 3).

Tabela 3 - Limites de quantificação (LQ) ($\mu\text{g L}^{-1}$) e as concentrações do fipronil e seus metabólitos, e 2,4-D determinados nas amostras de solo coletadas da área de cana

Data de análise	Amostra	2,4 - D	Fipronil	Fipronil sulfide	Fipronil sulfona
04/02/2019 (após fipronil e 2,4 -D)	Cana plot 1 (réplica A)	<LQ	1,1	<LQ	<LQ
	Cana plot 1 (réplica D)	2,8	7,3	<LQ	<LQ
	Cana plot 1 (réplica C)	<LQ	0,3	<LQ	<LQ
	Cana plot 4 (réplica A)	3,8	0,8	<LQ	<LQ
18/02/2019	Cana plot 1 (réplica A)	<LQ	4,4	<LQ	0,2
	Cana plot 1 (réplica C)	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Cana plot 3 (réplica B)	<LQ	3	<LQ	0,3
	Cana plot 5 (réplica C)	<LQ	0,2	<LQ	<LQ
08/05/2019	Cana plot 1 (réplica A)	<LQ	1,4	0,4	1,3
	Cana plot 1 (réplica C)	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
	Cana plot 1 (réplica B)	<LQ	<LQ	<LQ	0,1
	Cana plot 2 (réplica C)	<LQ	0,3	<LQ	0,2
	Cana plot 3 (réplica B)	<LQ	0,9	<LQ	0,4
	Cana plot 3 (réplica C)	1,1	0,3	<LQ	0,3
	Cana plot 3 (réplica D)	1,5	6,0	0,3	0,5
	Cana plot 4 (réplica A)	<LQ	2,7	<LQ	0,2
	Cana plot 4 (réplica B)	<LQ	0,4	<LQ	0,2
	Cana plot 4 (réplica C)	<LQ	0,8	<LQ	0,2
	Cana plot 5 (réplica A)	<LQ	0,3	<LQ	0,2
	Cana plot 5 (réplica C)	<LQ	1,2	<LQ	0,6

*LQ= 1; 0,1; 0,1 e 0,1 ($\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente, 2,4 - D, Fipronil Fipronil sulfide e Fipronil sulfona.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A partir dos dados anteriores, observou-se que o fipronil contaminou a fase líquida do solo, ou seja, a solução do solo, podendo assim impactar diretamente as zonas de macro e microporos, incluindo a água intersticial, na forma livre e adsorvida presentes no meio (Souza; Melo; Almeida; Melo, 2013; Recurso solo: propriedades e usos, 2015). Logo, os organismos e plantas que entram em contato direto com a solução do solo podem sofrer efeitos toxicológicos como apontaram Triques *et al.* (2021; 2022) em seus estudos sobre os efeitos do fipronil e 2,4 - D em colêmbolos, enquitreídeos e plantas terrestres.

Outro relevante fato sobre os dados anteriormente indicados, além do óbvio dano na qualidade da água, é o transporte do inseticida, partindo da fase líquida do solo e podendo

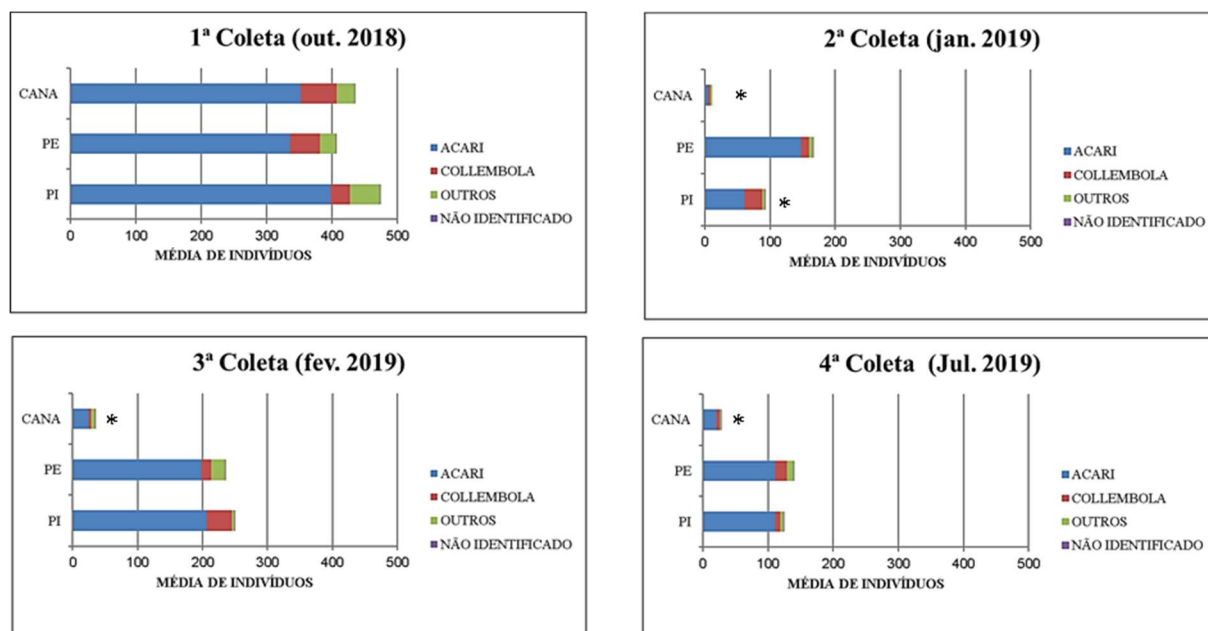
migrar para corpos hídricos (subterrâneos e superficiais) (Foster; Custodio, 2019). A Resolução CONAMA 420 não apresenta dados de referência para o fipronil, mas de acordo com a literatura, as concentrações relatadas são capazes de causar efeitos crônicos e agudos em organismos aquáticos ambientalmente relevantes como *Chironomus sancticaroli* ($CE_{50} = 3,70 \mu\text{g L}^{-1}$ fipronil) (Pinto *et al.*, 2023), *Chironomus riparius* ($CE_{50} = 0,084 \mu\text{g L}^{-1}$ fipronil), *Danio rerio* (Monteiro *et al.*, 2019) e *C. silvestrii* ($CE_{50} 48\text{h} = 3,9 \mu\text{g/L}$ fipronil) (Silva *et al.*, 2021).

Sendo assim, os resultados de quantificação apresentados exprimem as sequelas químicas e conseqüentemente de contaminação que as práticas de manejo convencional aplicadas na área de cana e pastagem podem ter sobre o ambiente aquático e terrestre. A seguir, serão exibidos os resultados referentes aos impactos do manejo e uso do solo sobre a comunidade edáfica.

3.2 Efeitos do uso e manejo do solo sobre a estrutura da comunidade edáfica

Na Figura 8 são apresentados os resultados de reconhecimento e identificação da fauna edáfica no campo experimental de Brotas referentes às quatro coletas realizadas:

Figura 8 - representação gráfica da abundância absoluta dos principais grupos da comunidade edáfica — média das réplicas dos grandes grupos taxonômicos por tratamento — presente em PE, PI e CA, referente as quatro coletas amostrais



O asterisco (*) representa diferença significativa (ANOVA, *Duncan's Method*, $p < 0,05$) em comparação a área de referência PE.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A metodologia de amostragem apresentada acima permitiu caracterizar a biodiversidade local da área experimental e analisar mudanças na composição da comunidade nas diferentes situações de uso do solo (e.g. abundância, diversidade).

De acordo com os gráficos acima, na situação de caracterização inicial da comunidade, não se constatou diferença entre os tratamentos (PI e Cana) na primeira coleta em relação a área de referência (PE). Esse resultado era esperado visto que era inicialmente a mesma área de pastagem extensiva que foi dividida. Ainda nessa coleta, observou-se considerável abundância do grupo acari nos três tratamentos, predominância observada em todos os tratamentos e em todas as coletas. Os ácaros pertencem a sub-classe acari, são organismos de mesofauna, e podem ser encontrados em abundância em áreas de pastagem, podendo representar 84% da comunidade (Teixeira & Schubart, 1988; Morais *et al.*, 2010).

A fim de auxiliar nas argumentações e compreensão dos resultados, segue um esquema temporal da relação entre os eventos do campo e as coletas (Figura 9):

Figura 9 – Esquema temporal de coletas e eventos respectivos, no campo experimental de Brotas -SP

Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
<ul style="list-style-type: none"> • Coleta de reconhecimento. Não ocorreu interferência de preparo do solo em nenhum dos tratamentos. 	<ul style="list-style-type: none"> • PE - nenhuma interferência. • PI e Cana - aragem, gradagem, calagem e adição de NPK. • Cana - plantio de cana e aplicação de fipronil. • PI - plantio de brachiaria. 	<ul style="list-style-type: none"> • PE - nenhuma interferência. • Cana e PI - aplicação de 2,4-D. 	<ul style="list-style-type: none"> • PI e PE - adição de gado.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Com base no esquema anterior, na segunda coleta, em decorrência das repercussões de preparo e uso do solo — processo de aragem, gradagem, calagem, aplicação de NPK e o plantio de uma nova espécie (*Brachiaria Brachiaria brizantha* em PI e cana) — PI e Cana apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) na abundância da comunidade em relação à coleta anterior (-80,5% e -97,51%, respectivamente). Essas implicações sobre os índices ecológicos das comunidades podem ser visualizadas na tabela 4.

Tabela 4 - Índices ecológicos da comunidade edáfica (grandes grupos) referente às quatro coletas

	Coleta 1			Coleta 2			Coleta 3			Coleta 4		
	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA
Taxa_S (Riqueza)	20,0	19,0	27,0	16,0	13,0	11,0	19,0	12,0	13,0	15,0	15,0	14,0
<i>Individuals</i>	399,0	467,0	425,0	160,0	88,0	9,0	229,0	247,0	31,0	134,0	119,0	25,0
<i>Simpson_1-D</i>	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5*	0,7*	0,3	0,3	0,5	0,4	0,2*	0,5
<i>Shannon_H</i>	0,7	0,7	0,8	0,6	0,9*	1,9*	0,7	0,6	1,2	0,9	0,6	1,2
<i>Equitability_J</i>	0,2	0,3	0,2	0,2	0,4	0,8	0,2	0,2	0,5	0,3	0,2	0,4

*valores significativamente diferentes ($p < 0,05$, *t-test*) em comparação a área de referência (PE) da mesma coleta.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

De acordo com a tabela 3, a segunda coleta evidenciou as repercussões das atividades realizadas em campo na diversidade, na abundância e na riqueza das comunidades de PI e Cana, com diminuição da riqueza de 31,57% e 59,2%, respectivamente, em relação à primeira coleta.

Os dados apresentados demonstram que as sequelas das atividades, da primeira para a segunda coleta, foram mais acentuadas na Cana ($p < 0,05$). Alguns fatores podem explicar a diminuição abrupta na comunidade, como o tratamento com fipronil, pois além das metodologias de manejo aplicadas, a mesma sofreu um estresse químico ocasionado pelo inseticida, gerando uma combinação de estresse, físico e químico (Vanolli, Pereira, Franco e Cherubin, 2023). Essa combinação de estressores e o potencial do agrotóxico também foram observados por Triques *et al.*, (2022) em seu estudo sobre a ecotoxicidade do fipronil sobre organismos terrestre não alvo em função das propriedades do solo e das condições de umidade.

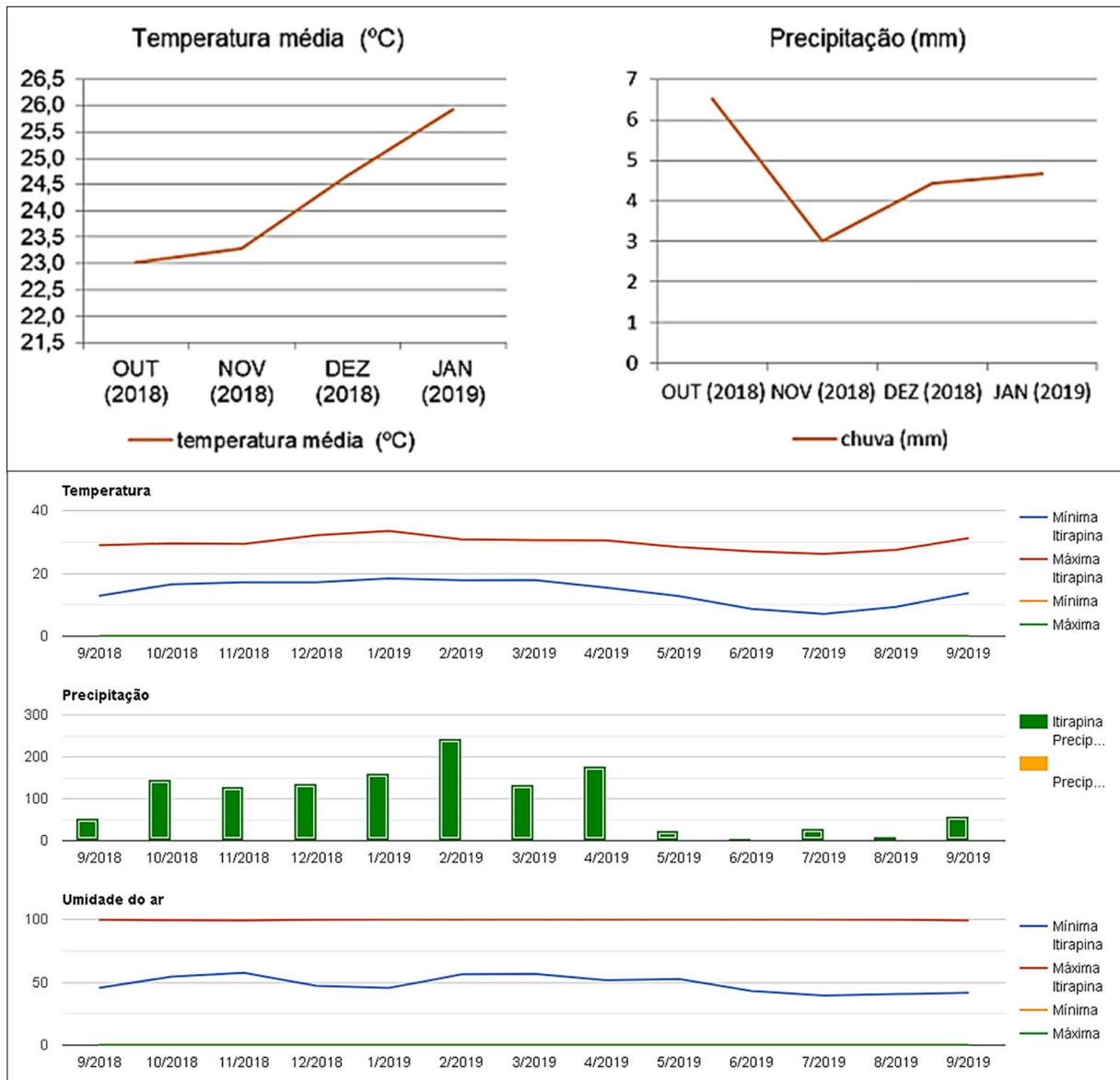
Na literatura, são explícitos os possíveis danos que o fipronil pode causar sobre a biodiversidade terrestre, dado que seu modo de ação ocorre no sistema nervoso por meio da ligação a receptores de ácido gama aminobutírico (GABA), bloqueando os canais de cloreto e reduzindo a inibição neural, gerando superexcitação, paralisia ou morte (Sluijs *et al.*, 2014; Bhatt *et al.*, 2023).

Diante do potencial toxicológico do fenilpirazol, é válido salientar que as concentrações obtidas na quantificação do solo e na solução do solo da área de cana exibiram valores capazes de afetar a sobrevivência e reprodução de colêmbolos, cuja abundância foi reduzida em 94,5%. Triques *et al.* (2021; 2022) demonstraram em suas pesquisas ecotoxicológicas relacionadas aos efeitos dos agrotóxicos 2,4 D e fipronil aplicados na cana, que o inseticida causou efeitos crônicos e de letalidade em *Folsomia candida* em apenas $\frac{1}{4}$ da dose recomendada do produto para a cultura da cana-de açúcar (0,26 mg de fipronil kg^{-1} de solo seco). Alves (2014) apontou uma redução de 20% na reprodução *Folsomia candida* na concentração de 0,12 mg de fipronil kg^{-1} de solo artificial seco, sob condições tropicais ($23 \pm 2^\circ\text{C}$). Oliveira (2017), também utilizando Regent® 800 WG, avaliou a toxicidade do fipronil para três gerações de *F. Candida*, sob condições tropicais, em solo natural, e apontou efeitos na reprodução em 0,27 mg de fipronil kg^{-1} de solo seco.

Todas as práticas do preparo convencional empregadas nas áreas contribuíram com sua desestruturação e reduziram significativamente a cobertura do solo. Essas ações antrópicas possivelmente impactaram na disponibilidade de alimento e alteraram o microclima do solo, também contribuindo para redução da biodiversidade e estabilidade da comunidade edáfica (Baretta *et al.*, 2003; Baretta *et al.*, 2006; Franco *et al.*, 2016; Demetrio *et al.*, 2022; Peron *et al.*, 2023).

Ainda sobre a segunda coleta, também foi observada uma diminuição de indivíduos de 59% (redução de 20% de riqueza) em PE. Essa diminuição pode ser atribuída à fatores climáticos de baixa precipitação e altas médias de temperatura no período (Figura 10).

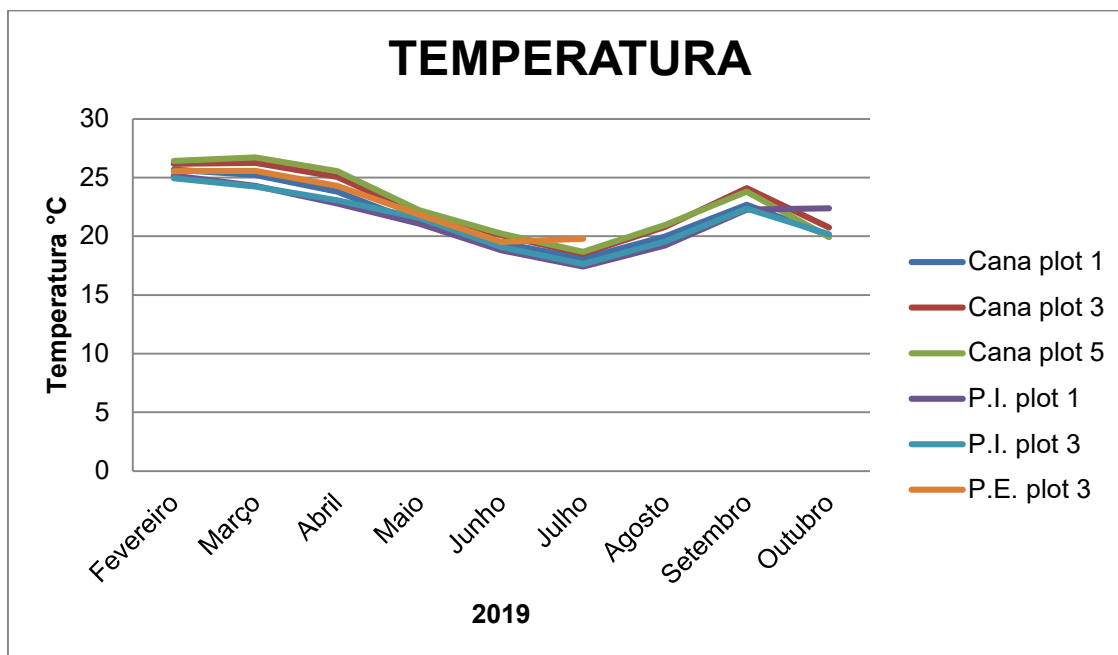
Figura 10 - Dados de precipitação e temperatura referentes ao período de setembro de 2018 a setembro de 2019- Região de Brotas



Fonte: Estação meteorológica CRHEA-USP – CIIAGRO (2022)

As temperaturas do solo registradas pelos *dataloggers* em campo, são apresentadas na Figura 11.

Figura 11 - Dados de temperatura do solo obtidos a partir de *dataloggers* referentes ao período de fevereiro de 2019 a outubro de 2019- Região de Brotas

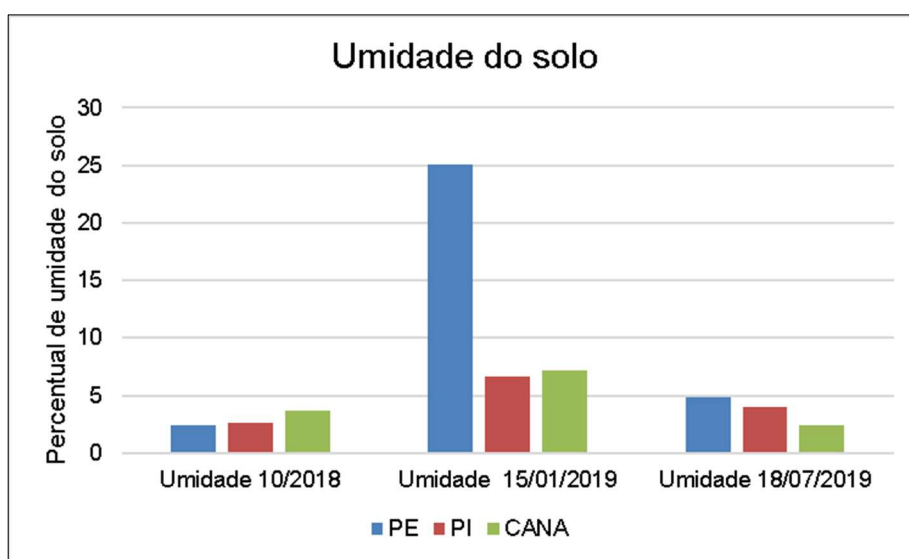


(*P.E. plot 3: a bateria do *datalogger* acabou em julho)

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Para complementar a discussão, seguem os resultados de umidade do solo determinados em 10/2018, 15/01/2019 e 18/07/2019 (Figura 12).

Figura 12 – Experimentos de monitoramento do teor de umidade do solo da área experimental de Brotas – SP, nos três tratamentos (PE, PI e Cana)



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

De acordo com os dados climáticos e de umidade aqui apresentados, pôde-se observar que o período de outubro (2018) a janeiro (2019) foi caracterizado por baixas precipitações, fato que influencia diretamente na disponibilidade de água no solo, onde condições mais áridas podem impactar na abundância e riqueza edáfica, afetando a biodiversidade da fauna e flora terrestres (Zagatto *et al.*, 2017; Aupic-Samain *et al.*, 2021; Wang; Slotsbo; Holmstrup, 2022). Ressalta-se que dentre os três tratamentos, na segunda coleta, o PE foi que sofreu menor redução da diversidade e abundância devido a sua cobertura vegetal que foi mantida, conservando o teor de umidade do solo (Figura 12 – em 15/01).

Na terceira coleta, em relação à 2ª coleta, todos os tratamentos, com base na média das réplicas dos grandes grupos taxonômicos por tratamento, apresentaram recuperação em abundância de 41,5%, 170% e 219%, respectivamente, PE, PI e Cana ($p < 0,05$). Nessa coleta, período de maior pico de precipitação, ocorreu adição do herbicida 2, 4D na área de P.I e Cana.

Mesmo com a aplicação do herbicida em PI e Cana, a partir dos resultados obtidos, não foram observados efeitos significativos de redução na biodiversidade e outros índices ecológicos em relação à área de referência do mesmo período. Em teoria, o 2,4-D não possui modo de ação desenvolvido para artrópodes, porém Triques *et al.*, (2021) determinaram efeitos toxicológicos do herbicida para invertebrados terrestres em dose ecologicamente relevante para solo artificial, com efeitos crônicos de reprodução em *Folsomia candida* em 4,7 mg 2,4-D/kg de solo, dose recomendada herbicida. Os dados aqui obtidos corroboram com o estudo de Triques *et al.*, (2021) que identificaram em solo natural arenoso, mesmo solo utilizado nesta pesquisa e proveniente de mesma origem, efeitos na reprodução da espécie de colêmbolo (*F. candida*) na concentração de 37,6 mg 2,4-D/kg de solo. Devido ao maior teor de matéria orgânica e o potencial hidrofóbico e de persistência do fipronil, foi observado uma maior toxicidade do inseticida em solo artificial (Triques *et al.*, 2021).

Na quarta coleta, em relação a amostragem anterior, houve diminuição no número total de indivíduos em todos os tratamentos: 41,5% PE., 51,8% PI e 19,35 Cana. Cana foi o tratamento que mais perdeu em riqueza de espécie e abundância (Anova $p < 0,05$).

Coletada no período de estiagem, a última amostragem de mesofauna foi caracterizada por baixíssima precipitação, fator que por si só já é considerado um acentuado quadro de estresse (Rai; Klein; Walter, 2018; Wang *et al.*, 2019; FAO, 2020).

Ainda nesse período de quarta coleta, outra implicação na qualidade do solo foi a inserção de 11 cabeças de gado em cada tratamento de Pasto (PE. e PI). O pastoreio afeta a qualidade do solo em seus aspectos bióticos e abióticos, produzindo assim, sequelas de compactação do solo (FAO, 2020).

Quanto a compactação do solo, foi feito o monitoramento da densidade do solo durante todo o experimento, menos no momento em que ocorreu a gradagem, e o solos de todos os tratamentos apresentaram compactação superior $2,0 \text{ g/cm}^3$ da primeira até a última coleta, indicando alta taxa de compactação em PI, PE e Cana, podendo inferir na diminuição de poros, na limitação do sistema radicular de plantas e redução da micro, meso e macrofauna (Eldridge *et al.*, 2016; Proesmans *et al.*, 2022).

Proesmans *et al.*, (2022) demonstraram em seu estudo sobre a influência do pastoreio de gado sobre o estado ecológico dos solos florestais, que a abundância e a riqueza de colêmbolos e ácaros haviam sido fortemente reduzidas na presença de gado. Sendo assim, nesta pesquisa, muito possivelmente o gado contribuiu, além da baixa precipitação, para a redução da abundância e riqueza de espécies em PE e PI, visto que os bovinos pisoteiam o solo, compactando-o, e diminuindo a porosidade do mesmo, fato que também influencia no ciclo hidrológico e na qualidade do solo em sua fauna e flora (Alho *et al.*, 2019).

Os dados aqui apresentados corroboram com o estudo de Franco *et al.* (2016) que apontou uma perda significativa na biodiversidade do solo e uma queda de 89% na abundância da macrofauna quando há expansão da cana-de-açúcar a partir de pastagens.

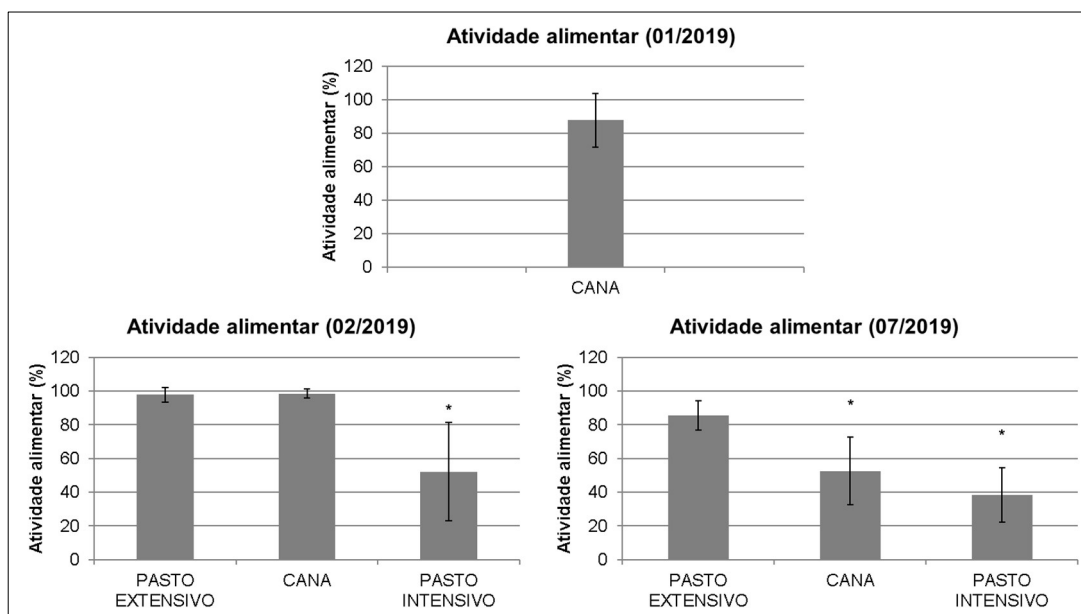
A seguir, serão apresentados os resultados referentes às funções do solo, realizando um paralelo com os resultados de comunidade apontados até o momento.

3.3 Efeitos sobre as funções da fauna edáfica

Neste tópico serão exibidos os resultados de campo obtidos a partir dos experimentos de *bait lamina* e *litterbags*.

Com base nos testes estatísticos realizados (*Teste t*), foi observada diferença significativa no consumo da isca ($p < 0,05$) para Cana, entre o primeiro experimento de *bait lamina* (janeiro) e o segundo experimento (fevereiro) (Figura 13).

Figura 13 – Determinação da média da atividade alimentar (orifícios parcialmente + totalmente consumidos) da mesofauna do solo/ tratamento, utilizando *Bait lamina*



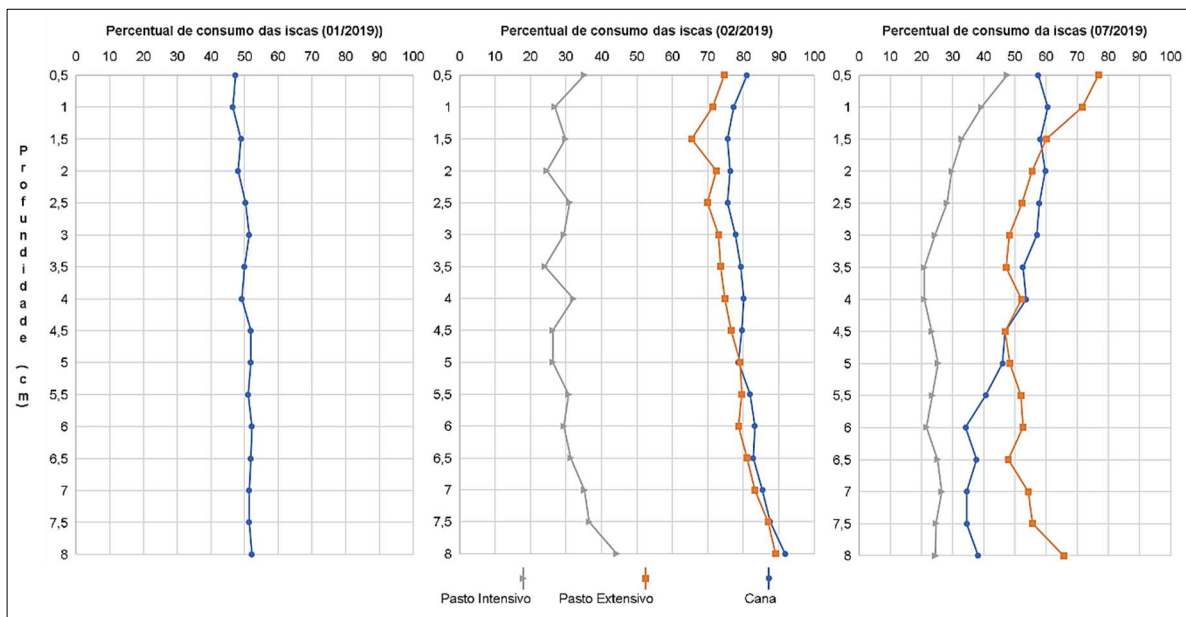
*valores significativamente diferentes (*T-test* $p < 0,05$) em comparação a área de referência (PE) da mesma coleta.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

No segundo experimento também houve diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) entre P.I e área de referência (PE), mas não houve diferença significativa para Cana. Já no terceiro experimento, ambos tratamentos P.I e Cana apresentaram diferenças significativas em relação a área de referência PE.

Outro resultado referente as *bait laminas* foi a análise vertical do consumo das iscas, sendo que o primeiro orifício corresponde à profundidade de 0,5 cm do solo, e o último a 8,0 cm de profundidade. Sendo assim, segue a representação gráfica da atividade alimentar da mesofauna (Figura 14):

Figura 14 – *Bait lamina*: determinação da média de porcentagem de consumo em relação à profundidade do solo, por tratamento



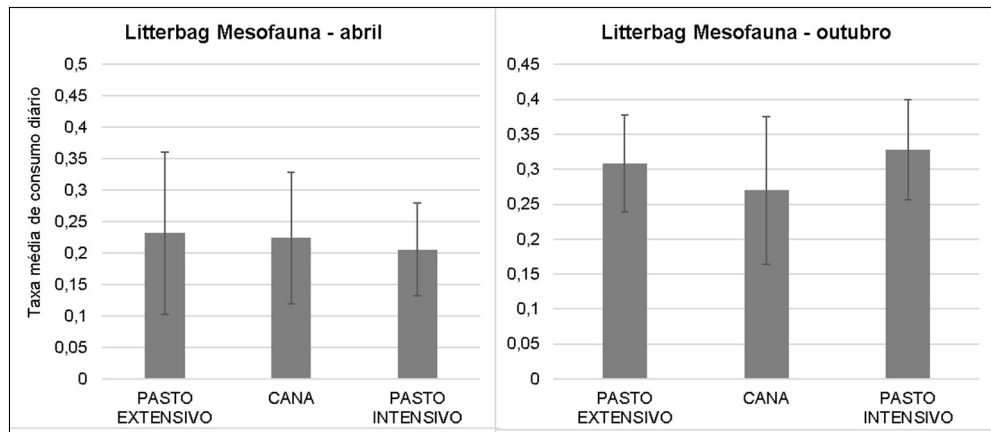
Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Sobre o primeiro experimento de *bait* (janeiro), só cana, o primeiro gráfico (Figura 13) indica que houve atividade alimentar (parcial + total) em 87,7% das iscas inseridas no solo, e a partir da figura 14, podemos compreender que essa atividade alimentar foi predominantemente parcial nos orifícios e de um modo geral, bem distribuída verticalmente pela atividade da meso e microfauna.

Analisando o experimento 2 e 3 de *bait* (figura 14), verificamos que a atividade alimentar em percentual, foi crescente nas áreas de P.I e Cana, em que o percentual de consumo foi deslocado para acima de 65%, desde a zona epígea até a zona euedáfica. Esses dados que corroboram com a atividade de decomposição a seguir.

Referente à atividade de decomposição da matéria orgânica, serão apresentados os resultados do experimento de *litterbags* retirados em abril (duração de 82 dias) e outubro (duração de 272 dias) (Figura 15):

Figura 15 - Experimento de *Litterbags* realizados em campo e retirados em abril (duração de 82 dias) e outubro (duração de 272 dias):



*valores significativamente diferentes (*T-test* $p < 0,05$) em comparação à área de referência (PE) da mesma coleta.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Foram 40 bags/tratamento, porém a existência de animais selvagens (porco do mato, lebre...) e a pastagem do gado resultaram em perdas relevantes desses litterbags: 40% (PE), 17,5% (PI), e 35% (Cana).

Em ambos experimentos, de abril e outubro, de mesofauna, não foi observada diferença estatística em relação a área de referência PE ($P > 0,05$; *Teste t*). Também é relevante destacar a baixa sensibilidade deste método para proteger as comunidades de fauna edáfica.

Sobre os dados de *bait laminas* e *litterbags*, infelizmente, não foi possível realizar os ensaios antes das alterações iniciais de manejo do solo, principalmente na área de cana onde foi adicionado fipronil, pois certamente, esses experimentos pré-manejo e análises sobre a atividade microbiana do solo nos possibilitariam compreender ainda mais sobre o os efeitos no ecossistema terrestre.

Mas dando sequência a discussão, correlacionando os dados de *bait*s, *litterbags* e a caracterização da comunidade (Tabela 4), é possível que os ácaros e microrganismos tenham sido protagonistas na atividade alimentar e também na decomposição. Os ácaros foram encontrados em maior abundância em todos os tratamentos. Os ácaros e colêmbolos, grupos identificados nas 4 coletas, atuam no solo nas funções de decompositores e fitófagos, podendo contribuir com a ciclagem de nutrientes para a produção primária, modificando e regulando a comunidades biológicas do solo (Brown *et al.*, 2015; FAO,2020).

Guima, Piubeli, Bonfá e Pereira (2022) em sua publicação sobre o efeito do fipronil na comunidade bacteriana do solo apontaram que alguns gêneros bacterianos se beneficiam da

exposição do solo ao fipronil, como o gênero *Thalassobacillus* e *Rhodoplanes*. Contrariamente, o gênero *Streptomyces* foi afetado negativamente.

Singh *et al.* (2021) em seu artigo de revisão sobre o destino ambiental e a degradação do fipronil e seus metabólitos determinaram que há apenas nove tipos de bactérias identificadas que degradam o fipronil, dentre eles: *Bacillus thuringiensis*; *Streptomyces rochei*; *Trametes versicolor* e *Staphylococcus arlettae*.

Outro ponto a ser discutido sobre o aumento (experimento 2 de *bait*) e a queda (experimento 3 de *bait*) na atividade alimentar e na função de decomposição da mesofauna na área da cana, é de que a toxicidade dos metabólitos do fipronil, principalmente fipronil sulfona, é maior que o composto de origem, mas os mesmos também podem ser mais facilmente degradados pelos organismos da microbiota (Schlenk *et al.*, 2001; Tomazini *et al.*, 2021). A persistência do fipronil e seus metabólitos é alta — 3 dias a 7 meses — fato que poderia ter aumentado a atividade da microbiota do solo devido a atividade de degradação, mas também aumentado a toxicidade no meio (Singh *et al.*, 2021). Portanto, segundo a literatura, a potência do fipronil não diminui com a degradação microbiana, mas pode ter aumentado essa microfauna, contribuindo com a decomposição da matéria orgânica e atividade alimentar, uma vez que biodegradação do fipronil por bactérias pode ser através de oxidação, redução ou hidrólise, resultando na formação de fipronil sulfona (At; Karthikeyan; V, 2019; Singh *et al.*, 2021).

Segundo Singh *et al.* (2021), o fipronil pode sofrer oxidação, redução, hidrólise e fotólise e formar subprodutos de sulfona (oxidação), sulfeto (redução), amida (hidrólise abiótica ou biótica) e dessulfenil (fotodegradação na presença de luz solar natural ou luz UV) respectivamente.

Quanto a formação do metabólitos, Zortéa *et al.* (2018) encontraram efeitos de toxicidade crônica pelo fipronil sulfona e desulfenil na reprodução de *Folsomia candida*, para diferentes tipos de solo: desulfenil (solo artificial tropical CE= 0,17mg kg⁻¹ de solo seco ; latossolo CE= 0,57mg kg⁻¹ de solo seco e entissolo CE= 0,34mg kg⁻¹ de solo seco) e fipronil sulfona (solo artificial tropical CE= 0,17mg kg⁻¹ de solo seco ; latossolo CE= 0,40 mg kg⁻¹ de solo seco e entissolo CE= 0,32 mg kg⁻¹ de solo seco).

No experimento 3º de *bait* foi observado que a atividade alimentar foi afetada para PI e Cana, resultado difícil de ser visualizado no experimento de decomposição, pois o mesmo teve seu início em janeiro/fevereiro, sendo assim a atividade de degradação da matéria orgânica já estava em andamento, mesmo com uma posterior queda na abundância de ácaros e colêmbolos vistas na última coleta de mesofauna.

É relevante destacar que até o final do experimento, a classe Collembola foi bruscamente afetada, saindo de uma taxa inicial de riqueza de espécie de 27 para 14 na quarta coleta, e uma redução total de 90,3% em abundância. Certamente o impacto sobre os grupos de mesofauna levaram aos resultados de diminuição na atividade alimentar, reverberando na ciclagem de nutrientes e nos serviços ecossistêmicos de suporte, provisão e regulação, *e.g.*: conservação da biodiversidade, produtividade primária, regulação do clima, disponibilidade de água, manutenção comunidade, proteção contra pragas e doenças e estimulação da atividade de microorganismos (Lavelle *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2015).

Analisando os resultados aqui apresentados, após aproximadamente 10 meses de experimento, e mesmo diante da complexidade do trabalho experimental em campo (*e.g.*: clima, animais invasores e eventos externos à área de estudo), pudemos compreender que as ações de uso e manejo convencional do solo adotadas neste experimento (gradagem, calagem, fertilização e adição de herbicida e inseticida) afetaram o solo em sua magnitude física, química e biológica, desde a comunidade edáfica em sua biodiversidade e abundância até a qualidade da solução do solo e ciclo hidrológico, impactando diretamente nos serviços ambientais.

4 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, pôde-se compreender que os impactos da conversão de pastagem em canavial e da intensificação de pastagem afetaram negativamente a composição da mesofauna edáfica e suas funções.

As práticas de manejo do solo envolvidas na conversão de pastagem em canavial em combinação com a aplicação do inseticida fipronil prejudicaram diretamente a riqueza de espécies, abundância e funções da mesofauna edáfica, afetando portanto a biodiversidade do solo.

Ainda que as metodologias de manejo do solo impactem sua integridade física, os efeitos foram ainda mais acentuados quando combinados com estresse climático, estrutural e químico, como foi o caso do tratamento Cana para a classe de colêmbolos.

Esse estudo se mostrou importante para compreender de maneira mais realista os efeitos ecológicos do manejo convencional do solo e do uso do inseticida fipronil sobre a mesofauna edáfica, especialmente para os invertebrados não alvo para os inseticidas. Sendo assim, se faz necessário que práticas de manejo mais sustentáveis como plantio direto e outras alternativas de controle biológico sejam consideradas, a fim de diminuir os impactos sobre a integridade do solo, conservando sua estrutura e matéria orgânica.

São necessários mais estudos comparativos entre áreas de floresta, pastagem e canavial, a fim de que seja possível compreender melhor essa cascata de efeitos de manejo e gestão. Também é sugerido que outros estudos sejam realizados no intuito de compreender os efeitos nocivos da conversão de pastagens sobre organismos pertencentes à micro e macrofauna, a fim de gerar informações que orientem a expansão do cultivo de cana de açúcar e assegurem a sustentabilidade do biocombustível e das ações de intensificação da pastagem, preservando a integridade ambiental e os serviços do ecossistema.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADHIKARI, Kabindra; HARTEMINK, Alfred E.. Linking soils to ecosystem services — A global review. **Geoderma**, [s.l.], v. 262, p.101-111, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.009>.
- ALHO, Cleber J. R.; MAMEDE, Simone B.; BENITES, Maristela; *et al.* THREATS TO THE BIODIVERSITY OF THE BRAZILIAN PANTANAL DUE TO LAND USE AND OCCUPATION. **Ambiente & Sociedade**, v. 22, p. e01891, 2019.
- ALVES, Paulo Roger L. *et al.* Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 105, p.65-71, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.010>.
- AT, Keerthi; KARTHIKEYAN, Subburamu; V, Salom Gnana Thanga. Occurrence and microbial degradation of fipronil residues in tropical highland rhizosphere soils of Kerala, India. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 28, n. 4, p. 360–379, 2019.
- AUPIC-SAMAIN, Adriane; BALDY, Virginie; DELCOURT, Ninon; *et al.* Water availability rather than temperature control soil fauna community structure and prey–predator interactions. **Functional Ecology**, v. 35, n. 7, p. 1550–1559, 2021.
- BARETTA, D.; MAFRA, A.L.; SANTOS, J.C.P.; AMARANTE, C.V.T. & BERTOL, I. Análise multivariada da fauna edáfica em diferentes sistemas de preparo e cultivo do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41:1675-1679, 2006.
- BARETTA, D.; SANTOS, J.C.P.; MAFRA, A.L.; WILDNER, L.P.; MIQUELLUTI, D.J. Fauna edáfica avaliada por armadilhas de catação manual afetada pelo manejo do solo na região oeste catarinense. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.2, p.97-106, 2003.
- BARRIOS, E.. Soil biota, ecosystem services and land productivity. **Ecological Economics**, [s.l.], v. 64, n. 2, p. 269-285, 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolecon.2007.03.004>.
- BHATT, Pankaj; GANGOLA, Saurabh; RAMOLA, Sudipta; *et al.* Insights into the toxicity and biodegradation of fipronil in contaminated environment. **Microbiological Research**, v. 266, p. 127247, 2023.

- BORDONAL, Ricardo De Oliveira; CARVALHO, João Luís Nunes; LAL, Rattan; *et al.* Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, n. 2, p. 13, 2018.
- BROWN, G. G.; Niva, C. C.; Zagatto, M. R. G.; Ferreira, S. A.; Nadolny, H. S.; Cardoso, G. B. X.; Santos, A.; Martinez, G. A.; Pasini, A.; Bartz, M. L. C.; Sautter, K. D.; Thomazini, M. J.; Baretta, D.; Silva, E.; Antonioli, Z. I.; Decaëns, T.; Lavelle, P. M.; Sousa, J. P.; Carvalho, F. **Biodiversidade da fauna do solo e sua contribuição para os serviços ambientais**. In: Parron, L.M.; Garcia, J. R.; Oliveira, E. B.; Brown, G. G.; Prado, R. B. (Ed.). **Serviços ambientais em sistemas agrícolas e florestais do bioma Mata Atlântica**. Brasília: Embrapa, 2015. p. 113-145.
- CAMARA, Rodrigo; SILVA, Camila Santos Da; SANTOS, Gilsonley Lopes Dos; *et al.* PHYSICAL, CHEMICAL, AND BIOLOGICAL SOIL ATTRIBUTES UNDER ANALOG AGROFORESTRY SYSTEM AND PASTURE SITES. **FLORESTA**, v. 50, n. 1, p. 887, 2019.
- CARDOSO, Abmael Da Silva; BARBERO, Rondineli Pavezzi; ROMANZINI, Eliéder Prates; *et al.* Intensification: A Key Strategy to Achieve Great Animal and Environmental Beef Cattle Production Sustainability in Brachiaria Grasslands. **Sustainability**, v. 12, n. 16, p. 6656, 2020.
- CHRISTOFOLETTI, C. A. *et al.* O emprego de agrotóxicos na cultura de cana-de-açúcar. In: FONTANETTI, Carmem Silvia; BUENO, Odair Correa (Org.). **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. Bauru: Canal 6, 2017. Cap. 3, p. 278. Disponível em: <http://www.canal6.com.br/livros_loja/Ebook_Cana.pdf>. Acesso em: agosto, 2018.
- DAMIAN, Júnior Melo; DA SILVA MATOS, Eduardo; E PEDREIRA, Bruno Carneiro; *et al.* Predicting soil C changes after pasture intensification and diversification in Brazil. **CATENA**, v. 202, p. 105238, 2021.
- DEMETRIO, Wilian; CAVALIERI-POLIZELI, Karina Maria Vieira; GUIMARÃES, Rachel Muylaert Locks; *et al.* Macrofauna communities and their relationship with soil structural quality in different land use systems. **Soil Research**, v. 60, n. 7, p. 648–660, 2022.
- DONAGEMA, G. K. *et al.* (Orgs.). **Manual de métodos de análise de solos - Dados eletrônicos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230 p. - (Documentos / Embrapa Solos, ISSN 1517-2627 ; 132).
- ELDRIDGE, David J.; DELGADO-BAQUERIZO, Manuel; TRAVERS, Samantha K.; *et al.* Do grazing intensity and herbivore type affect soil health? Insights from a semi-arid
- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (ed.). **Manejo correto de pastagens pode recuperar carbono perdido na mudança de uso da terra**. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/83489361/manejo-correto-de-pastagens-pode-recuperar-carbono-perdido-na-mudanca-de-uso-da-terra>. Acesso em: 18 set. 2023.
- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Brachiaria brizantha cv. Marandu**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/863/brachiaria-brizanthacv-marandu#:~:text=Tem%20como%20principais%20caracter%C3%ADsticas%20resist%C3%Aancia,seca%20por%20hectare%2C%20por%20ano..> Acesso em: 05 ago. 2023.

- FAO - Food and Agriculture Organization. **State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities.** 2020. [s.l.]:Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/cb1928en>>. Acesso em: 1 out. 2023.
- FEITOSA, Ingrid; MUNIN, Nívea; GOULART, Bianca; *et al.* OCORRÊNCIA DE AGROTÓXICOS EM SOLOS ARGILOSOS E ARENOSOS APÓS APLICAÇÃO EM PASTAGENS E CANA-DE-AÇÚCAR. **Química Nova**, 2023. Disponível em: <https://quimicanova.s bq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=9551&nomeArquivo=AR2022-0235.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2023.
- FOSTER, Stephen; CUSTODIO, Emilio. Groundwater Resources and Intensive Agriculture in Europe – Can Regulatory Agencies Cope with the Threat to Sustainability? **Water Resources Management**, v. 33, n. 6, p. 2139–2151, 2019.
- FRANCO, André L.C.; BARTZ, Marie L.C.; CHERUBIN, Maurício R.; *et al.* Loss of soil (macro)fauna due to the expansion of Brazilian sugarcane acreage. **Science of The Total Environment**, v. 563–564, p. 160–168, 2016.
- GOOGLE MAPS. [Estação experimental APTA Brotas-SP]. [2018]. Disponível em <<https://www.google.com/maps/place/22%C2%B018'03.9%22S+48%C2%B008'39.6%22W/@-22.3010833,-48.1443333,1008m/data=!3m1!1e3!4m4!3m3!8m2!3d-22.3010833!4d-48.1443333!5m1!1e4?entry=tту>> Acesso em: 10/11/2019
- GOULART, B. V., 2023. Tese. Destino e transporte de fipronil e 2,4-D no ambiente durante o manejo de cana-de-açúcar e pastagens. UNICAMP.
- Goulart, Bianca Veloso, Beatriz De Caroli Vizioli, Evaldo Luiz Gaeta Espindola, e Cassiana Carolina Montagner. “Matrix Effect Challenges to Quantify 2,4-D and Fipronil in Aquatic Systems”. *Environmental Monitoring and Assessment* 192, no 12 (dezembro de 2020): 797. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08776-3>.
- GUIMA, Suzana Eiko Sato; PIUBELI, Francine; BONFÁ, Maricy Raquel Lindenbah; *et al.* New Insights into the Effect of Fipronil on the Soil Bacterial Community. **Microorganisms**, v. 11, n. 1, p. 52, 2022.
- HAMMER, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.
- IEA – Instituto de Economia Agrícola. **Relação de trocas entre defensivos e produtos agrícolas.** Disponível em http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/RelaTrocaDefensivos.aspx?cod_sis=20. Acesso em: julho, 2018.
- ISO - International Organization for Standardization. ISO 18311:2016. Soil quality - Method for testing effects of soil contaminants on the feeding activity of soil dwelling organisms — Bait-lamina test. Geneva, Switzerland.
- LAVELLE, P. *et al.* Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal Of Soil Biology**, [s.l.], v. 42, p.3-15, nov. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>.
- MARTINELLI, L. A.. Environmental effects of the pasture-sugarcane conversion and pasture intensification. Projeto temático nº 2015/18790–3, FAPESP, 2015.

- MARTÍNI, Aline Fachin; VALANI, Gustavo Pereira; BOSCHI, Raquel Stucchi; BOVI, Renata Cristina; SILVA, Laura Fernanda Simões da; COOPER, Miguel. Is soil quality a concern in sugarcane cultivation? A bibliometric review. *Soil And Tillage Research*, [S.L.], v. 204, p. 104751, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2020.104751>.
- MONTEIRO, Hugo R.; PESTANA, João L.T.; NOVAIS, Sara C.; *et al.* Assessment of fipronil toxicity to the freshwater midge *Chironomus riparius*: Molecular, biochemical, and organismal responses. *Aquatic Toxicology*, v. 216, p. 105292, 2019.
- MORAIS, José W de; OLIVEIRA, Viviane dos s; DAMBROS, Cristian de s; TAPIA-CORAL, Sandra C; ACIOLI, Agno N s. Mesofauna do solo em diferentes sistemas de uso da terra no Alto Rio Solimões, AM. *Neotropical Entomology*, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 145-152, abr. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-566x2010000200001>.
- MULLER, A. *et al.* Strategies for feeding the world more sustainably with organic agriculture. *Nature Communications*, [s.l.], v. 8, n. 1, p.1-13, 14 nov. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-01410-w>.
- O'RIORDAN, Roisin; DAVIES, Jess; STEVENS, Carly; *et al.* The ecosystem services of urban soils: A review. *Geoderma*, v. 395, p. 115076, 2021.
- OGURA, Allan Pretti; SILVA, Andréina Custódio da; CASTRO, Gleyson Borges; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta; SILVA, Aparecida Leonir da. An overview of the sugarcane expansion in the state of São Paulo (Brazil) over the last two decades and its environmental impacts. *Sustainable Production And Consumption*, [S.L.], v. 32, p. 66-75, jul. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.spc.2022.04.010>.
- OLIVEIRA, D. de, 2017. Dissertação. Toxicidade multigeracional do fipronil para *Folsomia candida* em solo natural tropical. UNICAMP.
- OLIVEIRA, Vanessa Bezerra de Menezes; BIANCHI, Miriam de Oliveira; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta. Hazard assessment of the pesticides KRAFT 36 EC and SCORE in a tropical natural soil using an ecotoxicological test battery. *Environmental Toxicology And Chemistry*, [S.L.], v. 37, n. 11, p. 2919-2924, 23 fev. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.4056>.
- PERON, Rafaela Alves Santos; TOMAZELLI, Daniela; KRAFT, Elston; *et al.* Grassland management intensification affects the soil fauna in a subtropical highland. *Annals of Applied Biology*, v. 183, n. 1, p. 53–66, 2023.
- PINTO, Thandy Junio Da Silva; MOREIRA, Raquel Aparecida; FREITAS, Juliane Silber Schmidt; *et al.* Responses of *Chironomus sancticaroli* to the simulation of environmental contamination by sugarcane management practices: Water and sediment toxicity. *Science of The Total Environment*, v. 857, p. 159643, 2023.
- PROESMANS, Willem; ANDREWS, Christopher; GRAY, Alan; *et al.* Long-term cattle grazing shifts the ecological state of forest soils. *Ecology and Evolution*, v. 12, n. 4, p. e8786, 2022.
- RAI, Bibishan; KLEIN, Alexandra Maria; WALTER, Julia. Chronic dryness and wetness and especially pulsed drought threaten a generalist arthropod herbivore. *Oecologia*, v. 188, n. 3, p. 931–943, 2018.

- SCHLENK, D. B. HUGGETT, J. ALLGOOD, D. Toxicity of Fipronil and Its Degradation Products to *Procambarus* sp.: Field and Laboratory Studies. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 41, n. 3, p. 325–332, 2001.
- SILVA, Laís C.M.; MOREIRA, Raquel A.; PINTO, Thandy J.S.; *et al.* Lethal and sublethal toxicity of pesticides and vinasse used in sugarcane cultivation to *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea: Cladocera). **Aquatic Toxicology**, v. 241, p. 106017, 2021.
- SINGH, Ngangbam Sarat; SHARMA, Ranju; SINGH, Sandeep Kumar; *et al.* A comprehensive review of environmental fate and degradation of fipronil and its toxic metabolites. **Environmental Research**, v. 199, p. 111316, 2021.
- SLUIJS, J. P. van Der *et al.* Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.148-154, 10 out. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3229-5>.
- SOUZA, Edivan R. De; MELO, Hidelblandi F. De; ALMEIDA, Brivaldo G. De; *et al.* Comparação de métodos de extração da solução do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 5, p. 510–517, 2013.
- State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities.** [s.l.]: FAO, 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/cb1928en>>. Acesso em: 1 out. 2023.
- SYSTAT SOFTWARE. SigmaPlot for Windows Version 11.0. Systat Software Inc., 2008. TEIXEIRA, L.; SCHUBART, H. **Mesofauna do solo em áreas de floresta e pastagens na Amazônia Central.** Belém : EMBRAPA-CPATU, 1988. (Boletim, 95).
- TOMAZINI, Rafaela; SAIA, Flavia T.; VAN DER ZAAAN, Bas; *et al.* Biodegradation of Fipronil: Transformation Products, Microbial Characterisation and Toxicity Assessment. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 3, p. 123, 2021.
- TRIQUES, Maria Carolina; OLIVEIRA, Dayane; GOULART, Bianca Veloso; *et al.* Assessing single effects of sugarcane pesticides fipronil and 2,4-D on plants and soil organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111622, 2021.
- TRIQUES, Maria Carolina; RIBEIRO, Fabianne; DE OLIVEIRA, Dayane; *et al.* The Ecotoxicity of Sugarcane Pesticides to Non-target Soil Organisms as a Function of Soil Properties and Moisture Conditions. **International Journal of Environmental Research**, v. 16, n. 4, p. 61, 2022.
- VANOLLI, Beatriz S.; PEREIRA, Arthur P.A.; FRANCO, André L.C.; *et al.* Edaphic and epigeic macrofauna responses to land use change in Brazil. **European Journal of Soil Biology**, v. 117, p. 103514, 2023.
- WANG, Sizhong; OLATUNJI, Olusanya Abiodun; GUO, Cao; *et al.* Response of the soil macrofauna abundance and community structure to drought stress under agroforestry system in southeastern Qinghai-Tibet Plateau. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 66, n. 6, p. 792–804, 2020.

WANG, Yang; SLOTSBO, Stine; HOLMSTRUP, Martin. Soil dwelling springtails are resilient to extreme drought in soil, but their reproduction is highly sensitive to small decreases in soil water potential. **Geoderma**, v. 421, p. 115913, 2022.

ZAGATTO, Maurício Rumenos Guidetti; NIVA, Cíntia Carla; THOMAZINI, Marcílio José; BARETTA, Dilmar; SANTOS, Alessandra; NADOLNY, Herlon; CARDOSO, Guilherme Borges Xarão; BROWN, George Gardner. Soil Invertebrates in Different Land Use Systems: how integrated production systems and seasonality affect soil mesofauna communities. **Journal Of Agricultural Science And Technology B**, [S.L.], v. 7, n. 3, 28 mar. 2017. David Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.17265/2161-6264/2017.03.003>.

ZORTÉA, Talyta; DOS REIS, Tamires Rodrigues; SERAFINI, Suélen; *et al.* Ecotoxicological effect of fipronil and its metabolites on *Folsomia candida* in tropical soils. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 62, p. 203–209, 2018.

APÊNDICE A – Caracterização da comunidade edáfica em grandes grupos taxonômicos

Tabela - Composição da comunidade edáfica, com base na média dos números de indivíduos pertencentes aos grandes grupos taxonômicos identificados em PE, PI e CA, referente às quatro coletas amostrais

Grupos	COLETA 1			COLETA 2			COLETA 3			COLETA 4		
	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA
Collembola	45,9	30,3	54,8	12,8	27,5	3,0	15,5	39,2	4,0	19,0	7,5	5,3
Acari	335,8	397,8	352,0	147,4	60,5	5,1	197,6	206,1	24,8	110,4	111,1	20,4
Araneae	0,3	0,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
Auchenorrhyncha,	1,5	1,0	0,9	0,6	0,5	0,1	0,1	0,1	0,7	0,0	0,1	0,1
Coleóptera	1,3	1,8	2,9	0,6	0,4	0,4	0,3	0,1	0,2	0,5	0,5	0,1
Díptera	10,3	11,3	8,8	1,2	1,3	1,3	2,6	2,4	3,2	1,0	0,4	0,9
Formicidae	1,8	19,6	1,7	0,6	0,3	0,0	3,6	0,2	0,2	2,7	0,4	0,1
Hymenoptera	0,4	1,2	1,3	0,4	0,5	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,0	0,2
Isoptera	0,2	0,6	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,3	0,0
Larva de díptera	0,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,9	1,9	0,3
Psocoptera	1,2	1,5	1,4	0,1	0,3	0,1	0,1	0,0	0,1	0,3	0,3	0,3
Thysanoptera	1,0	0,3	0,4	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,7	0,2	0,0
Protura	3,3	3,8	5,7	0,2	0,0	0,0	10,7	0,0	0,0	2,0	0,0	0,1
Paupoda	1,2	1,2	0,9	0,7	0,3	0,0	2,7	0,1	0,0	0,5	0,4	0,2
Symphyla	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tricoptera	0,7	1,8	1,2	0,6	0,3	0,3	0,4	0,6	0,6	0,0	0,0	0,0
Larva de coleóptera	0,4	1,0	0,4	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,3	0,4	0,1
Diplopoda	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Heteroptera	0,5	0,4	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Neuroptera	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Plecoptera	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Sternorrhyncha	0,0	0,0	0,5	0,2	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0
Larva de tricoptera	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ninfa de heteroptera	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1
Larva de plecoptera	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Embioptera	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Triozidae	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Chilopoda	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Não identificado	0,5	0,3	0,4	0,3	0,1	0,0	0,3	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

**CAPÍTULO III: INTENSIFICAÇÃO DE PASTAGEM E CONVERSÃO
DE PASTAGEM EM CANA-DE-AÇÚCAR: RESPOSTAS DE
COLÊMBOLOS COMO BIOINDICADORES DE QUALIDADE DO
SOLO EM DIFERENTES USOS DO SOLO**

CAPÍTULO III: Intensificação de pastagem e conversão de pastagem em cana-de-açúcar: respostas de colêmbolos como bioindicadores de qualidade do solo em diferentes usos do solo

RESUMO:

No Brasil, a intensificação de pastagem tem sido aplicada como alternativa para suprir a demanda por extensas áreas para produção de cana-de-açúcar para etanol. Esta prática consiste em converter uma área de pasto extensivo (subutilizada) em pasto intensivo, e o restante da área em canavial. Esse processo emprega práticas de gestão e manejo como aplicação de agrotóxicos e desestruturação do solo que podem afetar o ecossistema terrestre. Portanto, esse capítulo visa, através de experimentos de campo realizados na região de Brotas, São Paulo, compreender os impactos da conversão de pastagem em canavial e da intensificação de pastagem sobre a composição da comunidade edáfica pertencente a classe Collembola. A área experimental de Brotas-SP (~701.820,96 m²) foi dividida em três tratamentos: 1) Plantio de cana-de-açúcar; 2) Pasto extensivo (P.E) e 3) Pasto Intensivo (P.I). Cada tratamento era composto de cinco réplicas (2.500 m² /réplica). Foram realizadas quatro coletas de colêmbolos durante o período de um ano. Nas coletas, foram retiradas amostras intactas de solo (ISO_23611-2, 2005), com auxílio de anéis de PVC (~5x5 cm), que foram posteriormente levadas para extração em aparato de Tulgreen (adaptado). Os organismos foram identificados e classificados em grandes grupos: Symphypleona, Entomobryomorpha (Entomobryidae e Isotomidae) e Poduromorpha. Foram observados efeitos do preparo e uso da intensificação e conversão sobre a abundância e riqueza da comunidade de colêmbolos de PI e Cana. Assim como a biodiversidade funcional de PI e Cana, os valores de QBS foram afetados pelo manejo do solo.

Palavras-chave: Collembola; Fipronil; QBS; Invertebrados terrestre; Solo natural

1 INTRODUÇÃO

Em favor de suprir a demanda por bioetanol de cana e diante do alto percentual de áreas de pastagem degradadas no território nacional brasileiro, a intensificação de pastagens extensivas e a conversão de pastagem subutilizadas em cana-de-açúcar tem sido processos frequentemente empregados como saída sustentável para a expansão da cana, mas que podem resultar em danos na biodiversidade edáfica. Esses processos, de conversão à cana e intensificação, incidem no envolvimento de práticas de manejo e uso do solo que acabam por comprometer a estrutura física e química do solo, alterando estruturalmente o meio, podendo colocar em risco a biodiversidade terrestre (Franco *et al.*, 2016).

Os colêmbolos representam uma parte considerável da biodiversidade do solo e fazem parte da mesofauna edáfica, desenvolvendo um relevante papel ambiental e diversas funções do meio como a fragmentação e decomposição de matéria orgânica, funções estas que influem na qualidade e fertilidade do solo (Orgiazzi *et al.*, 2016). Os colêmbolos são microartrópodes, hexápodos, cosmopolitas, abundantes no meio terrestre e são comumente utilizados como organismos bioindicadores de qualidade do solo, já que apresentam sensibilidade a contaminantes (FAO, 2020; Joimel; Chassain; Artru; Faburé, 2022).

A atuação funcional de colêmbolos depende de suas características morfológicas como ocelos, fúrcula, antenas, pigmentação e presença de pelos e escamas, pois estas características refletem seu habitat (epiedáfico, hemiedáfico e euedáfico), suas funções e performance no meio (Vandewalle *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2016).

A biodiversidade edáfica é fator indicativo de qualidade do solo, logo existe uma relação direta entre um solo biodiverso e saudável, solo capaz de desempenhar seu papel na produção primária e na provisão de outras funções e serviços do ecossistema terrestre (Parisi *et al.*, 2005; FAO, 2020; Yahya *et al.*, 2020). Para medir a qualidade do solo, podemos utilizar alguns microartrópodes bioindicadores, como é o caso da classe Collembola.

A qualidade do solo pode ser determinada pelo índice QBS (Qualidade biológica do solo). Segundo Parisi *et al.* (2005) quanto maior a qualidade do solo, maior será o número de grupos organismos bem adaptados aos habitats do solo e o índice QBS também será maior. O QBS aplicado à classe collembola é uma determinação que relaciona a diversidade morfológica de colêmbolos, considerando suas características morfológicas (*e.g.* presença ou ausência de ocelos, tamanho da antena, pigmentação.) com propriedades físico-químicas do solo, assim como os diferentes tipos de uso do solo (Parisi *et al.*, 2005; Machado *et al.*, 2019).

Com base na importante atuação dos colêmbolos no meio terrestre e a necessidade de se investigar as reais consequências ambientais da intensificação e conversão de pastagem em cana de açúcar sobre a biodiversidade e a qualidade do solo, este estudo investigou os efeitos do manejo e uso do solo sobre a comunidade de colêmbolos da área experimental de Brotas-SP.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Campo experimental

Localizada no município de Brotas- São Paulo, a área experimental de pasto extensivo pertence à Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), e conta com uma área total de aproximadamente 701.820,96 m². A área de teste, inicialmente área de pastoreio extensivo e subutilizada, foi dividida em três tratamentos com diferentes usos do solo: 1) Pasto extensivo (PE) (Área de referência); 2) Plantio de cana-de-açúcar e 3) Pasto Intensivo (PI). Cada tratamento possuiu cinco réplicas denominadas como *plots* (*plot* 1, 2, 3, 4 e 5), de 2.500 m² cada (50 m x 50 m). Para maiores detalhes veja o capítulo II.

O solo arenoso Neossolo Quartzarênico distrófico da área experimental apresentou as seguintes principais características físico-químicas: textura e granulometria (8,2% de argila, 2,0% de silte e 89,8% de areia); pH médio 4,3; 2,5% de matéria orgânica; 37,8 mmolc/dm³ de capacidade de troca catiônica; e 26,83% de capacidade máxima de retenção de água (Triques *et al.*, 2021; Feitosa *et al.*, 2023).

2.2 Agrotóxicos

Na área experimental foram aplicadas práticas convencionais de manejo do solo, incluindo a aplicação de agrotóxicos. Durante o experimento foram aplicados o inseticida Regent® 800 WG (i.a. fipronil) e o herbicida DMA® 806 BR (i.a. 2,4 -D), em PI e Cana. Sendo assim, ambos agrotóxicos também se tornaram objetos de estudo nesta pesquisa.

Em campo, a dose recomendada (DR) do produto formulado Regen^t® 800 WG (i.a. fipronil) foi aplicada na concentração de 1,3 mg kg⁻¹ solo seco (i.a. 1,04 mg fipronil kg⁻¹ solo seco), para o controle do besouro *Migdolus fryamus* no plantio de cana. A dose do herbicida DMA 806® BR foi de 7 µL de produto comercial kg⁻¹ de solo seco (i.a. 4,7 mg de 2,4-D kg⁻¹) para a eliminação de plantas daninhas dicotiledôneas na etapa de pré-emergência da cana-de-açúcar (para mais detalhes, ver capítulo II).

2.3 Análises químicas

As análises de quantificação dos agrotóxicos foram realizadas no Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) conforme descrito por Goulart (2023).

Conforme descrito no capítulo II, foram coletadas 5 amostras de solo/tratamento, uma por *plot*. As amostras de solo natural foram acrescidas de diferentes concentrações de fipronil e 2,4-D, e analisadas em Cromatógrafo Líquido Triplo Quadrupolo / Espectrômetro de Massa 6410B. As taxas de recuperação foram, respectivamente, 50% e 34%, para fipronil e 2,4-D (Limite de quantificação= 1; 0,1; 0,1 e 0,1 ($\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente, 2,4 – D, fipronil fipronil sulfide e fipronil sulfona) (Goulart, 2023).

2.4 Amostragem e extração de colêmbolos

A fim de compreender os efeitos da intensificação de pastagens e da conversão de pastagens em cana-de-açúcar sobre a comunidade de colêmbolos, durante o período de 1 ano (10/2018 a 10/2019), foram realizadas quatro coletas nos diferentes tratamentos da área experimental, PE, PI e Cana. Durante o período de acompanhamento, ocorreram eventos de práticas relacionadas ao manejo e uso do solo que estão descritas no quadro 1 e figura 1, conforme o capítulo II.

Quadro 1 - Principais eventos relacionados ao manejo do solo ocorridos durante a conversão de pastagem em canavial e a intensificação de pastagem

Eventos	Data de ocorrência
Aragem, gradagem e calagem	23 de outubro/2018
Aplicação de nitrogênio e fósforo nas regiões de PI e Cana	31 de outubro/2018
Plantio da cana e plantio de capim da espécie <i>Brachiaria brizantha</i> cv marandu na área de PI	Novembro/2018
Aplicação do inseticida Regent® 800 WG na Cana	5 de dezembro/2018
Aplicação do herbicida DMA® 806 BR no PI e Cana	28 de janeiro/2019
Pastagem do gado no PE e PI	De 11 de abril/2019
Corte da cana	16 de outubro/2019

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 1 – Esquema temporal de coletas e eventos respectivos, no campo experimental de Brotas -SP

Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
<ul style="list-style-type: none"> • Coleta de reconhecimento. Não ocorreu interferência de preparo do solo em nenhum dos tratamentos. 	<ul style="list-style-type: none"> • PE - nenhuma interferência. • PI e Cana - aragem, gradagem, calagem e adição de NPK. • Cana - plantio de cana e aplicação de fipronil. • PI - plantio de brachiaria. 	<ul style="list-style-type: none"> • PE - nenhuma interferência. • Cana e PI - aplicação de 2,4-D. 	<ul style="list-style-type: none"> • PI e PE - adição de gado.

*Coleta 1 em 11/10/2018; coleta 2 em 15/01/2019; coleta 3 04/02/2019; e coleta 4 em 18/07/2019.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Em cada coleta foram retidas 5 amostras intactas de solo/tratamento, utilizando-se anéis de PVC (~5x5 cm). As amostras foram direcionadas para um equipamento adaptado de aparato de *Tulgreen* para extração de colêmbolos (ISO 23611-2, 2005). Os colêmbolos foram recolhidos em ácido benzoico 3% e preservados em etanol e glicerol para identificação. Os colêmbolos foram quantificados e classificados em grandes grupos (Figura 2): Symphypleona, Entomobryomorpha (Entomobryidae e Isotomidae) e Poduromorpha (Gisin, 1960).

Figura 2 - Colêmbolos identificados nas amostras da coleta de outubro de 2018 (coleta 1), no campo experimental de Brotas -SP



A- Entomobryomorpha; B- Isotomidae; C- Poduromorpha e D- Symphypleona. De acordo com a classificação de Gisin (1960).

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

2.5 Índice QBS (Qualidade biológica do solo)

A partir da divisão de grandes grupos de Collembola (Isotomidae, Poduromorpha, Symphypleona e Entomobryidae), foram identificados cinco atributos funcionais de cada organismo avaliado: tamanho da antena, presença ou ausência de ocelos, presença e tamanho de fúrcula, pêlos e escamas, e cor do organismo (Figura 3) (Parisi *et al.*, 2005; Machado *et al.*, 2019). Os atributos possibilitam determinar as adaptações aos diferentes usos do solo e suas distribuições verticais (organismos epígeos – habitantes da superfície do solo, sobre a serrapilheira e vegetação, atuantes acima de 5 cm de profundidade; hemiedáficos – organismos de profundidade intermediária, habitando entre a superfície e profundidades acima de 5 cm; e euedáficos – espécies que vivem no interior dos poros do solo, movimentando-se em camadas mais profundas do solo, variando entre 5 cm e 10 cm, raras algumas exceções encontradas acima de 10 cm) (Oliveira Filho; Baretta, 2016).

Figura 3 - Características morfológicas dos colêmbolos utilizadas no cálculo QBS



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Embasado nas definições de Parisi *et al.* (2005) e Machado *et al.* (2019), a cada característica foi atribuído um valor de EMI (índice ecomorfológico) de acordo com a tabela 1:

Tabela1 – Atributos funcionais e valores de índices ecomorfológicos

Atributos funcionais	Características e respectivos valores de EMI
Ocelos	0= presentes 4= ausentes
Tamanho das Antenas	0= comp. da antena > comp. do corpo 2= comp. da antena > 0,5x comp. do corpo 4= comp. da antena < 0,5x comp. do corpo
Fúrcula	0= presente 2= presente, mas reduzida 4= Ausente
Pelos e/ou escamas	0= presentes 4=ausentes
Pigmentação	0= presente com padrões 2= Presente sem padrões 4= ausente

Fonte: adaptado de Parisi *et al.* (2005); Machado *et al.* (2019)

Para a realização do cálculo de QBS, com base nos valores de EMI total (soma de cada EMI de cada atributo do morfotipo), foram determinados 17 morfotipos divididos em: I= Isotomidae; S= Symphypleona; P= Poduromorpha; e E= Entomobridae (Tabela 2).

Tabela 2 – Características funcionais, respectivos valores EMI e classificação por habitat de cada morfotipo

*Morfotipos	Características funcionais					EMI (índice ecomorfológico)	Classificação por habitat
	Fúrcula	Ocelos	Tamanho de antena	Pigmentação	Presença de pelos e/ou escamas		
I1	2	0	4	2	4	12	Hemiedáficos
I2	2	4	4	4	4	18	Edáficos
I3	4	0	4	4	4	16	Edáficos
S1	0	0	2	2	4	8	Hemiedáficos
S2	0	0	2	0	4	6	Epígeos
E1	0	0	4	2	0	6	Epígeos
E2	0	0	2	2	0	4	Epígeos
E3	0	0	4	0	0	4	Epígeos
E4	0	0	2	0	0	2	Epígeos
E5	0	0	0	0	0	0	Epígeos
E6	0	4	4	4	4	16	Edáficos
E7	0	4	4	4	0	12	Hemiedáficos
E8	0	0	4	0	0	4	Epígeos
E9	0	0	4	2	0	6	Epígeos
P1	4	4	4	4	4	20	Edáficos
P2	2	0	4	0	4	10	Hemiedáficos
P3	4	4	4	2	4	18	Edáficos

*I= Isotomidae; S= Symphypleona; P= Poduromorpha; e E= Entomobridae

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

2.6 Análises estatísticas

Os efeitos sobre a composição da comunidade de colêmbolos foram calculados para cada tratamento (PE. - Pasto Extensivo, P.I – Pasto Intensivo e Cana), considerando-se as 4 coletas realizadas. Para avaliação das diferenças estatísticas para cada tratamento estudando, e considerando a abundância de espécies aplicou-se ANOVA unidirecional seguida de teste de comparação múltipla *Duncan's Method* ($p < 0,05$), no programa *SigmaPlot* 11.0 (Systat Software, 2008).

Os cálculos de índices ecológicos foram executados no software Past 4 (Hammer *et al.*, 2001). O *Teste-t* via *SigmaPlot* foi realizado para comparar os índices ecológicos entre os tratamentos.

Quanto ao cálculo do índice QBS, a fim de incluir todos os morfotipos, seguiu-se a abordagem proposta por Machado *et al.* (2019), que utilizaram uma adaptação sobre a abordagem de Parisi *et al.* (2005). Logo, para se obter QBS, multiplicou-se abundância de um morfotipo pelo seu respectivo valor final de EMI (total), e realizou-se a soma de cada produto da multiplicação e chegou-se nos valores de QBS para cada área avaliada. Segundo Machado *et al.* (2019), essa abordagem adaptada e mais ampla permite obter informações mais confiáveis relacionadas às adaptações dos colêmbolos no ambiente e às condições de qualidade do solo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização da comunidade de colêmbolos e índices ecológicos

Como produtos das quatro coletas de mesofauna realizadas (conforme figura 1) a seguir são apresentados na Tabela 3 e Figura 4 os resultados de caracterização e identificação da comunidade de colêmbolos do campo experimental de Brotas-SP, considerando a abordagem de morfotipos:

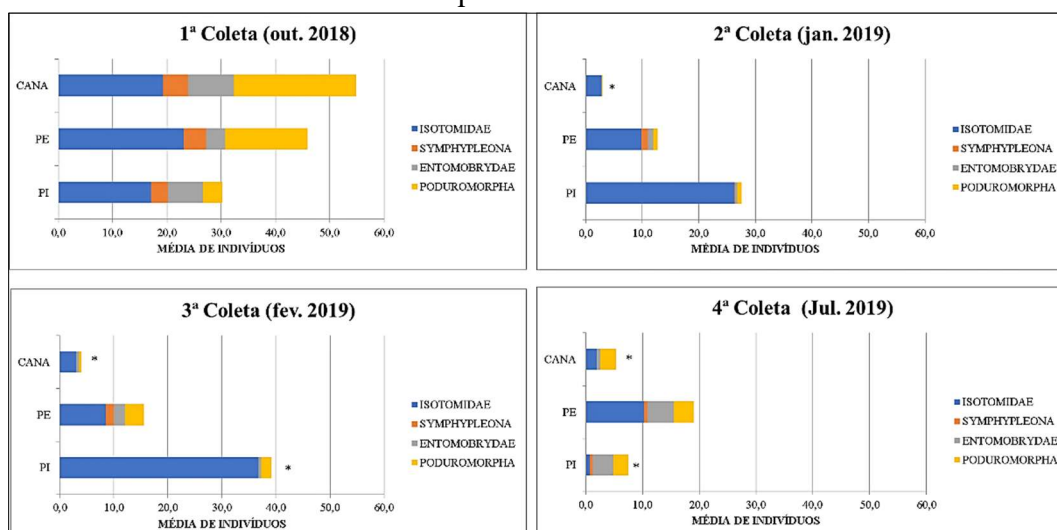
Tabela 3: Composição da comunidade de colêmbolos (média do número de indivíduos dos grupos morfológicos de colêmbolos) em PE, PI e CA referente às quatro coletas amostrais

Morfoespécies	COLETA 1			COLETA 2			COLETA 3			COLETA 4		
	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA
I1	18,8	13,3	16,4	7,1	2,2	1,1	2,7	1,4	1,1	4,6	0,7	1,9
I2	3,7	3,5	2,8	1,9	23,9	1,7	5,3	35,4	1,9	5,3	0,1	0,0
I3	0,7	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0
S1	3,2	2,8	4,4	0,3	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,6	0,5	0,0
S2	0,3	0,1	0,0	0,3	0,1	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
E1	2,8	2,2	2,6	0,3	0,1	0,1	1,5	0,4	0,1	4,5	2,9	0,1
E2	0,1	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,1
E3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
E4	0,1	0,4	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
E5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
E6	0,0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
E7	0,1	0,3	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0
E8	0,2	0,3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
E9	0,0	1,6	0,0	0,3	0,0	0,0	0,4	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0

P1	2,4	2,2	11,3	0,5	0,7	0,0	3,3	1,9	0,4	3,3	2,6	2,8
P2	3,6	0,1	0,9	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
P3	9,2	1,3	10,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 4: representação gráfica da abundância dos grandes grupos da comunidade de colêmbolos, com base na média das réplicas por tratamento, presentes em PE, PI e CA, referente as quatro coletas amostrais



O asterisco (*) representa diferença significativa (Teste de Duncan's, $p < 0,05$)

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Diante dos dados de abundância mostrados acima, seguem os índices ecológicos obtidos (Tabela 4):

Tabela 4: Índices ecológicos da comunidade de colêmbolos referente às quatro coletas, considerando as morfoespécies

	Coleta 1			Coleta 2			Coleta 3			Coleta 4		
	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA
Taxa_S (Riqueza)	16,0	21,0	16,0	15,0	11,0	5,0	11,0	5,0	8,0	10,0	8,0	7,0
Individuals	40,0	25,0	49,0	8,0	25,0	2,0	11,0	37,0	2,0	16,0	4,0	3,0
Dominance_D	0,2	0,2	0,2	0,3	0,8	0,2	0,2	0,8	0,1	0,2	0,2	0,3
Simpson_1-D	0,8	0,8	0,8	0,7	0,2*	0,8*	0,8	0,2*	0,9	0,8	0,8	0,7
Shannon_H	2,0	2,3	2,1	2,2	0,7*	1,6	2,2	0,5*	2,3	1,9	1,9	1,7
Equitability_J	0,7	0,8	0,7	0,8	0,3	1,0	0,9	0,3	1,1	0,8	0,9	0,9

*valores significativamente diferentes ($p < 0,05$; *T-test*) em comparação ao controle (PE) da mesma coleta.

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Na primeira coleta, antes de qualquer intervenção física ou química na área experimental, quanto à abundância, não foi observada diferença significativa em relação à área de referência (PE), em nenhum dos tratamentos (PI e Cana) ($p > 0,05$; ANOVA).

Sobre a segunda coleta, conforme demonstrado no esquema da figura 1, antes dessa coleta as áreas PI e Cana sofreram, respectivamente, intervenções de intensificação e conversão, incluindo aragem, gradagem, calagem, aplicação de NPK e o plantio de uma nova espécie (*Brachiaria Brachiaria brizantha* em PI e cana planta em Cana). Essas práticas de preparo do solo, além da adição de agrotóxicos e estresse climáticos, reverberaram sobre a comunidade de colêmbolos reduzindo-a em P.I, P.E. e Cana, respectivamente, 9%, 72,1% e 94,5% a abundância dos hexapodas. Com base na análise estatística dos dados, apenas o tratamento Cana apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle (P.E.).

Na segunda coleta, no caso de PE, como discutido no capítulo II, atribui-se ao estresse climático a redução no número de colêmbolos neste tratamento, em que o período de outubro/2018 a janeiro/2019 foi marcado por poucas chuvas e médias altas de temperatura, condições estas que influenciam na umidade do solo e conseqüentemente na biodiversidade edáfica (Aupic-Samain *et al.*, 2021; Krediet; Ellers; Berg, 2023).

No caso do tratamento Cana, na segunda coleta, além do estresse climático, houve uma combinação com a adição do inseticida fipronil, que justifica a redução de abundância em 94,5% e sua queda de 68,7% na riqueza de morfoespécies. Os valores de fipronil quantificados na área de cana variaram de 0,14 a 1,15mg de fipronil/Kg de solo seco (ver capítulo II no item 3.1) e correlacionam-se com os valores de concentração de efeito ecotoxicológico encontrados na literatura, indicando que o fipronil foi protagonista eliminação dos invertebrados não alvo.

Hennig *et al.* (2022) determinaram que temperaturas mais altas potencializam os efeitos do fipronil na reprodução do colêmbolo *F. candida* em diferentes tipos de solo. A 20, 25 e 27 °C: CE₅₀ em solo artificial = 0,81, 0,70, 0,31 mg kg⁻¹; CE₅₀ latossolo = 0,52, 0,54, 0,40 mg kg⁻¹; CE₅₀ entisol = 0,33, 0,24, 0,12 mg kg⁻¹. Assim como Hennig *et al.* (2022), outros trabalhos indicaram a potência do fipronil em causar danos à classe Collembola, como relataram Alves (2014), Oliveira (2017), Zortéa *et al.* (2018) e Triques *et al.* (2021; 2022), todos apontando valores de CE₅₀ menores que a doses recomendada de 1,04 mg kg⁻¹ do inseticida que foi aplicado no tratamento Cana.

Os efeitos severos do fipronil sobre os colêmbolos dão-se pelo modo de ação do agrotóxico, que age no sistema nervoso de artrópodes por meio da ligação a receptores de ácido gama aminobutírico (GABA), e causam inibição neural através do bloqueio dos canais de cloreto, podendo levar o organismo à morte (Bhatt *et al.*, 2023).

Sob uma ótica de distribuição e adaptação, os impactos apontados na coleta 2 permitem compreender as consequências sobre a composição das comunidades, e comparar os morfotipos iniciais do experimento e após as práticas de manejo. Na primeira coleta, os morfotipos predominantes em Cana foram I1 (hemiedáfico), P1 (edáfico) e P3 (edáfico), e representaram 76,6% da comunidade, diferentemente do que foi observado no mesmo tratamento na segunda coleta, onde a população de colêmbolos foi bruscamente reduzida em 94,5% e o índice QBS (Tabela 5) diminuiu de 11498 para 676, numa queda de 94,12%.

Tabela 5 – Resultados referentes aos valores de EMI de cada grupo morfológico, produto da abundância de cada morfotipo, e os valores de QBS calculados para cada tratamento, por coleta.

	COLETA 1			COLETA 2			COLETA 3			COLETA 4		
	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA	PE	PI	CA
I1	2700	1908	3156	1272	396	192	480	252	204	828	120	348
I2	792	756	792	504	6462	468	1422	9558	522	1440	18	0
I3	128	0	0	176	0	0	128	0	0	64	0	0
S1	304	272	568	32	0	0	112	0	0	72	56	0
S2	18	6	0	24	6	0	42	0	0	0	0	0
E1	198	156	246	30	6	6	138	36	12	402	264	6
E2	4	12	16	0	0	0	0	0	0	0	28	8
E3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E4	2	10	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E6	0	48	16	0	0	0	16	0	16	0	0	0
E7	12	36	0	0	36	0	0	0	24	12	0	0
E8	8	12	12	8	0	0	0	0	0	0	0	4
E9	0	114	0	24	0	0	36	0	12	18	0	0
P1	580	520	3600	160	200	0	1000	580	120	980	780	840
P2	430	10	150	30	10	10	20	0	0	20	0	0
P3	1980	288	2934	0	18	0	0	0	0	18	0	0
QBS TOTAL	7156	4152	11498	2260	7134	676	3394	10426	910	3854	1266	1206

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A queda na biodiversidade funcional (tabelas 3 e 5) aponta que os índices de QBS estão diretamente relacionados com a abundância e biodiversidade edáfica local, sendo que solos mais saudáveis possuem uma maior qualidade e maiores valores de QBS (Menta, Conti, Pinto e Bodini, 2018). Logo, o manejo e o uso do solo executados no processo de conversão de pastagem em canavial apontados nessa segunda coleta evidenciaram o comprometimento da qualidade do solo local, a riqueza e biodiversidade funcional e consequentemente o

comprometimento dos serviços do ecossistema providos por essa matriz ambiental (Parisi *et al.*, 2005; Vandewalle *et al.*, 2010; Machado *et al.*, 2019).

Na mesma coleta 2, outro fator interessante sobre PI, foi que diante do processo de aragem e gradagem que causaram a desestruturação do solo a composição da comunidade foi alterada, diminuindo a predominância de colêmbolos hemiedáficos e aumentando a de organismos edáficos. Destaca-se que essa alteração da comunidade incentivada pelas práticas de manejo, pode ser explicado pelo fato de que espécies edáficas como os organismos da família Isotomidae (I2) se reproduzem majoritariamente por partenogênese, obtendo melhor recuperação, distintamente das morfoespécies epígeas e hemiedáficas que tendem a se reproduzir sexualmente (Pollierer e Scheu, 2017; Yin *et al.*, 2020).

Na terceira coleta, em relação à 2ª coleta, sobre a abundância, todos os tratamentos apresentaram recuperação: PE = 21,3%, PI= 42,4% e Cana= 33,3%, mas em termos de qualidade do solo, cana ainda apresentou baixa qualidade biológica, enquanto PI destacou-se em relação ao tratamento de referência. Esse salto no valor de QBS em PI aponta que mesmo com as alterações na estrutura física do solo e no perfil biológico e adaptativo dos organismos, perante a adição de fertilizantes, o mesmo recuperou-se quanto a abundância, mas não quanto a riqueza. Seguindo o mesmo perfil observado na coleta 2, em PI os colêmbolos edáficos (I2) representaram 90,5% da comunidade, aumentando o QBS para 10426, três vezes maior que PE. No caso de PI, o alto valor de QBS justifica-se pelos organismos edáficos serem representantes de melhor adaptação ao meio terrestre devido seus atributos e habitat de sobrevivência, estando em contato direto com o solo, por isso recebem maiores valores de EMI (Parisi *et al.*, 2005).

Na última coleta, na presença do gado em PE e PI, houve aumento de 22,3% (P.E.) e 33,3% (Cana) e queda de 81% em P.I., em relação à coleta anterior. A pequeno aumento no QBS e na abundância da cana, derivaram do aumento dos morfotipos I1 e P1 que predominaram no tratamento.

A queda extremamente representativa em PI, em relação ao PE, pode ser efeito da baixa disponibilidade de água no solo abordada na figura 12 do capítulo II. Devido a remoção da cobertura vegetal pelos processos de gradagem e aragem, o solo fica mais suscetível a perder água. Logo, os organismos edáficos que possuem maior troca cuticular com o meio, estão ainda mais sujeitos ao estresse hídrico e redução da população (Chelinho *et al.*, 2014).

Peron *et al.* (2023) em seu trabalho sobre a intensificação do manejo de pastagens e efeitos sobre a fauna do solo, em região montanhosa subtropical, apontaram que diferentes práticas de gestão de pastagens alteraram as comunidades de macro e mesofauna do solo, incluindo os colêmbolos.

Yin *et al.* (2020) em sua pesquisa sobre os impactos do uso intensivo da terra na biodiversidade funcional do solo, apontaram que a intensificação do uso da terra influencia nas respostas funcionais e na biodiversidade de colêmbolos.

Machado *et al.* (2019) estudaram a Diversidade morfológica de colêmbolos como bioindicadores da qualidade do solo em sistemas de uso da terra e encontraram maiores índices de QBS para ambientes de maior biodiversidade edáfica, sendo o maior deles a floresta nativa seguida pela integração lavoura-pecuária, plantio de eucalipto, sistema plantio direto e pastagem.

Todos os apontamentos aqui realizados referentes aos impactos da intensificação de pastagem e conversão de pastagem, mas principalmente do processo de conversão, representam danos diretos na provisão de serviços do ecossistema terrestre como a provisão de água potável e alimento, produtos necessários para a vida e desempenhados pelos colêmbolos através da: fragmentação e degradação da matéria orgânica; formação de agregados e substâncias húmicas; da regulação biológica; bioturbação; estímulo da comunidade microbiana; e consumo e dejeção de sementes (Brown *et al.*, 2015; FAO, 2020). Também foi possível comprovar que o processo de intensificação de pastagem e conversão afeta os valores de QBS.

4 CONCLUSÕES

As medidas de manejo do solo envolvidas na conversão e intensificação de pastagem utilizadas neste estudo prejudicaram a biodiversidade, o perfil e abundância da comunidade de colêmbolos.

Esta pesquisa demonstrou que os diferentes usos e manejo do solo apresentados aqui promoveram a alteração da composição da comunidade de colêmbolos e diminuíram a qualidade biológica do solo, impactando diretamente no fornecimento dos serviços ecossistêmicos.

Observou-se que a alteração na estrutura física do solo associada a fatores químicos e climáticos causou expressivos danos a classe Collembola e diminuiu os valores de QBS.

São necessários estudos que orientem a expansão do cultivo de cana de açúcar e assegurem a sustentabilidade do biocombustível, preservando a integridade ambiental e os serviços do ecossistema.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, Paulo Roger L. *et al.* Seed dressing pesticides on springtails in two ecotoxicological laboratory tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 105, p.65-71, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.010>.
- AUPIC-SAMAIN, Adriane; BALDY, Virginie; DELCOURT, Ninon; *et al.* Water availability rather than temperature control soil fauna community structure and prey–predator interactions. *Functional Ecology*, v. 35, n. 7, p. 1550–1559, 2021.
- BHATT, Pankaj; GANGOLA, Saurabh; RAMOLA, Sudipta; *et al.* Insights into the toxicity and biodegradation of fipronil in contaminated environment. *Microbiological Research*, v. 266, p. 127247, 2023.
- BROWN, G. G.; Niva, C. C.; Zagatto, M. R. G.; Ferreira, S. A.; Nadolny, H. S.; Cardoso, G. B. X.; Santos, A.; Martinez, G. A.; Pasini, A.; Bartz, M. L. C.; Sautter, K. D.; Thomazini, M. J.; Baretta, D.; Silva, E.; Antonioli, Z. I.; Decaëns, T.; Lavelle, P. M.; Sousa, J. P.; Carvalho, F. **Biodiversidade da fauna do solo e sua contribuição para os serviços ambientais**. In: Parron, L.M.; Garcia, J. R.; Oliveira, E. B.; Brown, G. G.; Prado, R. B. (Ed.). **Serviços ambientais em sistemas agrícolas e florestais do bioma Mata Atlântica**. Brasília: Embrapa, 2015. p. 113-145.
- CHELINHO, Sónia; DOMENE, Xavier; ANDRÉS, Pilar; *et al.* Soil microarthropod community testing: A new approach to increase the ecological relevance of effect data for pesticide risk assessment. **Applied Soil Ecology**, v. 83, p. 200–209, 2014.
- FAO - Food and Agriculture Organization. **State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities**. 2020. [s.l.]:Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/cb1928en>>. Acesso em: 1 out. 2023.
- FEITOSA, Ingrid; MUNIN, Nívea; GOULART, Bianca; *et al.* OCORRÊNCIA DE AGROTÓXICOS EM SOLOS ARGILOSOS E ARENOSOS APÓS APLICAÇÃO EM PASTAGENS E CANA-DE-AÇÚCAR. *Química Nova*, 2023. Disponível em: <https://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=9551&nomeArquivo=AR2022-0235.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2023.
- FRANCO, André L.C.; BARTZ, Marie L.C.; CHERUBIN, Maurício R.; *et al.* Loss of soil (macro)fauna due to the expansion of Brazilian sugarcane acreage. **Science of The Total Environment**, v. 563–564, p. 160–168, 2016.
- GISIN, H. Collembolen fauna Europas. Museum d’histoire naturelle Geneva, Switzerland, 1960.
- GOULART, B. V., 2023. Tese. Destino e transporte de fipronil e 2,4-D no ambiente durante o manejo de cana-de-açúcar e pastagens. UNICAMP.
- HAMMER, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.
- HENNIG, Thuanne Braúlio; LOPES ALVES, Paulo Roger; SCHIEHL, Aline; *et al.* Can the increase in atmospheric temperature enhance the toxicity and risk of fipronil for

collembolans in tropical soils? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 18, p. 27104–27114, 2022.

ISO - International Organization for Standardization. 23611-2: 2005. Draft: Soil quality — Sampling of soil invertebrates — Part 2: Sampling and extraction of microarthropods (Collembola and Acarina). Geneva, Switzerland.

JOIMEL, Sophie; CHASSAIN, Juliette; ARTRU, Maxime; *et al.* Collembola are Among the Most Pesticide-Sensitive Soil Fauna Groups: A Meta-Analysis. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 10, p. 2333–2341, 2022.

KREDIET, A.F.; ELLERS, J.; BERG, M.P. Collembola community contains larger species in frequently flooded soil. **Pedobiologia**, v. 99–100, p. 150892, 2023.

MACHADO, Julia Da Silva; OLIVEIRA FILHO, Luís Carlos Iuñes; SANTOS, Julio Cesar Pires; *et al.* Morphological diversity of springtails (Hexapoda: Collembola) as soil quality bioindicators in land use systems. **Biota Neotropica**, v. 19, n. 1, p. e20180618, 2019.

MENTA, Cristina; CONTI, Federica D.; PINTO, Stefania; *et al.* Soil Biological Quality index (QBS-ar): 15 years of application at global scale. *Ecological Indicators*, v. 85, p. 773–780, 2018.

OLIVEIRA FILHO, Luís Carlos Iuñes; BARETTA, Dilmar. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos? *Scientia Agraria*, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 21, 20 dez. 2016. Universidade Federal do Parana. <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v17i2.48242>.

OLIVEIRA, D. de, 2017. Dissertação. Toxicidade multigeracional do fipronil para *Folsomia candida* em solo natural tropical. UNICAMP.

ORGIAZZI, A. *et al.* **Global Soil Biodiversity Atlas**. Luxembourg, European Commission. 2016, 176p.

PARISI, Vittorio; MENTA, Cristina; GARDI, Ciro; *et al.* Microarthropod communities as a tool to assess soil quality and biodiversity: a new approach in Italy. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 105, n. 1–2, p. 323–333, 2005.

PERON, Rafaela Alves Santos dos; TOMAZELLI, Daniela; KRAFT, Elston; BALDISSERA, Tiago Celso; BARETTA, Dilmar; PINTO, Cassiano Eduardo; GOSS-SOUZA, Dennis; OLIVEIRA FILHO, Luís Carlos Iuñes de; KLAUBERG-FILHO, Osmar. Grassland management intensification affects the soil fauna in a subtropical highland. *Annals Of Applied Biology*, [S.L.], v. 183, n. 1, p. 53-66, 3 abr. 2023. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/aab.12833>.

POLLIERER, Melanie M.; SCHEU, Stefan. Driving factors and temporal fluctuation of Collembola communities and reproductive mode across forest types and regions. *Ecology and Evolution*, v. 7, n. 12, p. 4390–4403, 2017.

SILVA, Pedro Martins da; CARVALHO, Filipe; DIRILGEN, Tara; STONE, Dorothy; CREAMER, Rachel; BOLGER, Thomas; SOUSA, José Paulo. Traits of collembolan life-form indicate land use types and soil properties across an European transect. *Applied Soil Ecology*, [S.L.], v. 97, p. 69-77, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.07.018>.

- SYSTAT SOFTWARE. SigmaPlot for Windows Version 11.0. Systat Software Inc., 2008.
- TEIXEIRA, L.; SCHUBART, H. **Mesofauna do solo em áreas de floresta e pastagens na Amazônia Central**. Belém : EMBRAPA-CPATU, 1988. (Boletim, 95).
- TRIQUES, Maria Carolina; OLIVEIRA, Dayane; GOULART, Bianca Veloso; *et al.* Assessing single effects of sugarcane pesticides fipronil and 2,4-D on plants and soil organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111622, 2021.
- TRIQUES, Maria Carolina; RIBEIRO, Fabianne; DE OLIVEIRA, Dayane; *et al.* The Ecotoxicity of Sugarcane Pesticides to Non-target Soil Organisms as a Function of Soil Properties and Moisture Conditions. **International Journal of Environmental Research**, v. 16, n. 4, p. 61, 2022.
- VANDEWALLE, Marie *et al.* Functional traits as indicators of biodiversity response to land use changes across ecosystems and organisms. **Biodiversity And Conservation**, [s.l.], v. 19, n. 10, p.2921-2947, 9 mar. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10531-010-9798-9>.
- YAHYA, Muhammad; AFZAL, Muhammad; MAJEED, Muhammad Zeeshan; *et al.* Differential Impact of Land-Use, Season and Soil Characteristics on the Abundance of Edaphic Springtails (Insecta: Collembola) and Mites (Arachnida: Acari). **Pakistan Journal of Zoology**, v. 52, n. 4, 2020. Disponível em: <<http://researcherslinks.com/current-issues/Differential-Impact-of-Land-Use-Season-and-Soil/20/1/2839/html>>. Acesso em: 29 out. 2023.
- YIN, Rui; KARDOL, Paul; THAKUR, Madhav P.; *et al.* Soil functional biodiversity and biological quality under threat: Intensive land use outweighs climate change. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 147, p. 107847, 2020.
- ZORTÉA, Talyta; DOS REIS, Tamires Rodrigues; SERAFINI, Suélen; *et al.* Ecotoxicological effect of fipronil and its metabolites on *Folsomia candida* in tropical soils. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 62, p. 203–209, 2018.

**CAPÍTULO IV: AVALIAÇÃO DE RISCO DE FIPRONIL EM SOLOS
TROPICAIS: CONCENTRAÇÕES RELEVANTES CAUSAM ALTO
RISCO À COMUNIDADE EDÁFICA**

Artigo Publicado: **“Avaliação de risco de Fipronil em solos tropicais: concentrações relevantes causam alto risco à comunidade edáfica”**

Revista: *Water Air Soil Pollut* (2024) 235:123 (<https://doi.org/10.1007/s11270-024-06925-9>)

Autores: Dayane de Oliveira^a, Rafaela Tadei^b, Maria Carolina Triques^a, Bianca Veloso Goulart^c, Cassiana Carolina Montagner^c, Evaldo Luiz Gaeta Espíndola^a, Vanessa Bezerra de Menezes-Oliveira^{a,d*}

^aPPG-SEA e NEEA/CRHEA/SHS, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo, Brasil.

^bUniversidade do Estado de São Paulo, UNESP, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Rio Claro, São Paulo, Brasil.

^cDepartamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil.

^dUniversidade Federal do Tocantins (UFT), Coordenação de curso em Engenharia Ambiental, Campus Palmas, Tocantins, Brasil

CAPÍTULO IV: Avaliação de risco de fipronil em solos tropicais: concentrações relevantes causam alto risco à comunidade edáfica

RESUMO:

Amplamente usado em campos agrícolas, o fipronil age sobre o sistema nervoso de artrópodes. Apesar de terem sido notados avanços, pouco é sabido sobre os efeitos do inseticida em organismos de solo não-alvo, especialmente considerando parâmetros específicos de ambientes tropicais. Este é o primeiro estudo a considerar condições tropicais ecologicamente relevantes para avaliar o risco ambiental do fipronil para o ecossistema terrestre. O presente estudo objetivou estimar o risco ecológico do fipronil para organismos de solo por meio de uma abordagem em níveis (*tiers*). No nível *screening* (TIER I), os dados foram obtidos tanto da literatura quanto de testes laboratoriais. Para o nível intermediário (TIER II), curvas de distribuição da sensibilidade de espécies (SSD) foram geradas com base em dados ecotoxicológicos de seis espécies de invertebrados de solo, em dois tipos de solo. A fim de estimar o risco, as taxas de toxicidade e exposição (TER) foram calculadas em cada nível considerando os dados de toxicidade relacionados e as concentrações de fipronil, que foram medidos e previstos no campo. Os resultados mostraram que concentrações ecologicamente relevantes de fipronil levaram a um alto risco para a comunidade edáfica (mais de 100 vezes mais alta que o valor de segurança estabelecido). Os altos riscos foram observados para ambos os níveis, apesar de que no TIER II (abordagem SSD) o risco foi ao menos 2,5 vezes mais alta do que no TIER I. Discute-se também aqui que o modo de ação do agrotóxico é o fator que mais influencia a toxicidade; o risco estimado considerando o solo artificial foi comparável ao do solo natural; e estimar o risco usando apenas uma espécie (como é realizado nos trópicos), pode subestimar o risco para a comunidade edáfica.

Palavras-chave: Concentração perigosa; *toxicity-exposure ratio*; agrotóxico; invertebrados de solo; avaliação de risco

ABSTRACT:

Widely used in agricultural fields, fipronil acts in the arthropods' nervous systems. Although advances have been noticed, little is known about the effects of the insecticide to non-target soil organisms, especially considering specific parameters from tropical environments. This is the first study considering ecologically relevant tropical conditions to assess the environmental risk of fipronil to the terrestrial ecosystem. The present study aimed to estimate fipronil's ecological risk to soil organisms through a tiered approach. At the screening level (TIER I) data were obtained from both the literature and laboratory experiments. For the intermediate level (TIER II), species sensitivity distributions (SSD) curves were generated based on ecotoxicological data from six species of soil invertebrates in two soil types. To estimate the risk, the Toxicity-Exposure Ratios (TER) were calculated at each tier considering the related toxicity data and the fipronil concentrations, which were measured and predicted in the field. Results showed that ecologically relevant concentrations of fipronil lead to a high risk for the edaphic community (above 100 times higher than the established safety value). The high risks were observed for both tiers, although at TIER II (SSD approach) it was at least 2.5 times higher than at TIER I. It was also discussed here that the pesticide mode of action is the factor most influencing toxicity; the estimated risk considering artificial soil was comparable to that with the natural soil; and estimating risk using only one species (as performed in the tropics) may underestimate the risk to the edaphic community.

Keywords: Hazardous concentration; toxicity-exposure ratio; pesticide; soil invertebrates; risk assessment

1 INTRODUÇÃO

Presente como um ingrediente ativo em 73 produtos agrícolas comerciais, o fipronil (5 - amino - 1 - [2,6 - dicloro - 4 - (trifluorometil) fenil] - 4 -(trifluorometilsulfinil) -1H -pirazol - 3 - carbonitrilo) está entre os inseticidas mais utilizados no Brasil (Christofolletti *et al.*, 2017; IEA, 2022; AGROFIT, 2021) e sua aplicação ocorre desde atividades agrícolas até para uso veterinário (ANVISA, 2021; AGROFIT, 2021; MAPA, 2021). Este composto fenilpirazol tem caráter hidrofóbico, baixo potencial de lixiviação baixa solubilidade em água, forte adsorção em solo e afinidade moderada por matrizes orgânicas (Gunasekara *et al.*, 2007).

Essa substância química age sobre o sistema nervoso de artrópodes (e.g. ácaros, colêmbolos, abelhas) através de fortes ligações com o neurotransmissor ácido γ -aminobutírico (GABA) e receptores específicos glutamatérgicos (Gunasekara *et al.*, 2007). Essa interação entre o composto e esses neurotransmissores inibe a abertura nos canais de cloreto (Cl⁻), levando a hiperatividade neuronal, paralisia ou morte de invertebrados alvo e não-alvo, impactando, conseqüentemente, a biodiversidade (Sluijs *et al.*, 2015; Zortéa *et al.*, 2018a).

Estudos com fipronil têm demonstrado efeitos adversos na sobrevivência e reprodução de espécies de invertebrados terrestres não-alvo. Sob condições tropicais, apesar de os efeitos de agrotóxicos em organismos de solo estarem sendo cada vez mais avaliados (Alves *et al.*, 2014; Oliveira; Bianchi; Espíndola, 2018; Zortéa *et al.*, 2018b; Daam *et al.*, 2019; Carniel *et al.*, 2019a; Santo *et al.*, 2019; Triques *et al.*, 2021), esses estudos ainda não estão sendo incorporados aos procedimentos relacionados à regulação do uso e registro de agrotóxicos. Portanto, a estimativa de risco considerando cenários realistas de exposição ainda é escassa (Carniel, 2019b; Bandeira *et al.*, 2021).

No Brasil, os requerimentos para a regulação de agrotóxicos, considerando os efeitos em organismos de solo não-alvo, são baseados apenas em respostas agudas da espécie de anelídeo *Eisenia andrei* (IBAMA, 1996). Na Europa, onde a preocupação quanto aos efeitos de agrotóxicos em organismos de solo é mais antiga, a avaliação de risco de agrotóxicos para organismos de solo já evoluiu, incluindo, assim, a avaliação dos efeitos de agrotóxicos sobre diferentes espécies de invertebrados (e.g. collembola and acari) antes da liberação do produto para uso em sistemas agrícolas (EFSA, 2017).

Além disso, as autoridades europeias também reconheceram que as avaliações de risco para o ambiente terrestre deveriam ser realizadas sob condições realistas, considerando abordagens intermediárias e avançadas (EFSA, 2017). Assim, o painel EFSA reconhece o uso

de Distribuição da Sensibilidade de Espécies (*Species Sensitivity Distribution* - SSD) como uma alternativa para experimentos de semicampo em uma análise de nível intermediário devido à sua facilidade e à boa representação das comunidades biológicas (Frampton *et al.*, 2006; EFSA, 2017; Fox *et al.*, 2021). A partir da SSD, é possível estimar diferentes concentrações perigosas (*Hazardous concentrations* – valores HCx, responsáveis pelos danos a x% das espécies do ambiente estudado (Gredelj *et al.*, 2018). Desse modo, HC₅ representa a concentração limite que permitirá a proteção de 95% das espécies do ambiente sob avaliação.

Portanto, diante da necessidade de se considerar cenários mais amplos para a avaliação dos efeitos de agrotóxicos e o risco para organismos de solo sob condições tropicais, e dado, também, o consumo extremamente alto de fipronil em ambientes tropicais, bem como sua toxicidade para organismos de solo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o risco ecológico do fipronil a organismos de solo (microartrópodos e oligoquetas), em dois tipos de solo tropical: um solo natural (SN) e um solo artificial tropical (SAT), em uma abordagem em níveis (TIER I e TIER II), com base na concentração de efeito não observado (CENO) de fipronil para diferentes organismos de solo em TIER I, e a HC₅ das curvas SSD, em TIER II. Ademais, duas concentrações de fipronil foram consideradas para estimar os riscos, uma prevista com o modelo ESCAPE e outra medida em campo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para atingir os objetivos do presente estudo., quatro etapas diferentes foram realizadas. Primeiramente, foi feito um compilado a partir da revisão da literatura com o intuito de reunir informações disponíveis sobre os efeitos do fipronil em organismos de solo (Seção 2.1). Em seguida, testes crônicos de toxicidade foram realizados usando-se três espécies invertebradas a fim de completar a base de dados para a construção das curvas SSD (Seção 2.2). Em um terceiro passo, concentrações ambientais de fipronil foram determinadas por medição em área contaminada e por predição por meio de um modelo apropriado (Seção 2.3). Posteriormente, o risco foi estimado usando-se a metodologia da razão entre toxicidade e exposição (*Toxicity Exposure Ratio* – TER) da EFSA, através de uma abordagem em níveis (Seção 2.4). Os detalhes são apresentados nas seções seguintes.

2.1. Pesquisa na literatura

Para obter dados disponíveis na literatura sobre a ecotoxicidade do fipronil na fauna edáfica, foram usados os descritores “fipronil” OU “fenilpirazol” E “tropical” OU “Solo Artificial Tropical” OU “solo natural tropical” para a pesquisa em cinco bases de dados:

Periódicos CAPES, ScienceDirect, Scopus, Web of Science e a base de dados ecotoxicológicas da Agência Americana de Proteção Ambiental (<https://cfpub.epa.gov/ecotox/search.cfm>). O *endpoint* de interesse foi a concentração de efeito não observado (CENO) de testes crônicos (*endpoint*: reprodução) com invertebrados terrestres em Solo Artificial Tropical – SAT ou solo natural, com as mesmas características do solo usado no presente estudo (tópico 2.2.1). Foram considerados apenas resultados obtidos a partir do atendimento às diretrizes ISO. Para SAT, os dados encontrados referem-se às espécies *Eisenia andrei*, *Enchytraeus crypticus*, *Folsomia candida*, e *Proisotoma minuta* (Tabela S1). Quando mais de um valor de CENO estava disponível para a mesma espécie, o mais baixo foi escolhido, considerando o pior cenário de aplicação.

2.2. Experimentos crônicos de toxicidade

Os testes ecotoxicológicos foram realizados usando duas espécies de colêmbolos (*Sinella curviseta* e *Proisotoma minuta*) e um ácaro predador (*Hypoaspis aculeifer*). Todas as três espécies têm sido mantidas no Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA), da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. Todos os experimentos ocorreram sob condições de temperatura controlada ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) e de fotoperíodo 16:8 h (luz:escuro) em dois diferentes tipos de solo (seção 2.2.1).

2.2.1. Solos teste

Os dois tipos de solo usados em todos os experimentos foram: solo artificial tropical (SAT) e solo natural (SN). SAT foi preparado em laboratório a partir da mistura de 75% de areia fina, 20% de caulim e 5% de pó de fibra de coco (Garcia, 2004). O SN usado foi classificado como solo arenoso com as seguintes características: 89,8% areia; 8,2% argila e 2,0% silte, com baixo teor de matéria orgânica (2,5%) e pH (H_2O) médio de 4,3. O solo natural foi coletado em um campo experimental localizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), na zona rural na região leste do estado de São Paulo, Brasil. No laboratório, as amostras coletadas foram peneiradas até 2 mm e secas a 60°C *overnight* para desfaunar o solo. Em relação ao histórico de contaminação por fipronil na área, o solo foi quimicamente analisado e nenhum resíduo de fipronil foi achado em uma concentração maior que $0,075 \text{ ng g}^{-1}$. Um nível muito baixo de fipronil sulfona (media $\sim 0,06 \text{ ng g}^{-1}$), um dos principais produtos da degradação do fipronil, indica que a contaminação anterior do solo já se degradou (Feitosa *et al.* (2023)., detalhes na seção 2.3.1). Além disso, a contaminação anterior da área não foi considerada uma preocupação adicional pelo fato de

nenhuma diferença ter sido observada na reprodução dos diferentes organismos testados quando em comparação com o solo artificial sem contaminação.

2.2.2. Substância teste

O inseticida/cupinicida comercial Regent[®] 800 WG (BASF), aqui chamado Regent, foi a substância testada. Do grupo químico fenilpirazol, essa formulação é composta por 80% (m/m) de fipronil (CAS 120068-37-3) como ingrediente ativo e 20% (m/m) de outros ingredientes. Esse inseticida é comumente usado no controle de insetos considerados pragas, tais como *Migdolus fryanus* (Coleoptera) e *Heterotermes tenuis* (Isoptera). Ele é aplicado diretamente na cova de plantio em canaviais e outras culturas (Christofoletti *et al.*, 2017; Goulart *et al.*, 2020; BASF, 2022).

Para contaminar os solos, diferentes soluções-estoque do inseticida Regent foram preparadas em água destilada, de acordo com a quantidade de fipronil necessária para atingir as concentrações no solo desejadas. O total de solo necessário para todas as réplicas de uma dada concentração a ser testada foi contaminado ao mesmo todo para cada experimento, por meio da homogeneização da solução-estoque correspondente no solo pré-umedecido. As concentrações escolhidas foram todas baseadas em estudos prévios que avaliaram a toxicidade do fipronil sobre organismos de solo e nas doses recomendadas (DR = 500 g p.c./ha, convertida para 1,3 mg p.c.kg⁻¹ [1,04 mg fipronil.kg⁻¹], considerando a densidade do solo igual a 1 g/cm³) do inseticida Regent, aplicado em culturas de cana-de-açúcar para controlar o besouro *M. fryanus*. As concentrações de fipronil utilizadas nos ensaios crônicos não foram quimicamente analisadas, portanto os resultados são baseados em concentrações nominais.

2.2.3. Procedimentos experimentais

Os experimentos foram conduzidos usando ambos os solos SN e SAT (seção 2.2.1) com o mesmo desenho experimental para cada espécie. Para as espécies de colêmbolos *P. minuta* e *S. curviseta*, foram seguidos os procedimentos descritos na norma ISO 11267 (2014a) e as adaptações propostas por Bandow *et al.* (2014a), respectivamente. Cinco réplicas (cada uma com 40 g de solo umedecido) foram preparadas para cada um dos seis tratamentos, nos quais as concentrações de fipronil variaram de zero (grupo controle) a 1 (uma) DR (0; 0,06; 0,13; 0,26; 0,52; 1,04 mg fipronil/ kg solo seco). No caso de *P. minuta*, foram adicionados 10 organismos com o mesmo intervalo de idade (10 – 12 dias) a cada frasco de teste. Para *S. curviseta*, devido a sua reprodução sexuada, descrita por Bandow *et al.* (2014a), foram adicionados 20 organismos com o mesmo intervalo de idade entre 20 e 23 dias. Alimento *ad libitum* (fermento seco granulado) e água foram repostos semanalmente. No final do período de

exposição (28 dias), água de torneira foi adicionada a cada frasco de teste a fim de permitir que os colêmbolos flutuassem e fotografias digitais foram tiradas para a contagem dos adultos e juvenis com o uso do software AutoCAD 2010®.

Para o ácaro predador *H. aculeifer*, foram atendidos os procedimentos descritos na norma OECD 226 (2016). Cinco réplicas (30 g de solo úmido em cada) foram preparadas para cada um dos seis tratamentos, nos quais as concentrações de fipronil variaram de zero (grupo controle) a 3 (três) DR (0; 0,26; 0,52; 1,04; 2,08; 3,12 mg fipronil/ kg solo seco). Para cada réplica, foram adicionadas 10 fêmeas adultas com o mesmo intervalo de idade (28 a 35 dias). O ácaro *Tyrophagus putrescentiae* foi oferecido duas vezes por semana, *ad libitum*, para a alimentação do ácaro predador, e o reabastecimento de água foi feito quando necessário (por meio da média de perda de massa). Após 14 dias, foi usado, por 48 h, um aparato de Tullgren adaptado para extrair os animais. O método consiste em aquecer o topo do solo no frasco de teste, forçando a migração dos organismos para o fundo, onde um outro frasco é colocado, contendo uma solução de ácido benzóico a 3%. Os juvenis e adultos foram contados separadamente com o auxílio de um estereomicroscópio.

2.2.4. Análise estatística de dados dos ensaios crônicos

Todos os parâmetros foram calculados usando as concentrações nominais de fipronil aplicadas aos diferentes solos. Para obter as concentrações de efeito (CE₅₀), foram usadas análise de regressão não-linear e o modelo sigmoidal (logístico, 3 parâmetros). A fim de investigar as diferenças significativas entre os resultados dos diferentes tratamentos com fipronil, foi feita a análise de variância de um fator (ANOVA) e foram comparadas as médias dos diferentes tratamentos com os respectivos controles, usando o teste *post-hoc* de Dunnett ($p \leq 0.05$). Antes da ANOVA, a normalidade e homogeneidade dos dados foram confirmadas por meio dos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Barlett, respectivamente. Os resultados obtidos permitiram estimar a menor concentração de efeito observado (CEO) e a concentração de efeito não observado (CENO). Todos os testes mencionados acima foram realizados usando o programa Sigmaplot 11 (SYSTAT SOFTWARE, 2008).

2.2.5. Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSD)

As curvas SSDs são distribuições estatísticas estimadas a partir dos resultados de ensaios de toxicidade laboratoriais e visualizadas como uma função de distribuição cumulativa. Para a construção das curvas SSD, foram usados os dados de CENO mais sensíveis da revisão bibliográfica (seção 2.1.) e dos experimentos de toxicidade crônica, usando as espécies de colêmbolos e ácaros (seção 2.2.) exposto tanto a solo natural (SSD-NS) quanto a solo artificial

(SSD-TAS) (Tabela 1). O programa gerador de SSD USEPA foi usado para calcular as concentrações químicas perigosas (HCx) a 5% (valor HC₅) e a 50% (valor HC₅₀) da comunidade biológica sob estudo (Frampton *et al.*, 2006; Kwok *et al.*, 2007) e construir as curvas (USEPA, 2005). Aplicado à avaliação de risco, a concentração perigosa a 5% (HC₅) é o percentual mais utilizado, dado que estima um cenário de 95% de proteção para a biota analisada. Os valores de HCx foram calculados usando o software ETX 2.0 (Van Vlaardingen *et al.*, 2004).

2.3. Concentrações ambientais de fipronil

2.3.1. Concentrações medidas de fipronil (MEC)

Neste estudo, duas concentrações diferentes foram usadas para estimar o risco para os invertebrados terrestres. A primeira foi obtida a partir das concentrações de fipronil medidas no campo (MEC_{campo}) (Feitosa *et al.*, 2023) e a segunda foi estimada usando-se o software ESCAPE (PEC_{ESCAPE}) (Klein, 2008).

A MEC_{campo} foi obtida por meio da medição das concentrações de fipronil em amostras de solo do mesmo campo experimental de onde o solo natural foi coletado para os testes de toxicidade crônica (seção 2.2.1.). A área experimental total possui, aproximadamente, 701.820,96 m² e destes, cinco lotes de 50 x 50 m (12.500 m² no total) foram cobertos por cana-de-açúcar e receberam a dose recomendada do inseticida Regent® 800 WG (DR = 1,3 mg Regent.kg⁻¹ solo), a qual foi aplicada à cova da cana-de-açúcar, como estabelecido pelo rótulo do produto comercial (p.c.) para controlar o besouro *Migdolus fryanus*. Cinco dias após o evento da aplicação do agrotóxico, uma amostra de solo foi coletada a cada 500 m² (0-10 cm de profundidade) e foi armazenada em sacos plásticos, sendo mantidas sob refrigeração (4°C) antes da análise (Filizola, 2006).

Amostras de solos foram extraídas por meio da extração sólido-líquido (ESL), como descrito em Feitosa *et al.* (2023). Antes da extração, amostras foram secas à temperatura ambiente e peneiradas até 1 mm (tamanho de partícula). Em seguida, 10 g de solo foram adicionados a tubos Falcon de 50 mL e acidificados com 1 mL de uma solução de ácido sulfúrico a 0,1 mol/L. A ESL ocorreu em dois ciclos de 10 minutos, utilizando 20 mL de diclorometano (HPLC >99,8%) por ciclo. Em cada ciclo, a mistura foi homogeneizada em vórtex por 1 minuto, levada a um banho ultrassônico de 10 minutos e, depois, a fase orgânica foi separada por centrifugação a 4000 rpm por 10 min. No fim de cada ciclo, a fase orgânica foi coletada e seca sob um fluxo constante de nitrogênio a 22°C. O extrato seco foi ressuspensionado em 1,5 mL de uma mistura 70:30 v/v MeOH-H₂O contendo 50 µg L⁻¹ de fipronil-(pyrazole-13C₃, cyano-13C), usada como um padrão interno. Posteriormente, um filtro de seringa hidrofóbico PTFE (0,22 µm) foi usado para a filtração do extrato. Quando necessário, diluiu-se

os extratos em uma mistura de 70:30 v/v H₂O-MeOH com fins de adaptação a faixa de trabalho linear do método analítico. Os analitos foram determinados por cromatografia líquida e espectrometria de massa (LC-MS/MS), utilizando um cromatógrafo Agilent (modelo 1200) acoplado a um espectrofotômetro de massa triplo quadrupolo (Agilent 6410) em sequencial, como descrito por Goulart *et al.* (2020).

2.3.2. Concentrações previstas de fipronil (PEC)

O valor PEC_{ESCAPE} foi obtido por meio do software ESCAPE 2.0 e as simulações foram baseadas nas cinéticas de degradação de primeira ordem, como descrito nos modelos de persistência em solo do manual FOCUS (FOCUS, 1996). As propriedades químicas do fipronil provieram do relatório científico da Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA): "*Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fipronil*" (EFSA, 2006). O cenário de exposição foi baseado nas condições climáticas e físicas da área experimental. Mais detalhes são apresentados na tabela 2 suplementar.

2.4. Estimativa de risco: Razão Toxicidade-Exposição (TER)

A estimativa de risco foi realizada de acordo com os procedimentos descritos na *Scientific Opinion* a respeito do estado da arte da ciência da avaliação de risco de produtos de proteção vegetal sobre organismos edáficos (EFSA, 2017). Para isso, razões de toxicidade-exposição (TER) foram calculadas considerando os dados de toxicidade disponíveis. No presente estudo, duas condições diferentes foram consideradas para estimar-se o risco. Primeiramente, dados obtidos por meio dos testes individuais (TIER I) foram considerados. Depois, os resultados obtidos por meio das curvas de distribuição da sensibilidade de espécies (SSDs) foram consideradas (TIER II). A comunidade é considerada em risco quando os valores de TER forem menores do que o valor limite (*trigger value*), que é igual a 5 (cinco) (EFSA, 2017).

Para o TIER I (avaliação de risco em nível de rastreio), o cálculo da TER baseou-se na razão entre o valor de CENO da espécie mais sensível e as concentrações ambientais medidas/previstas (MEC/PEC) (equação i). Para o TIER II (avaliação de risco em nível intermediário), a TER foi oriunda da razão entre toxicidade (Concentração Perigosa - HC₅ e HC₅₀) e exposição (Concentração Ambiental Medida/Prevista – MEC/PEC) (equação ii). As equações para os cálculos de TER são descritas abaixo:

$$(i) \text{ TER (TIER I)} = \frac{\text{CENO}}{\text{conc. fipronil}}$$

$$(ii) \text{ TER (TIER II)} = \frac{\text{(HCx)}}{\text{conc. fipronil}}$$

onde as concentrações de fipronil podem ser ambas as concentrações ambientais mensurada e prevista, como descrito acima.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Experimentos de toxicidade crônica

Todos os experimentos atenderam aos critérios de validação estabelecidos para sobrevivência (< 20% de mortalidade de adultos) e reprodução (pelo menos 100 juvenis para as espécies de colêmbolo e 50 juvenis para o ácaro predador) no tratamento controle das diferentes espécies invertebradas testadas, conforme às normas respectivas.

Para a reprodução do colêmbolo *P. minuta*, a exposição à dose recomendada de fipronil (1,04 mg fipronil kg⁻¹ solo seco) reduziu a produção de juvenis em 88% no SAT (One-Way ANOVA, teste de Dunnett, P < 0.001) e em 84% no solo natural (ANOVA, teste de Dunnett, P < 0.001). Para ambos os tipos de solo, a CENO foi 1/8 DR (Tabela 1) e a concentração que reduziu a produção de juvenis em 50% foi, aproximadamente, 1/4 DR (0,28 mg fipronil kg⁻¹ solo seco em SN e 0,24 mg fipronil kg⁻¹ solo seco em SAT).

Tabela 1 - Dados de toxicidade do fipronil de bioensaios com invertebrados terrestres (laboratoriais e da literatura) usados na construção das curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSDs), em solos artificial (SAT) e natural (SN), e os valores de Concentração Perigosa (HC) estimados.

Solo	Organismo	CENO*	CEO*	Referência	Valores HC
SN	<i>Folsomia candida</i>	0,06	0,13	Triques <i>et al.</i> (2021)	HC ₅ = 0,02 HC ₅₀ = 0,77
	<i>Proisotoma minuta</i>	0,13	0,26	Este estudo	
	<i>Sinella curviseta</i>	1,04	n.d.		
	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	3,12	n.d.		
	<i>Enchytraeus crypticus</i>	10,4	n.d.	Triques <i>et al.</i> (2021)	
SAT	<i>Folsomia candida</i>	0,06	0,13	Triques <i>et al.</i> (2021)	HC ₅ = 0,03 HC ₅₀ = 1,05
	<i>Proisotoma minuta</i>	0,13	0,26	Este estudo	
	<i>Sinella curviseta</i>	1,04	n.d.		
	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	3,12	n.d.		
	<i>Eisenia andrei</i>	5	10	Zortéa <i>et al.</i> (2018a)	
	<i>Enchytraeus crypticus</i>	10.4	n.d.	Triques <i>et al.</i> (2021)	

*fipronil mg.kg⁻¹ **n.d. = não determinado

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A espécie *S. curviseta* foi menos sensível ao fipronil do que *P. minuta*. Nas mesmas concentrações, nenhuma redução significativa na sobrevivência e reprodução dos organismos foi observada, para ambos os tipos de solo (SAT: ANOVA, $F(5, 24) = 29$, $P = 0,242$; SN: ANOVA, $F(5, 19) = 24$, $P = 0,136$). Consequentemente, a CENO foi a maior concentração testada (1,04 mg a.i. kg⁻¹ solo seco) e, dentro do desenho experimental escolhido, não foi possível calcular as concentrações de efeito para nenhum dos tipos de solo.

Com base nos resultados de estudos anteriores sobre a exposição da espécie de colêmbolo *Folsomia candida* a concentrações de fipronil ecologicamente relevantes (Alves *et al.*, 2014; Triques *et al.*, 2021; Zortéa *et al.*, 2017), e sobre o modo de ação do fipronil, agindo diretamente no sistema nervoso de artrópodes (Simon-Delso *et al.*, 2015), era esperada uma acentuada sensibilidade por parte da espécie testada. De modo diferente dos resultados aqui obtidos, que demonstraram nenhum efeito do inseticida sobre a reprodução das espécies de

colêmbolos *P. minuta* e *S. curviseta* na concentração de 0,13 mg de fipronil.kg⁻¹ solo, testes de exposição da espécie *F. candida* ao fipronil em uma concentração similar (0,12 mg de fipronil.kg⁻¹ solo) indicaram redução de 20% na taxa de reprodução em SAT (Alves *et al.*, 2014) e diminuição de 50% usando-se o solo natural tropical Entissol (Zortéa *et al.*, 2018b).

A maior sensibilidade observada em espécies hemi e euedáficas como *P. minuta* e *F. candida*, respectivamente, em comparação à espécie epiedáfica *S. curviseta* pode ser explicada por seus hábitos diferentes no solo. Espécies hemi e euedáficas vivem enterradas no solo e apresentam todo o corpo diretamente em contato com as partículas de solo e água contaminadas, o que aumenta sua exposição ao contaminante em comparação às espécies epiedáficas que vivem na superfície do solo. Além disso, diferentemente de *S. curviseta*, *F. candida* e *P. minuta* não possuem escamas e pelos corporais, indicando menor proteção dérmica, o que podem influenciar em uma maior exposição ao agrotóxico (Bandow *et al.*, 2014a, b; Buch *et al.*, 2016; Oliveira Filho; Baretta, 2016).

Esses resultados corroboram Bandow (2014a, b) que relatou menor sensibilidade da espécie colêmbola *S. curviseta* em comparação com a espécie *F. candida* exposta a agrotóxicos. Em condições idênticas (20°C e 50% de Capacidade de Retenção Hídrica), quando exposta ao fungicida pirimetanil, foi observada inibição de 20% na reprodução de *F. candida* na concentração de 47,7 mg i.a. .kg⁻¹ solo seco, enquanto para *S. curviseta* o valor de CE₅₀ foi encontrado apenas em 69,5 mg a.i .kg⁻¹ solo seco (Bandow *et al.*, 2014b). Contudo, é importante notar que a sensibilidade dos organismos aos agrotóxicos também pode ser influenciada por outros fatores abióticos, como a temperatura. A 20°C, a sensibilidade das duas espécies acima citadas ao inseticida piretróide foi semelhante. Porém, quando a temperatura aumentou para 26°C, o inseticida apresentou maior toxicidade para os isotomídeos *F. candida* (CE₂₀ = 1,21 mg i.a. kg⁻¹ solo seco) em comparação aos entomobrídeos *S. curviseta* (CE₂₀ = 14,2 mg i.a. kg⁻¹ solo seco) (Bandow *et al.*, 2014a).

A maior toxicidade dos agrotóxicos para espécies hemi e euedáficas, quando comparadas às espécies epiedáficas, também foi observada no estudo realizado por Lima e Silva *et al.* (2021), em que diferentes colêmbolos foram expostos ao inseticida imidaclopride. Porém, em termos de reprodução, as espécies apresentaram valores de CE₅₀ dentro da mesma faixa, independentemente do seu nicho. Os autores sugeriram que isto está relacionada ao fato de os ovos ficarem enterrados no solo até eclodirem (Lima e Silva *et al.*, 2021). Assim, mais estudos fisiológicos são necessários para melhor elucidar os mecanismos envolvidos na sensibilidade das espécies de colêmbolos a diferentes agrotóxicos.

Para o ácaro *H. aculeifer*, a sobrevivência e a reprodução não foram afetadas pela exposição ao inseticida fipronil (SAT: ANOVA, $F(5, 18) = 0,197$, $P = 0,959$; SN: ANOVA, $F(5, 17) = 0,952$, $P = 0,474$). As concentrações testadas variaram de $\frac{1}{4}$ (0,26 mg i.a. kg^{-1} solo seco) a 3 DR (3,12 mg i.a. kg^{-1} solo seco) do inseticida. Portanto, para ambos os solos, os valores de CENO foram definidos como 3,12 mg i.a. kg^{-1} solo seco.

A menor sensibilidade dos ácaros, quando comparado às espécies de colêmbolos expostas a inseticidas, já foi demonstrada na literatura. De acordo com Kamoun *et al.* (2018), a exposição do ácaro *H. aculeifer* aos inseticidas deltametrina, dimetoato e clorpirifós em solo artificial (OECD: 75% areia quartzosa, 20% argila, 5% turfa) levou a valores de CE_{50} de 3,6, 13,3 e 200 vezes maior do que o obtido para o colêmbolo *F. candida*, respectivamente.

Além disso, a menor sensibilidade dos ácaros em comparação com outros invertebrados do solo (colêmbolos, minhocas e enquitreídeos) também foi observada a diferentes substâncias químicas, como ácido bórico, cobre e cloreto de sódio (Huguier *et al.*, 2015). Os autores levantaram a hipótese de que as principais rotas de absorção dos ácaros eram a ingestão de água dos poros e o contato direto com o solo, com a absorção ocorrendo através de partes permeáveis, como as articulações das pernas, enquanto os invertebrados em comparação têm corpos mais macios e ingerem solo contaminado, aumentando vias de exposição.

Natal-da-Luz *et al.* (2019) expôs o ácaro predador *H. aculeifer* a duas condições de contaminação por cloreto de cobre; 1) solo contaminado (padrão) e 2) presas contaminadas (adaptação das diretrizes) e constatou que os organismos eram mais sensíveis na segunda condição, comprovando que adaptações às diretrizes são necessárias para melhor representar as condições ambientais. Ainda, é importante ressaltar que outras condições, como o clima, podem influenciar a resposta do organismo às substâncias químicas, conforme observado por Bandow (2014a, b) e essas questões também devem ser consideradas em estudos futuros.

3.2. Curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSDs)

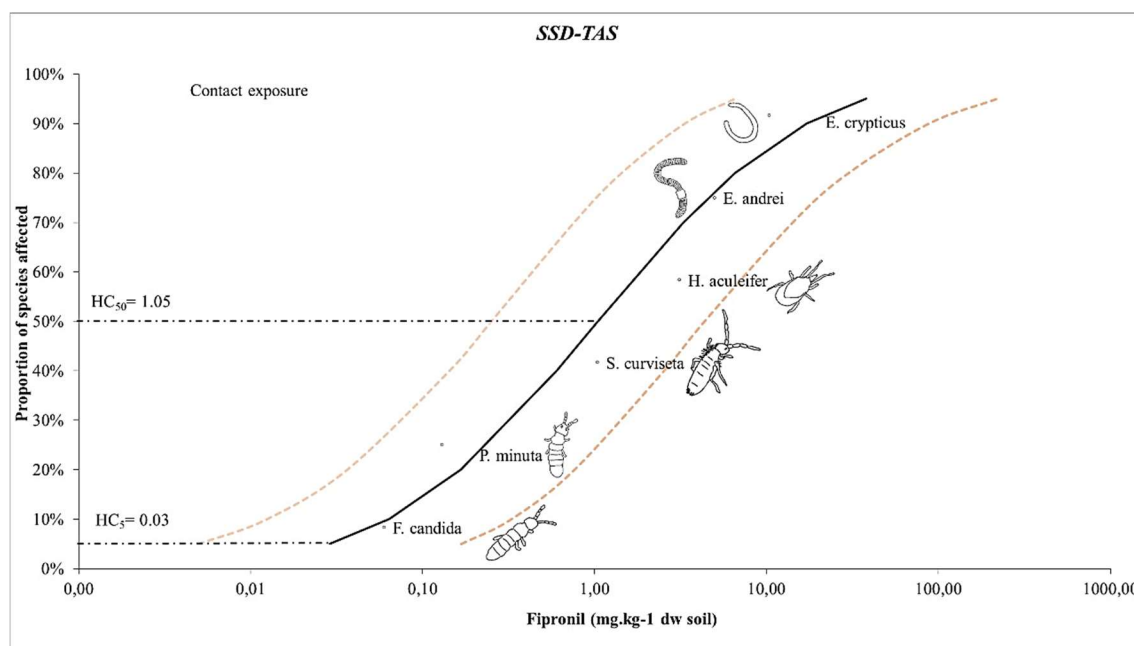
O uso da abordagem SSD já está estabelecido na avaliação de risco de agrotóxicos para sistemas aquáticos e espécies vegetais terrestres não-alvo (EFSA PPR Panel, 2013; Fox *et al.*, 2021). A vista dos organismos presentes no solo, os SSDs têm sido considerados uma ferramenta útil pelo ECHA/EFSA Topic Workshop (ECHA, 2015), mas a sua utilização é escassa, uma vez que ainda são necessárias mais orientações sobre a sua aplicabilidade aos organismos do solo (EFSA, 2017). As principais preocupações sobre os métodos estão relacionadas à comparabilidade dos estudos ecotoxicológicos, uma vez que combinar dados de experimentos realizados com características muito distintas, por exemplo, propriedades do solo

e condições de exposição, pode aumentar as incertezas relacionadas à avaliação de risco por meio de SSDs.

O presente estudo utilizou concentrações de efeito não observado (CENO) de testes laboratoriais e da literatura para obter as SSDs (Tabela 2). Todos os dados foram selecionados de estudos realizados nas mesmas condições (*i.e.*, propriedades do solo, condições de exposição e formulação comercial de agrotóxico), com uma exceção para a espécie *Eisenia Andrei*, que foi exposta a uma formulação comercial diferente. As concentrações químicas perigosas previstas para afetar cinco (HC5) e cinquenta (HC50) por cento das espécies estudadas foram estimadas a partir de cada curva SSD.

Para ambos os solos, os valores de HC₅ calculados mostraram alta sensibilidade, com valores ao menos duas vezes menores do que a CENO para a espécie mais sensível, *F. candida* (Tabela 1). Com base em dados de CENO, para o solo artificial, SSD-SAT (Tabela 1) providenciou HC₅ e HC₅₀ com valores de 0,03 mg fipronil kg⁻¹ solo seco (intervalo de confiança IC: 0,0005 – 0,1711) e 1,05 mg fipronil kg⁻¹ solo seco (IC: 0,1906 – 5,7494), respectivamente. *Folsomia candida* foi a espécie mais sensível ao inseticida fipronil, enquanto o enquitreídeo *Enchytraeus crypticus* apresentou a menor sensibilidade: *F. candida* > *P. minuta* > *S. curviseta* > *H. aculeifer* > *E. andrei* > *E. crypticus* (Fig. 1).

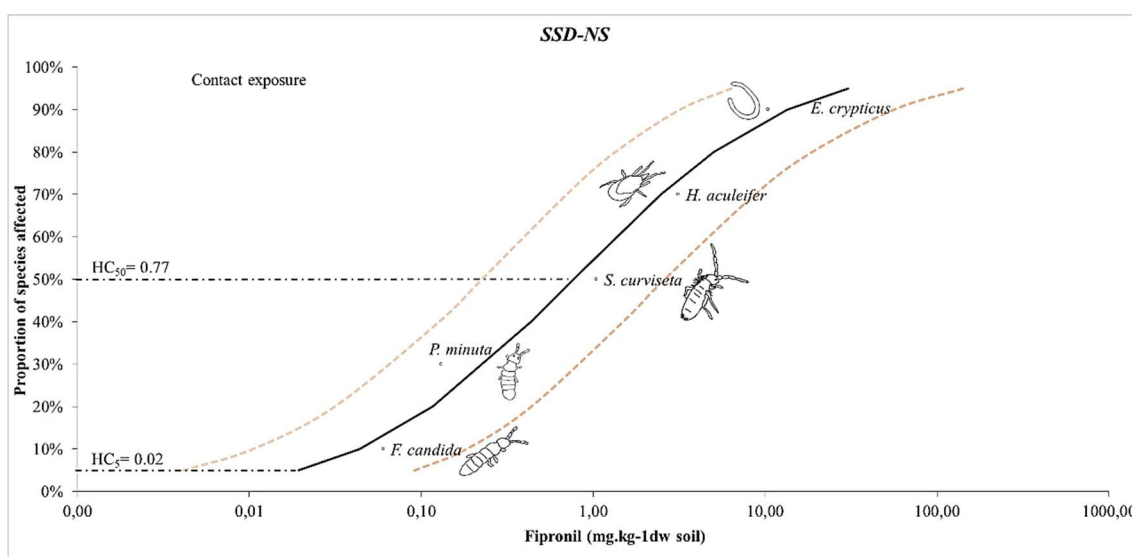
Figura 1- Distribuição de Sensibilidade das Espécies (SSD) para o fipronil em solo artificial tropical (SAT) com valores de CENO para cinco espécies: *F. candida*, *P. minuta*, *S. curviseta*, *E. andrei*, *E. crypticus*, *H. aculeifer*.



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Para o solo natural, a espécie de minhoca *E. andrei* não foi considerada na análise devido às diferentes composições do solo usado no estudo dessa espécie em relação ao do presente estudo. A SSD-SN indicou $HC_5 = 0,02$ mg fipronil kg^{-1} dw soil (CI: 0,00009 – 0,1319) e $HC_{50} = 0,77$ mg fipronil kg^{-1} dw soil (CI: 0,0985 – 5,9505), mostrando a mesma tendência apresentada para SAT, em que *F. candida* e *E. crypticus* foram as espécies mais e menos sensíveis ao fipronil, respectivamente ($F. candida > P. minuta > S. curviseta > H. aculeifer > E. crypticus$) (Fig. 2).

Figura 2- Distribuição de Sensibilidade das Espécies (SSD) para o fipronil em solo natural (SN) com CENO para cinco espécies: *F. candida*, *S. curviseta*, *P. minuta*, *E. crypticus*, *H. aculeifer*.



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

As espécies de oligoqueta têm vias de contaminação diferentes (e.g. ingestão, corpo macio e permeabilidade cutânea), o que pode torná-las mais suscetíveis a qualquer tipo de contaminação do solo (Jager *et al.*, 2003). No entanto, como observado nos estudos anteriores com inseticidas, o modo de ação do contaminante é um fator mais importante quando comparado à rota de exposição dos organismos (Daam *et al.*, 2011; Alves *et al.*, 2014). Portanto, a maior sensibilidade apresentada pelos artrópodes em comparação à espécie oligoqueta já era esperada dado que o fipronil é mais provável de exercer efeitos tóxicos em insetos não-alvo e táxons relacionados, tais como colêmbolos, devido a seu modo de ação, o qual foi desenhado para afetar o funcionamento do sistema GABAérgico de artrópodes (Alves *et al.*, 2014; Triques *et al.*, 2021).

Entretanto, já foi demonstrado que a espécie de enquitreídeos *E. crypticus* expressa o neurotransmissor GABA (Amorim *et al.*, 2021) e que esses organismos podem chegar a perder

sua habilidade de evitar solo contaminado com substâncias que podem ser neurotóxicas por atuarem como um receptor proteico associado ao GABA (Bicho *et al.*, 2015). Desse modo, os mecanismos que envolvem a toxicidade de compostos que atuam no sistema GABAérgico de espécies de oligoquetas precisam ser mais elucidados.

É importante notar que, para o ecossistema terrestre, não há consenso sobre a construção da curva SSD utilizando dados de diferentes grupos de organismos (*e.g.* espécies de colêmbolos e oligoquetas) (EFSA, 2017). Alguns autores têm discutido que combinar os resultados obtidos a partir de organismos que são afetados em uma ampla faixa de concentrações de um determinado contaminante pode subestimar o cálculo da concentração química perigosa para toda a comunidade (Frampton *et al.*, 2006; Daam *et al.*, 2011; Carniel, 2019a). Porém, no presente estudo, entendemos que esta combinação não afetou a análise, uma vez que os valores de HC obtidos mostraram-se protetores para toda a comunidade testada, como pode ser observado ao comparar os valores de HC com os de CENOs dos testes individuais.

Este é o primeiro estudo a avaliar os efeitos do inseticida fipronil nos organismos do solo através de SSDs e os resultados são especialmente importantes para o ambiente tropical, uma vez que foi baseado em dados de solos tropicais, para os quais informações sobre a toxicidade do agrotóxico sobre a comunidade biológica são muito escassas, quando comparadas a ambientes temperados. Conforme discutido anteriormente, embora as SSDs já estejam sendo empregadas na avaliação de risco de agrotóxicos para sistemas aquáticos e plantas terrestres (EFSA, 2017), ainda há várias críticas a respeito de seu uso para organismos edáficos.

Assim, mais dados ecotóxicos sobre espécies de invertebrados do solo melhorariam as curvas SSD, estreitando os intervalos de confiança a eles associados, e mais estudos utilizando a abordagem SSD são necessários para elucidar os parâmetros mais precisos a serem utilizados na construção das curvas para extrapolar com segurança os resultados desde o nível individual até o nível populacional. Para os sistemas aquáticos, Forbes *et al.* (2001) abordou essas questões e demonstrou, tanto analiticamente quanto por simulação, que os resultados obtidos com a SSD construída através dos valores CENO são protetivos quando se considera os níveis populacionais, portanto, são apropriados para uso em avaliações de risco.

3.3. Estimativas de risco

3.3.1. Concentrações Ambientais de Fipronil

Dois valores de concentração ambiental de fipronil foram aplicados para calcular o risco de exposição de organismos edáficos ao inseticida fipronil: a concentração medida MEC_{Campo}

(1,08 mg a.i kg⁻¹) e a concentração prevista PEC_{ESCAPE} (1,90 mg a.i kg⁻¹). Detalhes sobre como estas foram obtidas podem ser encontrados na seção 2.3 da metodologia.

3.3.2. Razão Toxicidade Exposição (TER)

Para a análise de TIER I, TER foi calculada com base nos efeitos obtidos para a espécie colêmbolo *F. candida*, que foi a mais sensível ao fipronil em ambos os solos, como apresentado acima (Tabela 1, Fig. 1 e 2). Os valores baseados em TER-CENO para ambos os solos foram, aproximadamente, 100 vezes menor que o valor limite (*trigger value*) determinado (Tabela 3), o qual representa um risco muito alto para o ecossistema terrestre.

Tabela 2 Valores da Razão Toxicidade Exposição (TER) para fipronil em solos natural e artificial baseados e, dois cenários de concentrações de exposição: MEC (MEC_{Campo} = 1.08 e PEC_{ESCAPE} = 1.03) para TIER I e TIER II. O risco ecológico ocorre quando os valores de TER são ≤ 5.

Tier	Solo	Dados de toxicidade (mg kg ⁻¹)	Toxicity-Exposure Ratio (TER) values	
			MEC _{Campo}	PEC _{ESCAPE}
TIER I (testes individuais)	SN	CENO _{<i>F. candida</i>} 0.06	0.05	0.06
	SAT	CENO _{<i>F. candida</i>} 0.06	0.05	0.06
TIER II (SSDs)	SN	HC ₅ = 0.02	0.02	0.02
		HC ₅₀ = 0.77	0.71	0.74
	SAT	HC ₅ = 0.03	0.03	0.03
		HC ₅₀ = 1.05	0.97	1.02

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Embora as análises TIER I seja, muito importantes para o início da avaliação de risco de substâncias químicas no ambiente, elas são limitadas em termos de relevância ecológica e podem subestimar ou superestimar o risco, a depender dos dados disponíveis para ambos os efeitos (*e.g.* respostas crônicas ou agudas; um ou mais grupos de organismos) e da exposição (*i.e.* concentração medida, prevista ou definida, de acordo com a dose recomendada de aplicação do agrotóxico estudado) (Santo *et al.*, 2019). Assim, para refinar o risco de determinadas substâncias numa abordagem em níveis, cenários mais realistas devem ser incorporados nos próximos níveis da análise (EFSA, 2017).

Assim, nas estimativas TIER II, a TER foi calculada considerando as concentrações perigosas obtidas através das curvas SSD com três grupos taxonômicos de organismos edáficos (Tabela 2). Para ambos os solos, os valores de TER utilizando HC₅ foram cerca de 2 vezes menores do que aqueles obtidos na análise TIER I. Os resultados confirmaram o alto risco observado anteriormente em TIER I e também reforçam a discussão sobre a necessidade de considerar níveis populacionais em vez de olhar apenas para efeitos em nível individual (Niva *et al.*, 2016; Rohr *et al.*, 2016; EFSA, 2017; Daam *et al.*, 2019).

Quando é realizada a comparação entre a TER-HC₅, calculada para os quatro cenários de nível intermediário (SN-MEC_{Campo}; SN-PEC_{ESCAPE}; SAT-MEC_{Campo}; SAT-PEC_{ESCAPE}), e o fator de segurança “5”, foi possível notar o risco extremamente alto oferecido pelo inseticida fipronil para a comunidade edáfica. Para SN e SAT, em ambos os cenários de exposição ao fipronil, os valores de TER foram cerca de 166 vezes mais baixos do que o valor de segurança. Para os cálculos de TER considerando HC₅₀, os resultados não foram tão elevados quanto aqueles gerados a partir dos cálculos de TER-HC₅, como era esperado, mas ainda demonstraram risco para a comunidade edáfica, com valores que variaram entre 5 e 7 vezes mais baixos do que o valor limite.

Portanto, os resultados observados indicam que uma dose recomendada de fipronil (1,04 mg fipronil kg⁻¹ soil) aplicada diretamente no solo para eliminar o besouro *M. fryanus* em plantações de cana-de-açúcar pode afetar a comunidade edáfica de invertebrados em 50% (HC₅₀ = 1,05) com probabilidade de 99%.

Assim, considerando a importância das espécies não-alvo estudadas, a aplicação de fipronil pode impactar não apenas a biodiversidade da comunidade edáfica, mas também importantes serviços ecossistêmicos, como produção primária, ciclagem de nutrientes, ciclagem de carbono, controle de pragas, regulação climática, agregação e umidade do solo, biorremediação do solo e purificação de água, entre outros (Lavelle *et al.*, 2006; Turbé *et al.*, 2010; Chagnon *et al.*, 2015; Orgiazzi *et al.*, 2016; FAO, 2017; FAO, 2020).

No Brasil, para o registro de um novo ingrediente ativo de agrotóxico, diversos estudos devem ser realizados para avaliar, entre outros fatores, sua periculosidade ao meio ambiente. Contudo, para o sistema terrestre, o único teste ecotoxicológico necessário para representar os organismos do solo é o teste de toxicidade aguda para a espécie de minhoca *Eisenia andrei* (IBAMA, 1996). No presente estudo, pôde-se observar que se os efeitos para a minhoca *E. andrei* fossem o único parâmetro utilizado para calcular o risco do inseticida fipronil sobre o ambiente terrestre, ele teria sido completamente subestimado.

Apesar do uso de solo artificial na avaliação de risco, embora os valores de TER-HC₅ and TER-HC₅₀ tenham sido maiores que o observado para o solo natural, eles ainda foram muito sensíveis em termos de proteção à comunidade edáfica. Joimel *et al.*, (2022), em uma meta-análise que comparou a sensibilidade de colêmbolos a outros organismos de solo, observou que os primeiros estão entre os organismos mais sensíveis a agrotóxicos e que a toxicidade é mais pronunciada em solos naturais do que em solos artificiais. Essa comparação entre estes solos – com destaque para o fato de que o natural oferece um cenário mais realista – é relevante, dado que o tipo de solo é um importante fator para o destino e comportamento do agrotóxico e pode influenciar o desempenho do organismo testado (Amorim *et al.*, 2005; Daam *et al.*, 2019). Além disso, o tipo de solo a ser usado na avaliação de risco para a regulamentação de agrotóxicos no Brasil é um ponto de discussão importante visto que tipos de solo muito distintos são usados para fins agrícolas em todo o país (Niva, 2016; Daam *et al.*, 2019), e testar todos eles não seria possível. Desse modo, mais estudos comparando diversos solos naturais e o artificial auxiliariam na compreensão da melhor forma de extrapolar os resultados e proteger a fauna de solo.

4. CONCLUSÕES

Em concentrações ambientalmente relevantes do inseticida fipronil, tanto a triagem (*screening*) como o nível intermediário da análise mostraram um risco extremamente elevado deste inseticida para a comunidade edáfica. Porém, os valores obtidos no TIER II foram cerca de duas vezes inferiores aos observados no TIER I, ou seja, indicaram um risco cerca de duas vezes maior, demonstrando a importância de considerar diferentes grupos de organismos para se ter uma melhor compreensão dos efeitos dos agrotóxicos em toda a comunidade. Ademais, os resultados enfatizaram a importância de escolher organismos não-alvo de um táxon similarmente relacionado ao dos organismos alvo, haja vista que o modo de ação dos agrotóxicos é o fator mais importante a influenciar a toxicidade em comunidades não-alvo.

Resultados baseados apenas na sensibilidade da minhoca *E. andrei* subestimam o risco e podem levar à perda de várias populações de colêmbolos e ácaros. Portanto, os critérios estabelecidos para a aplicação de fipronil devem ser revisados, bem como os requisitos relacionados ao registro de agrotóxicos no Brasil, considerando a fauna de solo. As SSDs mostraram ser uma ferramenta muito boa para avaliar o risco desse inseticida para a comunidade da fauna terrestre, mesmo com informações limitadas. Porém, mais informação sobre a toxicidade de diferentes grupos e espécies de organismos, assim como de tipos de solo,

são imprescindíveis e auxiliariam a melhor compreender o risco de diferentes agrotóxicos e condições de solo.

Este trabalho pretendeu contribuir para futuras discussões a respeito do quadro da avaliação de risco de agrotóxicos para os organismos de solo, especialmente quando se consideram as condições tropicais.

Agradecimentos

The authors thank the Brazilian Coordination of Superior Level Staff Improvement (CAPES) for the Ph.D. degree scholarship conceded and the São Paulo Research Foundation (FAPESP) for the financial support conceded via the thematic project “Environmental effects of the pasture-sugarcane conversion and pasture intensification” (Process: 2015/187903) and the post-doctoral grant (Process PDJ: 2017/04858-0).

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em:<https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Access: June, 2021.
- ALVES, Paulo Roger L., Elke J.B.N. Cardoso, Alexandre M. Martines, José Paulo Sousa, e Amarildo Pasini. “Seed Dressing Pesticides on Springtails in Two Ecotoxicological Laboratory Tests”. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 105, (July 2014): 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.04.010>.
- AMORIM, Mónica João de Barros, Jorg Römbke, Hans-Joachim Schallnaß, e Amadeu Mortágua Velho Maia Soares. “Effect Of Soil Properties And Aging On The Toxicity Of Copper For Enchytraeus Albidus, Enchytraeus Luxuriosus, And Folsomia Candida”. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, nº 8 (2005): 1875. <https://doi.org/10.1897/04-505R.1>.
- AMORIM, Mónica João de Barros, Yannick Gansemans, Susana I. L. Gomes, Filip Van Nieuwerburgh, e Janeck J. Scott-Fordsmand. “Annelid Genomes: Enchytraeus Crypticus, a Soil Model for the Innate (and Primed) Immune System”. *Lab Animal* 50, nº 10 (October, 2021): 285–94. <https://doi.org/10.1038/s41684-021-00831-x>.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. F-43 FIPRONIL. Available in: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/f/4351json-file-1/view>. Access: August, 2021.
- BANDEIRA, Felipe Ogliari, Paulo Roger Lopes Alves, Thuanne Braúlio Hennig, Juliane Brancalione, Diego José Nogueira, e William Gerson Matias. “Chronic Effects of Clothianidin to Non-Target Soil Invertebrates: Ecological Risk Assessment Using the Species Sensitivity Distribution (SSD) Approach”. *Journal of Hazardous Materials* 419 (October 2021): 126491. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126491>.
- BANDOW, Cornelia, Anja Coors, Nora Karau, e Jörg Römbke. “Interactive Effects of Lambda-Cyhalothrin, Soil Moisture, and Temperature on *Folsomia Candida* and *Sinella Curviseta* (Collembola): Interaction of Chemical and Climatic Factors on Collembola”. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33, nº 3 (March, 2014a): 654–61. <https://doi.org/10.1002/etc.2479>.
- BANDOW, Cornelia, Nora Karau, e Jörg Römbke. “Interactive Effects of Pyrimethanil, Soil Moisture and Temperature on *Folsomia Candida* and *Sinella Curviseta* (Collembola)”. *Applied Soil Ecology* 81 (September 2014b): 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.04.010>.
- BASF Regent 800 WG - Inseticida para Cana-de-Açúcar | Bula e Informações”. Access: April 28th, 2022. <https://agriculture.basf.com/br/pt/protecao-de-cultivos-e-sementes/produtos/regent-800-wg.html>.

- BICHO, Rita C., Susana I. L. Gomes, Amadeu M. V. M. Soares, e Mónica J. B. Amorim. “Non-Avoidance Behaviour in Enchytraeids to Boric Acid Is Related to the GABAergic Mechanism”. *Environmental Science and Pollution Research* 22, n° 9 (May, 2015): 6898–6903. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3921-5>.
- BUCH, Andressa Cristhy, Júlia Carina Niemeyer, Maria Elizabeth Fernandes Correia, e Emmanoel Vieira Silva-Filho. “Ecotoxicity of Mercury to *Folsomia Candida* and *Proisotoma Minuta* (Collembola: Isotomidae) in Tropical Soils: Baseline for Ecological Risk Assessment”. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 127 (May 2016): 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.009>.
- CARNIEL, Letícia Scopel Camargo, Julia Carina Niemeyer, Luís Carlos Iuñes de Oliveira Filho, Douglas Alexandre, Luciano Gebler, e Osmar Klauberg-Filho. “The Fungicide Mancozeb Affects Soil Invertebrates in Two Subtropical Brazilian Soils”. *Chemosphere* 232 (October, 2019b): 180–85. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.179>.
- CARNIEL, Leticia Scopel Camargo. Novel Approaches And Future Directions For Pesticide Ecological Risk Assessment To In-Soil Fauna. 2019a. 197 f. Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Sc, (2019a). Disponível em: https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/91061/1/Thesis_Leticia%20Scopel%20Camarago%20Carniel_final.pdf. Access: August 5th, 2021.
- CHAGNON, Madeleine, David Kreutzweiser, Edward A.D. Mitchell, Christy A. Morrissey, Dominique A. Noome, e Jeroen P. Van der Sluijs. “Risks of Large-Scale Use of Systemic Insecticides to Ecosystem Functioning and Services”. *Environmental Science and Pollution Research* 22, n° 1 (January, 2015): 119–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3277-x>.
- CHRISTOFOLETTI, C.A., Pereira, C., Ansoar, Y.. “O emprego de agrotóxicos na cultura de cana-de-açúcar, in: Fontanetti, C.S., Bueno, O.C. (Eds.), Cana-de-Açúcar e Seus Impactos: Uma Visão Acadêmica. Canal6, Rio Claro, pp. 51–61 (2017).
- Daam, Michiel A., Sara Leitão, Maria José Cerejeira, e J. Paulo Sousa. “Comparing the Sensitivity of Soil Invertebrates to Pesticides with That of *Eisenia Fetida*”. *Chemosphere* 85, n° 6 (October 2011): 1040–47. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.032>.
- DAAM, Michiel A., Sónia Chelinho, Júlia C. Niemeyer, Olugbenga J. Owojori, P. Mangala C. S. De Silva, José Paulo Sousa, Cornelis A. M. van Gestel, e Jörg Römcke. “Environmental Risk Assessment of Pesticides in Tropical Terrestrial Ecosystems: Test Procedures, Current Status, and Future Perspectives”. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 181, (October 2019): 534–47. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.038>.
- ECHA European Chemicals Agency. e Ramboll. *Topical Scientific Workshop on Soil Risk Assessment: Workshop Proceedings: Helsinki, 7 8* (October 2015). LU: Publications Office, 2016. <https://data.europa.eu/doi/10.2823/785130>.
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) PPR panel “Guidance on Tiered Risk Assessment for Plant Protection Products for Aquatic Organisms in Edge-of-Field Surface Waters | EFSA”. (July 2013). Access: June 9th, 2022. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3290>.
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), Colin Ockleford, Paulien Adriaanse, Philippe Berny, Theodorus Brock, Sabine Duquesne, Sandro Grilli, *et al.*

“Scientific Opinion Addressing the State of the Science on Risk Assessment of Plant Protection Products for In-soil Organisms”. *EFSA Journal* 15, n° 2, February 2017. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4690>.

EFSA Scientific Report (2006) 65, 1-110, Conclusion on the peer review of fipronil

FAO 2017. *Soil Organic Carbon: the hidden potential*. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, Italy.

FAO, 2020. ITPS. *State of Knowledge of Soil Biodiversity - Status, Challenges and Potentialities: Report 2020*. Rome, Italy: FAO, 2020. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>.

FEITOSA, Ingrid Ruanna dos Santos, Nívea Cristina Guedes Munina, Bianca Veloso Goulart e Cassiana Carolina Montagner. “Ocorrência de agrotóxicos em solos argilosos e arenosos após aplicação em pastagens e cana-de-açúcar”. 2023. *Química Nova* (accepted article: december 2022).

FILIZOLA, Heloisa Ferreira Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para análise da qualidade ambiental: solo, água e sedimentos / editado por Heloisa Ferreira Filizola, Marcos Antonio Ferreira Gomes e Manoel Dornelas de Souza. - Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 169p.

FOCUS. Soil Persistence Models and EU Registration, European Commission, 1996. Document No. 7617/VI/96. URL:https://esdac.jrc.ec.europa.eu/public_path/u891/Soil%20persistence%20models%20and%20EU%20registration%20E2%80%99%20%281997%29.pdf

FORBES, Valery E., Peter Calow, e Richard M. Sibly. “Are Current Species Extrapolation Models a Good Basis for Ecological Risk Assessment?” *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, n° 2 (February 2001): 442–47. <https://doi.org/10.1002/etc.5620200227>.

FOX, D.R., R.A. Dam, R. Fisher, G.E. Batley, A.R. Tillmanns, J. Thorley, C.J. Schwarz, D.J. Spry, e K. McTavish. “Recent Developments in Species Sensitivity Distribution Modeling”. *Environmental Toxicology and Chemistry* 40, n° 2 (February 2021): 293–308. <https://doi.org/10.1002/etc.4925>.

FRAMPTON, Geoff K., Stephan Jänsch, Janeck J. Scott-Fordsmand, Jörg Römbke, e Paul J. van den Brink. “Effects of Pesticides on Soil Invertebrates in Laboratory Studies: A Review and Analysis Using Species Sensitivity Distributions”. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, n° 9 (2006): 2480–89. <https://doi.org/10.1897/05-438R.1>.

GARCIA, M., 2004. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. (2004). Universidade de Bonn.

GOULART, Bianca Veloso, Beatriz De Caroli Vizioli, Evaldo Luiz Gaeta Espindola, e Cassiana Carolina Montagner. “Matrix Effect Challenges to Quantify 2,4-D and Fipronil in Aquatic Systems”. *Environmental Monitoring and Assessment* 192, n° 12 (December, 2020): 797. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08776-3>.

GREDELJ, Andrea, Alberto Barausse, Laura Grechi, e Luca Palmeri. “Deriving Predicted No-Effect Concentrations (PNECs) for Emerging Contaminants in the River Po, Italy, Using Three Approaches: Assessment Factor, Species Sensitivity Distribution and AQUATOX

Ecosystem Modelling”. *Environment International* 119 (October 2018): 66–78. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.06.017>.

GUNASEKARA, Amrith S., Tresca Truong, Kean S. Goh, Frank Spurlock, e Ronald S. Tjeerdema. “Environmental Fate and Toxicology of Fipronil”. *Journal of Pesticide Science* 32, n° 3 (2007): 189–99. <https://doi.org/10.1584/jpestics.R07-02>.

HUGUIER, Pierre, Nicolas Manier, Olugbenga John Owojori, Pascale Bauda, Pascal Pandard, e Jörg Römbke. “The Use of Soil Mites in Ecotoxicology: A Review”. *Ecotoxicology* 24, n° 1 (January 2015): 1–18. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1363-y>.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 1996. Portaria normativa IBAMA n° 84, (October, 1996). Available in: https://servicos.ibama.gov.br/ctf/manual/html/Portaria_84.pdf

IEA – Instituto de Economia Agrícola. Relação de trocas entre defensivos e produtos agrícolas. Disponível em http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/RelaTrocaDefensivos.aspx?cod_sis=20. June, 2022.

ISO (International Standardization and Organization, 2014a. ISO 11267 - Soil quality: inhibition of reproduction of *Collembola (Folsomia candida)* by soil pollutants.

ISO- International Standardization and Organization, 1998. ISO 11268-2, Soil quality - Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) - Part 2: Determination of effects on reproduction. Geneva.

ISO- International Standardization and Organization, 2014b. ISO 16387 - Soil quality: effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*). Determination of effects on reproduction and survival.

JAGER, Tjalling, Roel H. L. J. Fleuren, Elbert A. Hogendoorn, e Gert de Korte. “Elucidating the Routes of Exposure for Organic Chemicals in the Earthworm, *Eisenia Andrei* (Oligochaeta)”. *Environmental Science & Technology* 37, n° 15: (2003) 3399–3404. <https://doi.org/10.1021/es0340578>.

JOIMEL, S., Chassain, J., Artru, M., & Faburé, J. *Collembola* is Among the Most Pesticide-Sensitive Soil Fauna Groups: A Meta-Analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(10), (2022) 2333–2341. <https://doi.org/10.1002/etc.5428>.

KAMOUN, Ikram Jaabiri, Olukayode O Jegede, Olugbenga J Owojori, Jalel Bouzid, Radhia Gargouri, e Jörg Römbke. “Effects of Deltamethrin, Dimethoate, and Chlorpyrifos on Survival and Reproduction of the Collembolan *Folsomia Candida* and the Predatory Mite *Hypoaspis Aculeifer* in Two African and Two European Soils: Effects of Three Pesticides on Two Arthropods in Four Soils”. *Integrated Environmental Assessment and Management* 14, n° 1, (January 2018): 92–104. <https://doi.org/10.1002/ieam.1966>.

KLEIN, M.. Calculation of PECsoil Including Plateau Concentrations for Pesticides Dependent on FOCUS Degradation Kinetics, FKZ: 360 03 037, Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau (2008).

KWOK, Kevin WH, Kenneth MY Leung, Gilbert SG Lui, Vincent KH Chu, Paul KS Lam, David Morrirt, Lorraine Maltby, *et al.* “Comparison of Tropical and Temperate Freshwater Animal Species’ Acute Sensitivities to Chemicals: Implications for Deriving

Safe Extrapolation Factors: Tropical versus Temperate Species Sensitivity”. *Integrated Environmental Assessment and Management* 3, nº 1: (2009) 49–67. <https://doi.org/10.1002/ieam.5630030105>.

LAVELLE, P., T. Decaëns, M. Aubert, S. Barot, M. Blouin, F. Bureau, P. Margerie, P. Mora, e J.-P. Rossi. “Soil Invertebrates and Ecosystem Services”. *European Journal of Soil Biology* 42 (November 2006): S3–15. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>.

LIMA e Silva, Cláudia de, Claire van Haren, Giulia Mainardi, Winona de Rooij, Michella Ligtelijn, Nico M. van Straalen, e Cornelis A. M. van Gestel. “Bringing Ecology into Toxicology: Life-Cycle Toxicity of Two Neonicotinoids to Four Different Species of Springtails in LUFA 2.2 Natural Soil”. *Chemosphere* 263 (January, 2021): 128245. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128245>.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Available in: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/listas/Lista_produtos_vigentes_abril2014.pdf/view>. Access: June, 2021.

NATAL-da-Luz, T., Gevaert, T., Pereira, C., Alves, D., Arena, M., & Sousa, J. P. Should oral exposure in *Hypoaspis aculeifer* tests be considered in order to keep them in Tier I test battery for ecological risk assessment of PPPs? *Environmental Pollution*, 244, (2019) 871–876. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.113>

NIVA, Cintia Carla, Julia Carina Niemeyer, Flávio Manoel Rodrigues Da Silva Júnior, Maria Edna Tenório Nunes, Danilo Lourenço De Sousa, Clara Wandenkolck Silva Aragão, Klaus Dieter Sautter, Evaldo Gaeta Espindola, José Paulo Sousa, e Jörg Römbke. “Soil Ecotoxicology in Brazil Is Taking Its Course”. *Environmental Science and Pollution Research* 23, nº 11 (June, 2016): 11363–78. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6597-1>.

OECD. *Test No. 226: Predatory Mite (Hypoaspis (Geolaelaps) Aculeifer) Reproduction Test in Soil*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD, 2016. <https://doi.org/10.1787/9789264264557-en>.

OLIVEIRA Filho, Luís Carlos Iuñes, e Dilmar Baretta. “Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos?” *Scientia Agraria* 17, nº 2 (December, 2016): 21. <https://doi.org/10.5380/rsa.v17i2.48242>.

OLIVEIRA, Vanessa Bezerra de Menezes, Miriam de Oliveira Bianchi, e Evaldo Luiz Gaeta Espíndola. “Hazard Assessment of the Pesticides KRAFT 36 EC and SCORE in a Tropical Natural Soil Using an Ecotoxicological Test Battery: Hazard Assessment of Pesticides in Tropical Soil”. *Environmental Toxicology and Chemistry* 37, nº 11 (November, 2018): 2919–24. <https://doi.org/10.1002/etc.4056>.

ORGIAZZI, A. *et al.* **Global Soil Biodiversity Atlas**. Luxembourg, European Commission. 2016, 176p.

ROHR, Jason R., Christopher J. Salice, e Roger M. Nisbet. “The pros and cons of ecological risk assessment based on data from different levels of biological organization”. *Critical Reviews in Toxicology* 46, nº 9 (October 2016): 756–84. <https://doi.org/10.1080/10408444.2016.1190685>.

- SANTO, Fernanda Benedet de, Naiara Guerra, Monica Santana Vianna, João Paulo Machado Torres, Cesar Augusto Marchioro, e Júlia Carina Niemeyer. “Laboratory and Field Tests for Risk Assessment of Metsulfuron-Methyl-Based Herbicides for Soil Fauna”. *Chemosphere* 222 (May 2019): 645–55. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.145>.
- SIMON-DELISO, N., V. Amaral-Rogers, L. P. Belzunces, J. M. Bonmatin, M. Chagnon, C. Downs, L. Furlan, *et al.* “Systemic Insecticides (Neonicotinoids and Fipronil): Trends, Uses, Mode of Action and Metabolites”. *Environmental Science and Pollution Research* 22, n° 1 (January 2015): 5–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>.
- SLUIJS, J. P. van der, V. Amaral-Rogers, L. P. Belzunces, M. F. I. J. Bijleveld van Lexmond, J-M. Bonmatin, M. Chagnon, C. A. Downs, *et al.* “Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the Risks of Neonicotinoids and Fipronil to Biodiversity and Ecosystem Functioning”. *Environmental Science and Pollution Research* 22, n° 1 (January, 2015): 148–54. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3229-5>.
- SYSTAT SOFTWARE. SigmaPlot for Windows Version 11.0. Systat Software Inc., 2008.
- TRIQUES, Maria Carolina, Dayane Oliveira, Bianca Veloso Goulart, Cassiana Carolina Montagner, Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, e Vanessa Bezerra de Menezes-Oliveira. “Assessing Single Effects of Sugarcane Pesticides Fipronil and 2,4-D on Plants and Soil Organisms”. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 208 (January, 2021): 111622. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111622>.
- TURBÉ, A. *et al.* **Soil biodiversity**: functions, threats and tools for policymakers. Bio Intelligence Service, IRD, and NIOO, Report for European Commission (DG Environment). 2010.
- USEPA, 2005 USEPA SSD Generator (ver. 1). (2005).https://www.epa.gov/sites/default/files/2017-10/ssd_generator_v1.xlsm
- VAN VLAARDINGEN, P., Traas, T. P., Wintersen, A. M., & Aldenberg, T. ETX 2.0. A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data (RIVM Report No.601501028/2004). National Institute for Public Health and the Environment (2004). <http://rivm.openrepository.com/handle/10029/256981>.
- ZORTÉA, Talyta, Aleksandro Schafer da Silva, Tamires Rodrigues dos Reis, Julia Corá Segat, Alexandre Tadeu Paulino, José Paulo Sousa, e Dilmar Baretta. “Ecotoxicological Effects of Fipronil, Neem Cake and Neem Extract in Edaphic Organisms from Tropical Soil”. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 166 (December, 2018a): 207–14. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.061>.
- ZORTÉA, Talyta, Julia C. Segat, Ana Paula Maccari, José Paulo Sousa, Aleksandro S. Da Silva, e Dilmar Baretta. “Toxicity of Four Veterinary Pharmaceuticals on the Survival and Reproduction of *Folsomia candida* in Tropical Soils”. *Chemosphere* 173 (April, 2017): 460–65. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.069>.
- ZORTÉA, Talyta, Tamires Rodrigues dos Reis, Suélen Serafini, José Paulo de Sousa, Aleksandro Schafer da Silva, e Dilmar Baretta. “Ecotoxicological Effect of Fipronil and Its Metabolites on *Folsomia candida* in Tropical Soils”. *Environmental Toxicology and*

Pharmacology 62 (September 2018b): 203–9.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.07.011>.



EESC • USP