



**XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**  
**XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas**  
**XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo**  
**VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo**  
Guarapari – ES, Brasil, 13 a 17 de setembro de 2010.  
Centro de Convenções do SESC

**EFEITO DO TEBUCONAZOL NO COMPORTAMENTO DE FUGA DE *EISENIA ANDREI* EM  
ENSAIOS DE LABORATÓRIO COM SOLO NATURAL**

**Katy Cantelli(1); Andressa Cristhy Buch(2); George Gardner Brown(3); Lúcio Fábio Lourenço(4); Mauricio Ossamu Hashimoto(5)**

- (1) Mestranda em Ciências do Solo, Universidade Federal do Paraná [katy\\_cantelli\(a;yahoo.com.br](mailto:katy_cantelli(a;yahoo.com.br);  
(2) Mestre em Ciências do Solo, Universidade Federal do Paraná. [andressabuch\(a;bol.com.br](mailto:andressabuch(a;bol.com.br);  
(3) Pesquisador da Embrapa-Florestas. Estrada da Ribeira, km 111, Colombo, PR, Brasil. E, professor do Programa de Pós Graduação em Ciências do Solo, Departamento de Solos e Eng. Agrícola, Universidade Federal do Paraná [brown@czi.cnpf.embrapa.br](mailto:brown@czi.cnpf.embrapa.br); (4) Mestre em Ciências do Solo, Universidade Federal do Paraná [lucioflouren\(a~yahoo.com.br](mailto:lucioflouren(a~yahoo.com.br); (5) Mestrando em Ciências do Solo, Universidade Federal do Paraná [mauriciohashimoto\(a\).yahoo.com.br](mailto:mauriciohashimoto(a).yahoo.com.br);

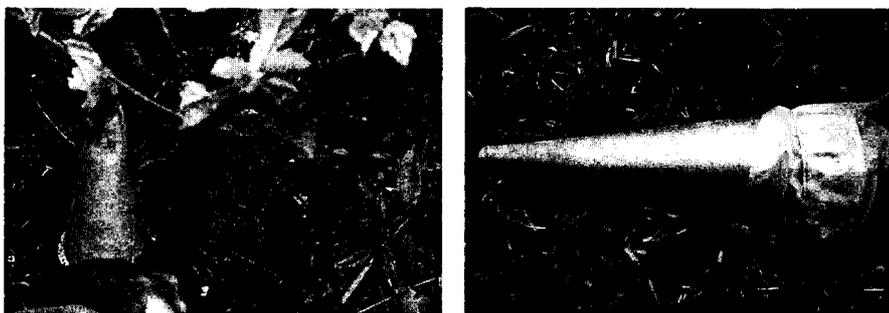
**RESUMO** - O uso indiscriminado e abusivo de agrotóxicos apresenta sérios riscos aos seres humanos e ao meio ambiente, incluindo a biota do solo. Para indicar em que medida esses produtos químicos são nocivos e como e onde manifestam os seus efeitos, pode-se fazer uso de testes ecotoxicológicos. O presente trabalho teve como objetivo averiguar os efeitos comportamentais das minhocas da espécie *Eisenia andrei* quando presente em solo natural, Latossolo Vermelho, contaminado com o fungicida tebuconazol, sob doses recomendadas para as culturas de beterraba, café, mamão e feijão, visando diminuir os fatores externos que influenciam os resultados dos testes ecotoxicológicos realizados no Brasil. Foi realizado, o teste comportamental - teste de fuga com base no protocolo ISO 17512-1 de 2007. O tebuconazol apresentou-se tóxico ou limitou a qualidade de habitat para o desenvolvimento das minhocas nas concentrações de 2,0 mg i.a. kg<sup>-1</sup> de solo. A concentração mediana efetiva (CE<sub>50</sub>) foi de 0,85 mg i.a. kg<sup>-1</sup> de solo.

**Palavras-chave:** agrotóxico, minhoca, teste ecotoxicológico

**INTRODUÇÃO** - A contaminação de solos por agrotóxicos, advinda da crescente produção agrícola é hoje uma das maiores preocupações a nível ambiental, consistindo na presença indevida no solo, de elementos químicos estranhos, de origem humana, que prejudicam as formas de vida e o seu

desenvolvimento regular. A utilização de organismos terrestres para avaliar a qualidade de solo contaminado com agrotóxicos tem sido cada vez mais freqüente (Silva, et al., 2007). Devido a grande sensibilidade a pequenas alterações ambientais, minhocas podem ser bioindicadoras bastante representativas para retratar as condições do solo, sendo ainda animais facilmente criados em laboratório propiciando estudos ecotoxicológicos (Andréa et al., 2004; Brown, et al., 2006; Sisinnio et al., 2006). As minhocas têm papel destacado na formação do solo, do húmus e de agregados de solo, no melhoramento da estrutura, na fertilidade (Papini, 2001), na porosidade e na capacidade de infiltração, drenagem e retenção de água, ar e também no transporte de microrganismos e nutrientes do solo por meio dos canais formados por sua escavação e seus deslocamentos no solo (Price & Gordon, 1999). Ao escavar e ingerir solo ou serapilheira contaminados, podendo estar presente na solução do solo ou adsorvidos nas partículas minerais e na matéria orgânica as minhocas entram em contato com contaminantes no solo, podendo se intoxicar, morrer ou sobreviver, incorporar e até bioacumular esses poluentes em seus tecidos (Cortet et al., 1999; Burger, 2006). Sendo assim, podem representar um perigo para seus predadores, contaminando a teia trófica do solo e do ecossistema.

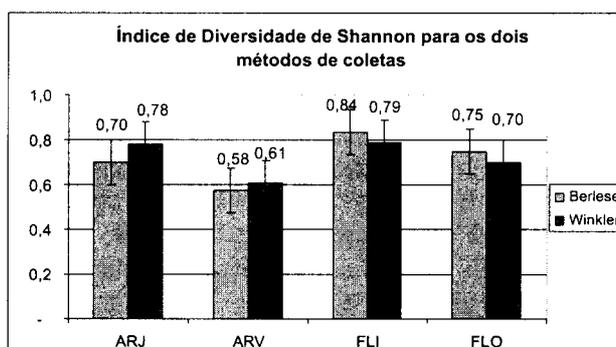
No Brasil os testes ecotoxicológicos com organismos do solo são incipientes, e baseados em protocolos e normativas internacionais como os da



**Figura 1:** Extração de amostra utilizando funis de Berlese- Tullgren !Amostra embalada para envio a aparelho de Berlese-Tullgren no Laboratório de Solos da Embrapa Florestas. Fotos: M. Silverio e W. Maschio.



**Figura 2:** Winkler - LaboratÓrio de Solos da Embrapa Florestas. Fotos: M. Gioppo.



**Figura 3:** Índice de Diversidade de Shannon para os dois métodos de coleta.

**Tabela 1:** Média do número de indivíduos coletados, riqueza de grupos taxonômicos e Índice de Diversidade de Shannon, obtidos por dois métodos de coleta (Funil de Berlese- Tullgren e Winkler).

Tratamentos	método Berlese-Tullgren			método Winkler		
	Nº de indivíduos	Riqueza de grupos	Índice de Shannon	Nº de indivíduos	Riqueza de grupos	Índice de Shannon
ARJ	21,63	12	0,70	37,00	14	0,78
ARV	27,13	10	0,58	109,67	11	0,61
FLI	20,50	15	0,84	99,00	17	0,79
FLO	22,72	15	0,75	51,33	13	0,70

ISO (Organização internacional de padronização), que foram escritas para países de clima temperado. Em testes que utilizam minhocas como bioindicadoras da qualidade de solo, é recomendado pela ISO uso da espécie *Eisenia fetida* e *E. andrei* Bouché (1972) como espécies padrão.

Alguns testes ecotoxicológicos servem para avaliar a qualidade do solo, pelo comportamento de alguns animais da biota do solo, como as minhocas, testadas por repelência a determinadas substâncias químicas. Proposto como uma alternativa rápida e fácil para ensaios ecotoxicológicos, o teste de fuga visa determinar a biodisponibilidade de contaminantes no solo para as minhocas, sendo um teste mais sensível do que testes agudos - teste de mortalidade e testes crônicos - teste de reprodução, pois pode evidenciar uma melhor resposta quanto a sensibilidade das espécies (Garcia et al., 2008). A resposta da toxicidade a diferentes contaminantes varia entre regiões temperadas e tropicais, pela sensibilidade dos organismos-testes de cada região ser diferente. (Niemeyer et al., 2007).

Fungicidas como o tebuconazol são constantemente utilizados em demasia em produções agrícolas, nas culturas de aveia, cevada, alho, batata, cebola, café, frutíferas e olerícolas. Esse agrotóxico enquadra-se na classe toxicológica I, sendo considerado extremamente tóxico para o ser humano, apresentando tarja vermelha no produto comercial, segundo a lei federal n.7802/89 sobre agrotóxicos (Brasil, 1989).

O presente trabalho teve como objetivo averiguar os efeitos comportamentais das minhocas da espécie *Eisenia andrei* quando presente em solo natural, Latossolo Vermelho, contaminado com o fungicida tebuconazol, sob doses recomendadas para as culturas de beterraba, café, mamão e feijão, visando diminuir os fatores externos "que influenciam os resultados dos testes ecotoxicológicos realizados no Brasil.

**MATERIAL E MÉTODOS** - O teste foi conduzido em laboratório da Universidade Federal do Paraná - UFPR. Para a execução do teste utilizaram-se amostras de solo classificadas como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 2006), coletadas a uma profundidade de 0-20 em em área de mata nativa do Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR do município de Ponta Grossa-Paraná. O solo coletado foi seco ao ar, peneirado em malha de 5 mm e desfaunado sob três ciclos de congelamento e descongelamento conforme Da Luz, et al. (2004). As minhocas da espécie *Eisenia andrei*, utilizadas nos ensaios foram coletadas no Centro Paranaense de Referência em Agroecologia ~ CPRA situado no município de Pinhais-Paraná.

O teste de fuga foi executado conforme o

protocolo da ISO 17512-1 (2007). Para o teste foi utilizado o agrotóxico tebuconazol de marca comercial Folicur® 200 EC da Bayer. O ensaio foi conduzido com cinco repetições e seis tratamentos de concentrações (0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0 mg i.a. kg' de solo) baseado nas doses recomendadas para as culturas de beterraba, café, mamão e feijão.

O experimento consistiu em expor as minhocas simultaneamente a duas amostras de solo em um mesmo recipiente, porém separados por uma divisória de papelão (por exemplo), formando dois compartimentos, de um lado 300 g de solo-teste (solo amostrado acrescido de determinada concentração do fungicida) e de outro 300 g de solo controle (solo amostrado sem contaminação) o objetivo foi avaliar o comportamento de fuga das minhocas, que estavam no recipiente. Depois que as amostras de solo foram arrumadas no recipiente, o divisor foi retirado formando uma linha onde então foram colocadas dez minhocas adultas de *Eisenia andrei*. O teste teve duração de 48 horas, à temperatura de  $20 \pm 2$  DC, com iluminação contínua de 450 lux e ciclos de claro/escuro de 16 a 8 horas. A capacidade de retenção de água do solo foi de 50%. As minhocas não foram alimentadas durante o experimento. No final do teste foram quantificados o número de minhocas vivas e mortas em cada seção do solo, e a localização das mesmas no solo (no contaminado ou no sem contaminação).

O valor da concentração mediana efetiva ( $CE_{50}$ ) com 95% de confiabilidade foi determinado através do método Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al., 1977). A análise de variância (ANOVA), de significância e das concentrações CENO concentração mais elevada sem efeito observável, e a CEO - concentração mais baixa com efeito observável, foram determinadas através do teste de Fisher (Software 50-50 MANOVA).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO** - O valor da concentração mediana efetiva ( $CE_{50}$ ) foi de 0,85 mg i.a. kg" de solo, indicando o comportamento de fuga superior a 50% dos animais nas concentrações acima desse valor. A concentração mais elevada sem efeito observável (CENO) foi a de 0,5 mg i.a. kg' de solo e a concentração mais baixa, com efeito observável (CEO) foi de 0,75 mg i.a. kg' de solo. A concentração recomendada na bula do produto comercial para as culturas (0,5 mg i.a. kg' de solo) não aferiu nenhuma resposta de fuga sobre os animais testados, evidenciando resposta de fuga apenas nas concentrações acima das recomendadas comercialmente. Quando a resposta de fuga for superior a 80% considera-se, segundo o protocolo da ISO 17512-1 (2007), o solo como tóxico ou com baixa qualidade (função de habitat limitada) (Fig 1).

Até o momento nenhum trabalho foi realizado para avaliar o tebuconazol em teste de fuga com minhocas, existindo poucos trabalhos com esse agrotóxico. Respostas de minhocas da espécie *E. foetida* acima de 50% de letalidade ou de efeito em testes agudos e crônicos, (Potter et al., 1994), foram observadas somente com concentrações tóxicas superiores a 500 mg i.a. kg<sup>-1</sup> de solo. Estudos com outros grupos de fungicidas além dos triazóis, como as dos benzimidazol (carbendazim), isoftalonitrila (clorotalonil) indicam que há uma correlação entre a toxicidade humana e a animal, condizente com as classes toxicológicas presente nas bulas dos produtos comerciais. No presente ensaio, as concentrações de tebuconazol usadas comercialmente não resultaram em efeitos negativos no comportamento das minhocas. Contudo, em concentrações maiores, pode haver comportamento de fuga, e com o uso repetitivo, poderia haver complicações para as minhocas, mas são necessários ainda ensaios de mortalidade e de bio-acumulação para confirmar essa hipótese.

**CONCLUSÕES** - Nas concentrações testadas de tebuconazol, a concentração recomendada do produto comercial para aplicação em produções agrícolas não representou comprometimento na qualidade do solo, quando avaliado pelo teste comportamental de fuga, utilizando a espécie *E. andrei*.

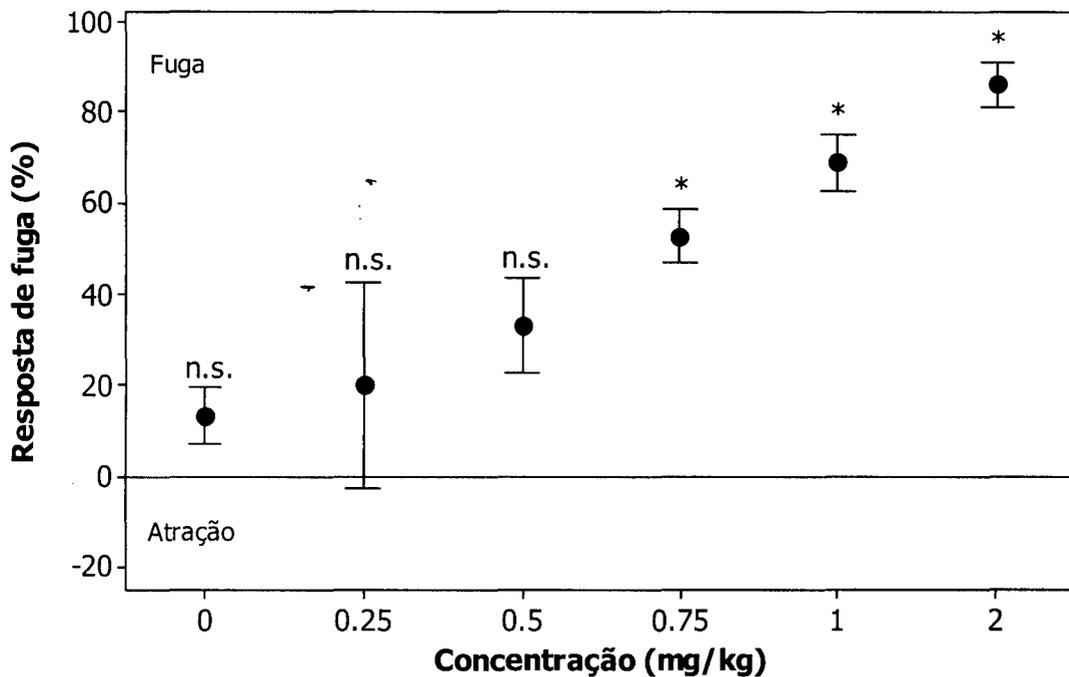
#### REFERÊNCIAS -

- ANDRÉA, M. M.; PAPINI, S.; PERES, T. B.; BAZARIN, S.; MATALLO, M. B. Glifosato: Influência na bioatividade do solo e ação de minhocas sobre sua dissipação em terra agrícola. *Planta Daninha*, Viçosa, 22 (1): 95-100, 2004.
- BOUCHÉ, M. B. Lombriciens de France. *Écologie et systématique*. I.N.R.A Ann. Zoology and Ecology and Animal (no hors-serie), 72 (2): 671 p., 1972.
- BRASIL, Lei Federal de agrotóxicos n. 7802 de 1989.
- BROWN, G. G.; OLIVEIRA, L. I.; KORASAKI, V.; SANTOS, A A DOS. Biodiversidade como bioindicadora da qualidade d,9 solo no Paraná. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 2006. (Embrapa Soja. Documento, 308).
- BURGER, I. Bioindicators: types, development, and use in ecological assessment and research. *Environmental Bioindicators*, 1: 22-39, 2006.
- CORTET, J., VAUFLERY, AG., BALAGUER, N. P., GOMOT, L., TEXIER, C., CLUZEAU, D. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. Journal Soil Biology*, 35 (3): 115-134, 1999.
- EMBRAP A - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 2ª ed. Rio de Janeiro, 2006.
- GARCIA, M. V. B.; ROMBKE, I.; BRITO, M. T.; SCHEFFCZYK, A Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. *Environmental Pollution*, 153: 450-456, 2008.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*, 11(7): 714-719,1977.
- ISO - International Organization for Standardization. Soil quality - Avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behaviour - Part 1: Test with earthworms (*Eisenia foetida* and *Eisenia andrei*). ISO 17512-1. Geneva, Switzerland, 2007.
- LUZ, T. N.; RIBERIA, R e SOUZA, I. P. Avoidance tests with collembola and earthworms as early screening tools for site-specific assessment of polluted soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 2004.
- NIEMEYER, I. C.; SILVA, E. M.; SOUSA, I. P. Desenvolvimento de um esquema para avaliação de risco ecológico em ambientes tropicais: Estudo de caso da contaminação por metais em Santo Amaro da Purificação, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira da Sociedade de Ecotoxicologia*, 2 (3): 263-267,2007.
- PAPINI, S.; ANDRÉA, M. M. Dissipação de simazina em solo por ação de minhocas (*Eisenia foetida*). *Revista Brasileira de Ciências do solo*, 25: 593-599,2001.
- POTTER, D. A; SPICER, P.G.; REDMOND, C T.; POWELL, A I. Toxicity of pesticides to earthworms in Kentucky bluegrass turf. *Bulletin of Environmental Conatmination and Toxicology*, 52 (2): 176-181, 1994.
- PRICE, G. W.; GORDON, A M. Spatial and temporal distribution of earthworms in a temperate

intercropping system in Southern Ontario, Canada. *Agroforestry Systems*, 44 (2): 141-149, 1999.

SILVA, i.. CASALINHO, H.VERONA, L.; SCHWENGBER, 1. Avaliação da mesofauna (colêmbolos e ácaros) do solo em agroecossistemas de base familiar no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 2 (2), 2007.

SISINNO, C. L. S.; BULUS, M. R; RIZZO, A C; MOREIRA, J. C. Ensaio de comportamento com minhocas (*Eisenia foetida*) para avaliação de áreas contaminadas: resultados preliminares para contaminação por hidrocarbonetos. *Revista da Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia*, 1 (2): 41-44,2006.



**Figura 1.** Resposta de fuga ou atração para a espécie *Eisenia andrei*, em solo natural, Latossolo Vermelho, contaminado com tebuconazol. Valores médios e desvio padrão em barras, Teste de Fisher,  $p > 0,05$ ; \* estatisticamente significativo, n.s. = não significativo.

**Tabela 2:** Número de indivíduos e percentual relativo dos grupos taxonômicos mais relevantes no método de coleta Funil de Berlese-Tullgren.

Método de coleta funil de Berlese-Tullgren

Tratamento	Collembola		Hymenoptera		Coleoptera		Acari		Isopoda		Outros*		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
FLO	11	51,4	3	12,7	2	8,1	5	22,5	0	1,7	1	3,5	22
ARJ	4	18,4	5	25,2	5	25,2	4	18,4	1	6,1	1	6,7	20
ARV	7	25,3	2	5,5	1	3,2	15	54,4	1	1,8	3	9,7	27
FLI	3	17,8	6	31,6	1	2,6	6	31,6	1	2,6	3	13,8	19

\* Agrupados: Diplopoda, Estafilínídeo, Aracnídeo, Hemiptera, Enquitreídeo, Homoptera, larvas de Coleópteras, Chilopoda, Amphipoda, Oligiquetas, moluscos e outros.

**Tabela 3:** Número de indivíduos e percentual relativo dos grupos taxonômicos mais relevantes no método de coleta Winkler.

Tratamento	Collembola		Hymenoptera		Coleoptera		Acari		Isopoda		Outros*		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
FLO	25	48,1	7	14,3	3	5,2	11	21,4	0	0,0	6	11,0	51
ARJ	3	9,0	17	46,8	2	4,5	2	4,5	5	14,4	8	20,7	37
ARV	46	41,6	28	25,2	2	2,1	28	25,2	0	0,3	6	5,5	110
FLI	19	19,5	4	4,4	5	4,7	48	48,1	0	0,3	23	22,9	99

\* Agrupados: Diplopoda, Estafilínídeo, Aracnídeo, Hemiptera, Enquitreídeo, Homoptera, larvas de Coleópteras, Chilopoda, Amphipoda, Oligiquetas, moluscos e outros.