

ALINE DE LIZ RONSANI MALFATTI

**EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE HERBICIDAS E INSETICIDAS
NEONICOTINÓIDES NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Dr. Osmar Klauber Filho

LAGES, SC
2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo (a) autor (a), com
auxílio do programa de geração automática da Biblioteca**

Malfatti, Aline de Liz Ronsani
Efeitos ecotoxicológicos de herbicidas e inseticidas neonicotinóides
na germinação de esporos de fungos micorrízicos arbusculares / Aline
de Liz Ronsani Malfatti. Lages - 2019.
47 p.

Orientador: Osmar Klauberg Filho
Dissertação (mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência do Solo, Lages, 2019.

1. Fungos micorrízicos arbusculares 2. Ecotoxicologia 3. Efeito de
herbicida 4. Efeito de inseticidas. I. Filho, Klauberg Osmar. IV.
Título.

S
e
t
o
r
i
a
l
d
o
C
A
V

ALINE DE LIZ RONSANI MALFATTI

**EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DE HERBICIDAS E INSETICIDAS
NEONICOTINÓIDES NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

Banca Examinadora

Orientador/Presidente:

Prof. Dr. Osmar Klauberg Filho
(UDESC – Lages – SC)

Membro externo:

Prof. Dr^a. Sonia Purin da Cruz
(UFSC – Curitibanos – SC)

Membro interno:

Prof. Dr. Marcelo Alves Moreira
(UDESC – Lages – SC)

Lages, SC, 11/12/2019

RESUMO

MALFATTI, Aline de Liz Ronsani. **Efeitos ecotoxicológicos de herbicidas e inseticidas neonicotinóides na germinação de esporos de fungos micorrízicos arbusculares.** 2019. 47p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) –Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2019.

Acetoxicologia terrestre é um método eficiente para estimar o perigo potencial de substâncias. Dentro da ecotoxicologia terrestre, temos os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) que constitui grupo funcional chave no solo. Estes fungos são responsáveis por diversas funções ecossistêmicas de suporte a vida terrestre. Contudo, realizou-se o presente estudo com os objetivos de avaliar as doses de risco ecotoxicológico dos herbicidas Glifosato, Diuron e dos inseticidas neonicotinoides Imidacloprid e Thiametoxam sobre a fase pre-simbótica (germinação de esporos) dos FMAs utilizando o protocolo e as espécies de FMAs propostas nele por Mallmann et al (2018). Os herbicidas e inseticidas foram testados em 8 tratamentos (0, 10, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 mg i.a kg⁻¹ de substrato seco), nas espécies *Rhizophagus clarus* (isolado RJN102A) e *Gigaspora albida* (isolado SCT200A) em delineamento completamente casualizado (DIC) com 6 repetições por tratamento. Em cada unidade experimental (UE), foram inseridos 30 esporos. A germinação dos esporos de *G. albida*, quando estes foram expostos ao Glifosato, apresentou inibição máxima de 5,2% em relação ao controle, na maior dose aplicada (1000 mg.kg⁻¹), entretanto os dados não apresentaram diferenças significativas. O mesmo produto comercial quando em contato com os esporos de *R. clarus*, reduziu a germinação em até 30% na maior dose testada. A partir da dose de 100 mg.kg⁻¹ os valores foram significativamente menores em relação ao controle. Para o segundo produto comercial a base do princípio ativo Diuron, a germinação dos esporos de *G. albida* foi reduzido em 8%, o que ocorreu na dose 1000 mg.kg⁻¹. Apenas a maior dose apresentou resultado significativo, quando comparado com o controle. A germinação dos esporos da espécie *R. clarus*, foi inibida em 65% na maior dose testada do produto comercial a base de Diuron. sendo que, a partir da dose 50 mg.kg⁻¹ os resultados foram significativos estatisticamente. Nas condições testadas neste estudo, ambos princípios ativos, comprometeram a germinação dos esporos de *R. clarus* na maior dose testada 1000 mg.kg⁻¹. A germinação dos esporos de *Gigaspora albida*, expostos ao inseticida Imidacloprid na dose zero (controle) apresentou uma germinação de 85%, entretanto a inibição da germinação chegou a 90% na maior dose testada de Imidacloprid (1000 mg.kg⁻¹). Já os esporos da espécie *Rhizophagus clarus* na dose controle foi de 87%. Houve redução de 50% na germinação dos esporos na menor dose testada (10 mg.kg⁻¹), já na maior dose do inseticida Imidacloprid a germinação foi inibida em 62%. Na espécie *G. albida* a germinação no tratamento controle foi de 84%, contudo quando exposto ao Thiamethoxam a maior inibição da germinação dos esporos foi na dose 1000 mg.kg⁻¹ com 69%. A espécie *R. clarus* a média de germinação no controle foi de 84%, contudo quando exposto ao Thiamethoxam a inibição chegou a 69% na maior dose (1000 mg.kg⁻¹). Ensaios adicionais com diferentes isolados são recomendados, pois complementam a curva de sensibilidade das espécies aos contaminantes.

Palavras chave: 1. Ecotoxicologia terrestre; 2. Fungos Micorrízicos Arbusculares; 3. Herbicidas; 4. Inseticidas neonicotinóides.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	6
2. HIPÓTESE	Error! Bookmark not defined.
3. OBJETIVO GERAL	Error! Bookmark not defined.
<i>Objetivos específicos</i>	Error! Bookmark not defined.
4. REFERENCIAL TEÓRICO	Error! Bookmark not defined.
<i>Fungos micorrízicos arbusculares e sua importância ecológica</i>	Error! Bookmark not defined.
<i>Efeito dos agrotóxicos sobre os fungos micorrízicos arbusculares</i>	Error! Bookmark not defined.
5. MATERIAL E MÉTODOS	Error! Bookmark not defined.
<i>Critérios de validação</i>	Error! Bookmark not defined.
6. RESULTADOS	Error! Bookmark not defined.
7. DISCUSSÃO.....	Error! Bookmark not defined.
8. CONCLUSÃO	Error! Bookmark not defined.
9. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	Error! Bookmark not defined.
10. INTRODUÇÃO.....	Error! Bookmark not defined.
11. MATERIAL E MÉTODOS.....	Error! Bookmark not defined.
<i>Critérios de validação</i>	Error! Bookmark not defined.
12. RESULTADOS	Error! Bookmark not defined.
13. DISCUSSÃO	Error! Bookmark not defined.
14. CONCLUSÕES.....	Error! Bookmark not defined.
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Error! Bookmark not defined.
15. CONSIDERAÇÕES FINAIS	Error! Bookmark not defined.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O ano de 1962 tornou-se um marco, onde iniciou-se o questionamento da responsabilidade da ciência e os limites do progresso tecnológico. A autora Rachel Carson lançou o livro *Primavera silenciosa*, neste livro a autora escreve sobre os efeitos de pesticidas em plantas e pequenos animais, relatando que os pesticidas seriam prejudiciais à saúde humana, além de alterar processos celulares de plantas e reduzir a população de pequenos animais (BONZI, 2013). O principal pesticida abordado no livro era o DDT (diclorodifeniltricloroetano). Após a segunda guerra mundial, o DDT era amplamente recomendado pelas suas propriedades inseticidas. Estima-se que em 1950 cada cidadão norte americano ingeriu 0,28mg por dia deste pesticida (AMATO, 2002). A publicação de *Primavera silenciosa* desencadeou um grande debate, que culminou em mudanças em todo mundo. Contudo, foi em 1969 que surgiu primeiramente o termo ecotoxicologia por Truhalt, sendo introduzida pela crescente preocupação do efeito dos compostos químicos sobre as espécies (POMPÊO et al, 2015). A ecotoxicologia é definida como a ciência que estuda o efeito de substâncias químicas em organismos vivos. Na década de 1930 foram realizados os primeiros testes de toxicidade em organismos, tendo como objetivo avaliar o efeito de substância química e despejo líquido em organismos aquáticos (WALKER, 2006).

Atualmente existem inúmeros estudos que relatam o efeito de diferentes moléculas químicas em organismos não alvo. Para realização destes testes existem normativas e protocolos que estabelecem como devem ser realizados os testes ecotoxicológicos, para que tenha maior confiabilidade nos resultados obtidos. As espécies avaliadas nos testes são determinadas por alguns fatores, como: sensibilidade às substâncias tóxicas, facilidade de ser encontrado no ambiente, apresentarem significativa importância ecológica e ter conhecimento prévio sobre sua fisiologia, hábitos alimentares e serem de fácil cultivo (SUNDFELD, 2010).

Com espécies que se enquadram nos quesitos citados, pesquisadores em nível internacional propuseram o biomonitoramento, que é o monitoramento da qualidade do solo através dos organismos vivos que podem ser utilizados em laboratório em testes de toxicidade, ou observados em seu ambiente natural. Estes organismos foram considerados indicadores das condições ambientais (GIOVANNETTI et al, 2006).

Dentre as substâncias que podem causar impacto nos ecossistemas, os agrotóxicos têm se tornado uma preocupação, pois desde 2009 o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos e o principal produtor agrícola (MELLO et al, 2019).

Por si só, certas características intrínsecas aos solos, como o teor de nutrientes, pH, temperatura e umidade interferem diretamente na degradação dos agrotóxicos (WEBER et al., 1993) e esse processo pode ser auxiliado pelos microrganismos do solo. Contudo, aspectos da relação da biota com os agrotóxicos ainda não são completamente conhecidos. Mesmo auxiliando na degradação de alguns princípios ativos, a biota do solo também sofre com a toxicidade dos agrotóxicos e fertilizantes (VEIGA, 2007).

Por estarem presentes nos ecossistemas agrícolas, os Fungos Micorrízicos Arbusculares podem ser impactados pela utilização de insumos, mesmo sendo considerados organismos não alvo, e podem, por isso, servir como bioindicadores e contribuir com informações sobre efeitos de substâncias químicas utilizadas em sistemas agrícolas. Com isto, em fevereiro de 2017 a European Food Safety Authority (EFSA) lançou um parecer técnico onde os FMAs são incluídos na lista de organismo não alvo nos objetivos específicos de proteção em análise de risco de agrotóxicos no solo (EFSA, 2017). A utilização desses organismos como indicadores do efeito de poluentes ainda é recente e existem poucos estudos sobre o tema (PEREIRA et al., 2014).

Com isto, a caracterização química por si só não permite conhecer os perigos causados a vida de organismos vivos, assim para realizar uma avaliação mais ampla é necessário fazer uso de ferramentas ecotoxicológicas. A ecotoxicologia surgiu como uma ferramenta eficiente que foi crucial para surgimento de estudos não só em ambientes aquáticos como também no solo. Grande quantidade de pesticidas adicionado na semente entram em contato direto com a rizosfera da planta, embora esses agrotóxicos sejam direcionados e transmitidos pelo solo a herbívoros, no caso de inseticidas, não há como controlar seus efeitos para organismos não alvo (BAIRD et al, 1994).

A ecotoxicologia terrestre é um método eficiente para estimar o perigo potencial de substâncias (TEREKHOVA, 2011). É através dos resultados destas doses iniciais que é determinado se a substância deve continuar ou não, sendo avaliada em testes de semi-campo e campo.

Dentro da ecotoxicologia terrestre, os FMAs constituem um grupo funcional chave no solo. Estes fungos são responsáveis por diversas funções ecossistêmicas de suporte a vida terrestre. Os FMAs auxiliam as plantas na absorção de nutrientes e água, favorecendo a

estabilidade de agregados (BARROS, 2018), sequestro de carbono (DELA PICCOLLA, 2015), regulação biológica, auxiliando plantas na tolerância a patógenos, tolerância a contaminação do solo (SANTOS, 2018).

Como citado, estes organismos são de suma importância dentro do ecossistema, os FMAs proveem em sua simbiose com as plantas funções que são chave para sua sobrevivência. Contudo, há diversos estudos que comprovam que substâncias químicas presente no solo pode comprometer a sobrevivência destes organismos no solo (MALLMANN, 2019; BUYSENS, 2015), e concomitantemente as plantas que dependem dos FMAs para sua sobrevivência. Devido a isto torna-se crucial conhecer mais sobre o efeito de agrotóxicos que são comumente utilizados na agricultura sobre os FMAs.

Existem diversos protocolos para avaliação ecotoxicológica de substâncias sobre grupos de organismos não alvo do solo, como minhocas (CARNIEL, 2015; PANIAGO, 2016; CARVALHO, 2016), enquitreídeos e colembolos (CARNIEL, 2015; OLIVEIRA FILHO, 2017; ASSIS, 2015). Mais recentemente Mallmann et al., (2019) modificou este protocolo para seu uso na avaliação do risco de agrotóxicos. Foi testado o protocolo proposto para o inseticida clorpirifós e os fungicidas mancozeb e clorotalonil sobre a germinação de esporos, fase assimbiótica do ciclo de vida dos FMAs.

Pouco se conhece sobre o efeito de inúmeras outras moléculas e seus produtos comerciais sobre o ciclo de vidas dos FMAs. Atualmente os herbicidas constituem importante grupo de agrotóxicos usados com frequência na agricultura. Dentre estes, o glifosato é o líder de vendas, sendo responsável por cerca de 1,2 bilhão por ano em vendas. Seu uso mundialmente pode ser tanto para áreas agrícolas como não agrícolas. O glifosato é um produto sistêmico e pós emergente. O resíduo da molécula do glifosato pode percorrer no ambiente, podendo ocorrer volatilização direta ou co-evaporação indo para atmosfera, além de poder-se associar a outros materiais e ser dispersado pelo vento, além de ser carregado pela água podendo entrar no solo e atingir lençol freático (MOURA, 2009).

O herbicida Diuron também é classificado como sistêmico, podendo ser usado pré e pós emergência. A venda deste herbicida é dada em suspensão concentrada e possui eficiência no controle de plantas invasoras. Matalloet al. (2003) comprovou em seu estudo que a molécula de Diuron é transpassada dentro solo, podendo assim contaminar não só a água, mas também organismos presentes no solo. Considerando-se que os herbicidas glifosato e Diuron são amplamente usados mundialmente, é de suma importância conhecer a sua interação com organismos não alvo. O efeito destes herbicidas sobre os FMAs já foi estudado anteriormente

(FARIA, 2018; REIS, 2010; MAKARIAN, 2016), porém em testes ecotoxicológicos na fase assimbiótica destes organismos ainda não há relatos na bibliografia. Com isso, este estudo visa elucidar sobre o efeito deste herbicida nos FMAs e contribuir para que estudos posteriores em outras fases do ciclo de vida sejam realizados.

Da mesma forma os inseticidas neonicotinóides são comumente usados na agricultura, sendo que sua aplicação se dá no tratamento de sementes de espécies vegetais desde 1920 (LAMBERT et al., 1926). Estes inseticidas são usados para proteção inicial das sementes ou mudas contra patógenos e outras pragas. Além disso são também usados no controle de insetos por aspersão em diversas lavouras no Brasil e outros países do mundo. O imidacloprid é um inseticida sistêmico de contato e ingestão que pertence ao grupo dos Neonicotinóides. Dentro deste mesmo grupo o Thiametoxam possui também ação sistêmica (DE URZEDO 2006). Ambos inseticidas são amplamente recomendados na agricultura e possuem nível de toxicidade III. Pouco se sabe sobre o efeito da molécula destes inseticidas em organismos não alvo. Não foi encontrado estudos de avaliação do efeito destes inseticidas, que tenham como base o protocolo ISO 10832:2009 para os FMAs. Contudo, este estudo tem como propósito elucidar sobre o efeito destas moléculas sobre os FMAs. Sabe-se que agrotóxicos de ação sistêmica possuem maior efeito sobre organismos não alvo como os FMAs, pois agem diretamente sobre as estruturas fúngicas associadas ao córtex radicular, com isso as hifas extrarradiculares dos FMAs podem ser comprometidas por agrotóxicos com modo de ação sistêmica.

Considerando a importância dos FMAs, e a necessidade de avaliar e os efeitos de herbicidas e inseticidas neonicotinóides no ciclo de vida dos FMAs, realizou-se o presente estudo com os objetivos de avaliar as doses de risco ecotoxicológico dos herbicidas Glifosato, Diuron e dos neonicotinóides Imidacloprid e Thiametoxam sobre a fase pré-simbótica (germinação de esporos) dos FMAs utilizando o protocolo e as espécies de FMAs propostas nele por Mallmann et al (2018).