

## Uso de testes de fuga com minhocas *Eisenia andrei* E *Eisenia fetida* para identificação da toxicidade de agrotóxicos no Brasil: uma breve revisão da literatura

Use of avoidance tests with earthworms *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* for identification of pesticides toxicity in Brazil: a brief review of the literature

Amanda Rampelotto de Azevedo<sup>1</sup> e Mariana Vieira Coronas<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Laboratório de Processos Biológicos (LAPROBIO), Universidade Federal de Santa Maria - Campus Cachoeira do Sul, Cachoeira do Sul, Brasil  
amanda-azv@hotmail.com; mariana.coronas@ufsm.br

### Resumo

O comércio de agrotóxicos no Brasil em 2017 foi de 539.944,95 toneladas de ingredientes ativos. Testes que avaliam o comportamento de fuga/evitamento em fauna de solo, como minhocas, indicam a perda de função de habitat do solo e os riscos da aplicação desses agrotóxicos no ambiente. Esses organismos possuem quimiorreceptores e tubérculos sensoriais no corpo, o que os tornam altamente sensíveis a substâncias químicas presentes no ambiente. O objetivo do presente estudo foi fazer uma revisão da literatura sobre a utilização do ensaio de fuga com minhocas das espécies *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei* na avaliação de agrotóxicos no Brasil. As bases de dados PubMed, Web of Science e Google Acadêmico foram utilizadas para a pesquisa bibliográfica usando os termos: earthworm, avoidance, Brazil ou agrotóxicos, teste de fuga/evitamento, *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*. Foram encontrados 13 estudos, totalizando 25 avaliações e 17 ingredientes ativos, que avaliaram o comportamento de fuga em minhocas *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei* no Brasil. O agrotóxico mais testado, com oito avaliações, foi o herbicida Glifosato de maior comercialização no Brasil. O comportamento de fuga foi observado em 17 avaliações e nas demais não foram observadas. A utilização desse teste com minhocas é uma ferramenta sensível para avaliação dos riscos ecotoxicológicos dos agrotóxicos.

**Palavras-chave:** Ecotoxicologia; Solos; Evitamento

### Abstract

The trade of pesticides in Brazil in 2017 was 539,944.95 tons of active ingredients. Tests that evaluate the avoidance behavior in soil fauna, such as earthworms, indicate the loss of soil habitat function and the risks of these pesticides to the environment. These organisms have chemoreceptors and sensory tubers in the body which make them highly sensitive to chemicals in the environment. The objective of the present study was to review the literature on the use of the *Eisenia fetida* and *Eisenia andrei* earthworm avoidance test in the evaluation of pesticides in Brazil. The databases PubMed, Web of Science and Google Scholar were used for bibliographic research using the terms: earthworm, avoidance, Brazil or agrotóxicos, teste de fuga/evitamento, *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*. We found 13 studies, totaling 25 evaluations and 17 active ingredients, which evaluated the avoidance behavior in *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei* in Brazil. The most tested pesticide, with eight evaluations, was the Glyphosate herbicide which is the most commercialized in Brazil. The avoidance behavior was observed in 17 evaluations. The use of this earthworm avoidance test is a sensitive tool to evaluate the ecotoxicological risks of pesticides.

**Keywords:** Ecotoxicology; Soils; Avoidance

## 1 Introdução

### 1.1. Agrotóxicos no Brasil

A comercialização de agrotóxicos no Brasil em 2016 foi de 539.944,95 toneladas de ingredientes ativos, com uma pequena queda nas vendas comparado aos anos anteriores, mas ainda sendo o maior consumidor mundial de agrotóxicos (IBAMA, 2018). Os dez ingredientes ativos mais vendidos no Brasil são: Glifosato e seus sais, 2,4-D, Mancozeb, Acefato, Óleo Mineral, Atrazina, Óleo Vegetal, Dicloreto de Paraquate, Imidacloprido, Oxicloreto de cobre. Somente no ano de 2017 foram comercializadas 173.150,75 toneladas do herbicida Glifosato, correspondendo a mais de 32% do total de agrotóxicos comercializados (IBAMA, 2018). Por ser um produto de ampla utilização e aplicação em situações de pós-emergência das plantas infestantes em culturas, maturador de cana-de-açúcar, eliminação de soqueira no cultivo de arroz e cana-de-açúcar, em pós-emergência das plantas infestantes em florestas de eucalipto e pinus, controle da rebrota do eucalipto, dessecante nas culturas de aveia preta, azevém e soja (ANVISA, 2018), acaba tornando-se preferível para o consumidor.

Apesar de muitos desses compostos apresentarem classificação baixa de toxidez para a saúde humana, estudos apontam efeitos tóxicos de herbicidas a base de Glifosato em exposições crônicas a baixas concentrações por longos períodos (MESNAGE et al., 2015). Uma pesquisa constituída por aplicação de questionários e uma série de exames médicos resultou em um elevado percentual de agricultores com episódios agudos ou subagudos de intoxicação recente (13,7%) ou referida (11,8%) ao longo dos últimos anos e dentre os agrotóxicos mais utilizados por eles se encontravam o Mancozeb e Paraquat, ambos entre os produtos mais vendidos no país (ARAÚJO et al., 2007).

Esses compostos além de gerar efeitos adversos à saúde humana, também apresenta riscos potenciais de contaminação ambiental. Pesquisas que realizam a análise da presença de agrotóxicos em rios já vem sendo desenvolvidas com o intuito de monitorar a contaminação das águas por agrotóxicos a fim de diminuir esses impactos ambientais. Estudos indicam o aumento da intensidade do ingrediente ativo Fipronil nos rios em épocas de safra de arroz no estado do Rio Grande do Sul, cujo composto apresenta lenta degradação em água (MARCHESAN et al., 2010). A presença do pesticida Lambda-Cialotrina juntamente com mais 26 outros compostos em amostras de águas superficiais revelam a importância de se fazer a identificação dos contaminantes e realizar o monitoramento do grau de contaminação dos recursos hídricos (CABRERA et al., 2008).

Assim, a utilização em excesso e inadequada desses compostos também podem comprometer a biota do solo, pois a exposição pode levar a ingestão ou contato com contaminantes (SOUSA; ANDRÉA, 2011), ocasionando efeitos adversos a esses organismos. Diante disso, se torna interessante a utilização de testes ecotoxicológicos para diagnosticar a situação e fornecer informações viáveis quanto ao tipo de risco de exposição desses compostos (MACHADO, 2016).

### 1.2. Ensaios ecotoxicológicos na avaliação da contaminação ambiental por agrotóxicos

Ensaios com organismos terrestres, como o de mortalidade em minhocas, indicam o risco potencial desses compostos quando aplicados no solo. Estudos apontam que os organismos expostos aos reagentes químicos podem apresentar bioacumulação nos tecidos por até 30 dias após a aplicação do produto (PAPINI; ANDRÉA, 2001), bem como, alterações morfológicas como fragmentação e perda de segmentos (COSTA et al., 2015; NUNES; ESPÍNDOLA, 2012). Além das espécies de minhocas padronizadas, outros organismos são avaliados quanto a sobrevivência e/ou a reprodução e mostram o risco da aplicação desses compostos para artrópodes não-alvo na superfície do solo (CHELINHO et al., 2012).

Os ensaios ecotoxicológicos realizados em organismos aquáticos também são utilizados para avaliação da contaminação ambiental por agrotóxicos. Nesses tipos de ensaios os principais riscos de contaminação e toxicidade dos agrotóxicos surgem

de escoamento superficial para a água, resultantes de fortes chuvas após a aplicação de pesticidas (CHELINHO et al., 2012), sendo capaz de comprometer a estrutura e ecossistemas aquáticos mesmo quando aplicado na sua menor concentração (NOVELLI, 2010).

Alguns estudos ainda utilizam espécies vegetais afim de avaliar os efeitos genotóxicos dos agrotóxicos nas células vegetais. Considerando que muitos destes compostos são recomendados para o uso de horticulturas, o uso contínuo pode comprometer geneticamente a biodiversidade e a sobrevivência de populações expostas (KRÜGER 2009; VENTURA, 2004).

Insetos e animais voadores que participam diretamente no desenvolvimento de plantas, através da polinização, e na cadeia alimentar estão tendo decréscimos populacionais causados pelas aplicações de agrotóxicos. Estudos realizados com a espécie de abelha *Apis mellifera* apontam que a exposição a dosagens dos ingredientes ativos Fipronil e Piraclostrobina, isolados ou em associação, durante seis dias, afetou glândulas mandibulares e hipofaríngeas, e esses, associados, podem causar danos a manutenção de suas colônias, representando um grande risco ambiental (ZALUSKI, 2017). Além disso, os riscos de diminuição das espécies são grandes, uma vez que a quantidade de abelhas selvagens diminuiu significativamente com o aumento do uso de pesticidas em um único ano após a aplicação, enquanto a riqueza de espécies de abelhas diminuiu ao longo dos anos (PARK et al., 2015).

Os ensaios ecotoxicológicos em diferentes sistemas, organismos e compartimentos ambientais são fundamentais para avaliação da segurança ambiental dos agrotóxicos. É importante salientar que alguns produtos são reavaliados quanto a dosagem recomendada, pois as quantidades determinadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) podem ocasionar efeitos sutis aos organismos (COSTA et al., 2015).

Métodos alternativos que ajudam a identificar os níveis de toxicidade do ambiente, como os ensaios de fuga com minhocas das espécies *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida*, são essenciais para medidas de controle, avaliação e gestão ambiental pois ajudam a indicar os riscos da aplicação desses agrotóxicos no ambiente. Esse teste tem se mostrado sensível para esse tipo de avaliação, indicando a perda de função de habitat do solo, bem como as diferentes reações adversas dos invertebrados quando expostos e esses compostos químicos (NUNES; ESPÍNDOLA, 2012).

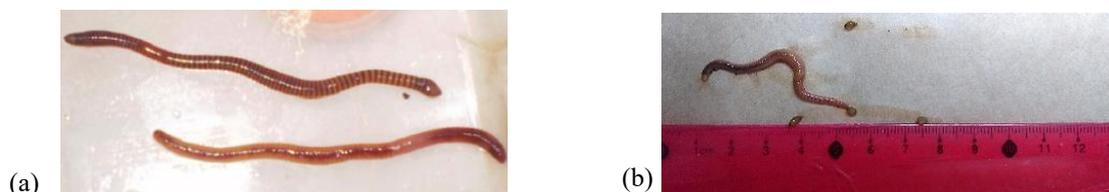
### 1.3. Ensaio de fuga com minhocas

As minhocas da espécie *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida*, ao serem submetidas as dosagens de reagentes químicos apresentaram reações como: variações na produção e peso de casulos; efeitos fisiológicos e deformações, reações comportamentais de espiralamento, mudanças na capacidade de escavação, agitação e rejeição ao solo contaminado (ANDRÉA, 2010). Os organismos não alvos, ao emitirem essas respostas, mostram a potencialidade dos efeitos desses produtos ao serem aplicados corretamente ou incorretamente no ambiente. A presença de quimiorreceptores no prostômio de minhocas e a distribuição de tubérculos sensoriais no corpo as tornam altamente sensíveis a substâncias químicas no ambiente. Essa sensibilidade, aliada à sua capacidade locomotora, permite que elas evitem ambientes quimicamente contaminados, desde que sintam os químicos específicos (REINECKE et al., 2002). Além disso, as minhocas das espécies *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei* (Figura 1) são preferíveis em teste de fuga por serem fáceis de se criar e manter em laboratório.

O princípio do teste de fuga baseia-se em dez minhocas adultas que são inseridas em um recipiente-teste de 2 seções (Figura 2), expostas ao mesmo tempo ao solo controle e ao solo contaminado ou ao solo contendo as substâncias-teste. O solo-teste e o solo-controle são colocados dentro do recipiente-teste e as minhocas podem escolher entre o solo-teste e o solo-controle. Depois do período de incubação de 48 horas o solo-teste e o solo-controle são separados pela inserção de um divisor de plástico e o número de minhocas é determinado em todas as seções dos recipientes-teste. A

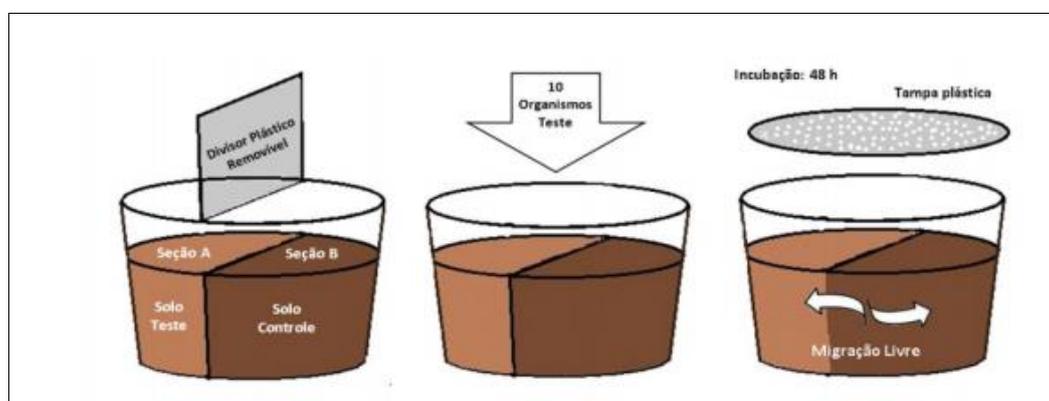
função de habitat é considerada limitada se a média das minhocas encontradas no solo-controle for superior a 80% (ABNT NBR 17512/2011).

Figura 1 – Minhocas das espécies *Eisenia fetida* (a) e *Eisenia andrei* e casulos (b)



Fontes: Nunes, 2012 (a); autoras (b)

Figura 2 – Esquema do ensaio de fuga, representando a sequência de ações em um recipiente-teste



Fonte: Candello, 2014

Para se ter uma avaliação da sensibilidade das espécies testes de laboratórios, bem como a confiabilidade dos dados de ecotoxicidade, é preciso utilizar uma substância de referência conhecida. Algumas substâncias padronizadas, atualmente recomendadas pelas normas da OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) ou da ISO (International Organization for Standardization), apresentam riscos à saúde humana (AMORIM et al., 2012). Estudos mostraram que o ácido bórico possui potencial para ser utilizado como uma substância de referência, principalmente em testes de reprodução com as espécies *E. andrei*, *Enchytraeus crypticus* e *Folsomia candida* (NIEMEYER et al, 2018).

Os solos utilizados para a realização de teste de fuga podem ser solos naturais ou solo artificial. A utilização de solo artificial tropical (SAT) é mais adequado para as condições do Brasil. O SAT é composto por 70% de areia fina, que deve ser lavada e seca, 20% de argila de caulim, 10% de pó de fibra coco e o pH deve ser ajustado para  $6,00 \pm 0,5$  (ABNT NBR 15537/2014; GARCIA et al., 2008;). A resposta de fuga diante da aplicação de Abamectina foi avaliada em solo natural simulando as condições de campo do cultivo e em solo artificial tropical, e a resposta de fuga apenas foi observada em solo artificial (NUNES; ESPÍNDOLA, 2012).

Diante da complexidade ambiental de rotas e efeitos dos contaminantes, o presente trabalho teve por objetivo fazer uma revisão da literatura sobre a utilização do ensaio de fuga com minhocas das espécies *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei* para avaliação da toxicidade ambiental de agrotóxicos no Brasil.

## 2 Metodologia

Para a realização do levantamento bibliográfico foram consultadas as bases de dados Google Acadêmico, PubMed e Web of Science em 10 de maio de 2018, sendo utilizado como ferramenta da pesquisa os termos: earthworm, avoidance, Brazil; e os termos: agrotóxicos, teste de fuga, teste de evitamento, *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*. As monografias de trabalho de conclusão de curso, dissertações e teses, resumos e trabalhos publicados em anais de eventos científicos também foram consideradas nesse levantamento na pesquisa com os termos em português. Após as buscas, os resultados foram analisados e, então, selecionados somente os estudos que foram realizados no Brasil e que utilizaram testes de fuga em minhocas da espécie *Eisenia fetida* e/ou *Eisenia andrei* em solos naturais (SN) ou em solos artificiais tropicais (SAT) avaliando agrotóxicos.

## 3 Resultados e discussão

As consultas às bases de dados resultaram em 13 estudos e 25 avaliações que utilizaram o teste ecotoxicológico de comportamento de fuga em minhocas *Eisenia fetida* e/ou *Eisenia andrei* diante da exposição à 17 ingredientes ativos de agrotóxicos no Brasil (Tabela 1). A maioria das avaliações foram realizadas em SAT e sete avaliações observaram as respostas de fuga diante a exposição ao agrotóxico tanto em SAT, quanto em SN. A espécie mais utilizada foi a *Eisenia andrei*, empregada em 80% das avaliações.

De todos os ingredientes ativos avaliados, um apresenta classificação toxicológica I (extremamente tóxico); quatro, classificação toxicológica II (altamente tóxico); seis, classificação toxicológica III (medianamente tóxico); quatro, classificação toxicológica IV (Pouco Tóxico), um deles não possui classificação nas monografias da ANVISA e outro não apresenta classificação por estar banido o uso no Brasil. A maioria dos ingredientes ativos possuem função de fungicida, seis são usados como inseticidas, e dois são herbicidas (Tabela 1).

O ingrediente ativo mais avaliado foi o agrotóxico de maior comercialização no Brasil, o herbicida Glifosato, dos quais quatro dos cinco estudos que o testaram observaram resposta de fuga em ao menos uma das concentrações ou formulações testadas (Tabela 1). Alterações significativas no comportamento das minhocas *Eisenia andrei* como ausência de movimentos e aglomeração em pontos específicos foi relatado, nas duas maiores concentrações testadas, num estudo que avaliou Glifosato em SN (MACHADO, 2016). Respostas de fuga significativa foram observadas nas maiores concentrações testadas de Glifosato em SN (MACHADO, 2016; NIEMEYER et al., 2018) e em SAT nos demais estudos (BUCH et al., 2013; TONETTI et al., 2016).

Os ingredientes ativos Carbofurano e Benomil, que atualmente não possuem autorização de uso no Brasil, apresentaram resposta de fuga significativa. O Benomil apresentou resposta de fuga a partir da concentração de 31,6 mg/kg (GARCIA et al., 2008). Para *Eisenia andrei*, a rejeição ao composto Carbofurano ocorreu na concentração de 5 mg/kg em SAT (BUCH et al., 2013). Outros estudos utilizando o ingrediente ativo Carbofurano encontraram respostas positiva de fuga desde a menor concentração utilizada, que foi de 0,5 mg/kg (FERREIRA et al.2015).

O Carbendazim e Lambda-Cialotrina apresentaram respostas significativas de fuga a partir das menores concentrações testadas, 1,0 mg/kg e 0,32 mg/kg, respectivamente (GARCIA et al., 2008). Abamectina e Carbendazim foram avaliados por dois estudos cada um e todos relataram comportamento de fuga para esses ingredientes ativos (BUCH et al., 2010; BUCH et al., 2013; FERREIRA, PAPINI; ANDRÉA, 2015; GARCIA et al., 2008; NUNES; ESPÍNDOLA, 2012). Os demais ingredientes ativos foram avaliados por um único estudo.

Tabela 1 – Estudos realizados no Brasil utilizando o teste ecotoxicológico de comportamento de fuga em minhocas *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* para avaliação da exposição a agrotóxicos

| Ingrediente Ativo       | Classificação Toxicológica | Função   | Tipo de solo | Espécie          | Resposta de fuga | Referência               |
|-------------------------|----------------------------|--|--------------|------------------|------------------|--------------------------|
| Imidacloprido           | III                        | Inseticida                                     | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Alves et al. (2011)      |
| Tiametoxam              | III                        | Inseticida                                     | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Alves et al. (2011)      |
| Captana                 | IV                         | Fungicida                                      | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Alves et al. (2011)      |
| Carboxina+tiram         | III + II                   | Fungicida + Fungicida                          | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Alves et al. (2011)      |
| Abamectina              | I                          | Acaricida, inseticida e nematocida             | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Buch et al. (2010)       |
| Carbendazim             | III                        | Fungicida                                      | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Buch et al. (2013)       |
| Carbofurano             | I*                         | Inseticida, cupinicida, acaricida e nematocida | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Buch et al. (2013)       |
| Glifosato               | IV                         | Herbicida                                      | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Buch et al. (2013)       |
| Mancozeb+Metalaxil-M    | III + II                   | Fungicida e acaricida + fungicida              | SAT e SN     | <i>E. fetida</i> | Observada        | Chini (2014)             |
| Carbofurano             | I*                         | Inseticida, cupinicida, acaricida e nematocida | SNs          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Ferreira et al. (2015)   |
| Benomil                 | *                          | Fungicida                                      | SAT e SN     | <i>E. fetida</i> | Observada        | Garcia et al. (2008)     |
| Carbendazim             | III                        | Fungicida                                      | SAT e SN     | <i>E. fetida</i> | Observada        | Garcia et al. (2008)     |
| Lambda- cialotrina      | III                        | Inseticida                                     | SAT e SN     | <i>E. fetida</i> | Observada        | Garcia et al. (2008)     |
| Glifosato               | IV                         | Herbicida                                      | SN           | <i>E. andrei</i> | Observada        | Machado (2016)           |
| Glifosato (Crucial®)    | IV                         | Herbicida                                      | SN           | <i>E. andrei</i> | Observada        | Niemeyer et al. (2018)   |
| Abamectina              | I                          | Acaricida, inseticida e nematocida             | SAT e SN     | <i>E. andrei</i> | Observada        | Nunes e Espíndola (2012) |
| C. de Sulfato de Cobre  | NC                         | Fungicida bactericida                          | SAT          | <i>E. andrei</i> | Observada        | Ribeiro et al. (2013)    |
| Glifosato               | IV                         | Herbicida                                      | SAT e SN     | <i>E. andrei</i> | Observada        | Tonetti et al. (2016)    |
| Fipronil                | II                         | Inseticida, formicida e cupinicida             | SAT          | <i>E. andrei</i> | Não observada    | Alves et al. (2011)      |
| Tebuconazol             | IV                         | Fungicida                                      | SN           | <i>E. andrei</i> | Não observada    | Cantelli et al. (2010)   |
| Glifosato               | IV                         | Herbicida                                      | SAT e SN     | <i>E. fetida</i> | Não observada    | Chini (2014)             |
| Cipermetrina            | II                         | Inseticida e formicida                         | SNs          | <i>E. andrei</i> | Não observada    | Sousa e Andréa (2011)    |
| Glifosato (Roundup®)    | IV                         | Herbicida                                      | SN           | <i>E. andrei</i> | Não observada    | Niemeyer et al. (2018)   |
| Glifosato (Trop®)       | IV                         | Herbicida                                      | SN           | <i>E. andrei</i> | Não observada    | Niemeyer et al. (2018)   |
| Glifosato (Zapp®Qi 620) | III                        | Herbicida                                      | SN           | <i>E. andrei</i> | Não observada    | Niemeyer et al. (2018)   |

Classificação Toxicológica: I- Extremamente Tóxico; II- Altamente Tóxico; III- Medianamente Tóxico; IV- Pouco Tóxico. \*Banido no Brasil. NC- Não Classificado. SAT – Solo Artificial Tropical; SN – Solo Natural

Tiametoxam, Captana e Carboxina + Tiram, Imidacloprido, Mancozeb + Metalaxyl-M e Sulfato de Cobre apresentaram respostas positivas significativas para o comportamento de fuga em minhocas (ALVES et al., 2011; CHINI, 2014; RIBEIRO et al., 2013). Os ingredientes ativos que não foram observadas respostas de fuga foram: Fipronil, Tebuconazol e Cipermitrina (ALVES et al., 2011; CANTELLI et al., 2010; SOUSA; ANDRÉA, 2011).

## 5 Conclusões

A utilização de ensaio de fuga/evitamento com minhocas é uma ferramenta sensível para avaliação dos riscos ecotoxicológicos dos agrotóxicos. No entanto, as pesquisas no Brasil ainda são limitadas diante da quantidade de formulações, ingredientes ativos e volumes de comercialização de agrotóxicos e, por isso, precisam avançar. Os trabalhos analisados nessa pesquisa apontam que as utilizações de agrotóxicos causam efeitos adversos aos organismos terrestres não-alvos mesmo quando a dosagem aplicada seja a recomendada, indicando o potencial risco ecotoxicológico.

## Agradecimentos

As autoras agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo: 409736/2016–3) pelo financiamento e bolsa de Iniciação Científica a A. R. de A. e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa/UFSM (FIPE – Sênior/UFSM – 2018 – projeto 047062).

## Referências

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Resolução: ABNT NBR ISO-17512/2011. Qualidade do solo – Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro (Brasil): ABNT; 2011
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Resolução: ABNT NBR ISO-15537/2014. Ecotoxicologia terrestre – Toxicidade aguda – Método de ensaio com minhocas (*Lumbricidae*). Rio de Janeiro (Brasil): ABNT; 2014
- ALVES PRL, CARDOSO EJ.B.N., MARTINES A M, SOUSA JP, PASINI A. Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds. *Chemosphere*. 2013;90:2674–2682
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA [Internet]. Brasil: Monografias autorizadas [cited 2018 aug 19]. Available from: <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>.
- AMORIM MJB et al., Boric acid as reference substance: pros, cons and standardization. *Ecotoxicology*. 2012;21:919-924.
- ANDRÉA MM de. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. *Acta Zool. Mex.* (ns). 2010;26:1-13.
- ARAÚJO AJ de. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Cien. Saude Colet*. 2011;5:115-130.
- BUCH AC, BROWN GG, NIVA CC, CANTELLI K, NUNES MET. Efeito de Vertimec 18 CE® sobre o comportamento de fuga de *Amyntas corticis*, *Eisenia andrei* e *Pontoscolex corethrurus*, em ensaios de laboratório com solo artificial tropical. In: Anais do XI Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia – XI ECOTOX [Internet]; 2010 setembro 19 à 23; Bombinhas, Brasil. 2010 [cited 2018 aug 17]. Available from: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27069/1/BROWN-efeito-de-vertimec18-brown.pdf>.

BUCH AC, BROWN GG, NIVA CC, SAUTTER KD SOUSA JP. Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). *Appl. Soil Ecol.* 2013;69:32-38.

CABRERA L, COSTA FB, PRIMEL EG, Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. *Quim. Nova.* 2008;31:1982-1986.

CANDELLO FP, Comportamento de fuga de minhocas na presença do antimicrobiano Sulfadiazina em solo [dissertation]. Campinas. Universidade estadual de campinas/UNICAMP; 2014. 92 p.

CANTELLI K, BUCH AC, BROWNT GG, LOURENÇATO LB, HASHIMOTO'É' MO. Efeito do tebuconazol no comportamento de fuga de *Eisenia andrei* em ensaios de laboratório com solo natural. In: Anais do XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas; XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizais; XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo; VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo [Internet]; 2010 setembro 13 à 17; Guarapari, Brasil, 2010 [cited 2018 aug 17]. Available from: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/56509/1/SP5641.pdf>.

CHELINHO S, LOPES I, NATAL-DA-LUZ T, DOMENE X, NUNES MET, ESPÍNDOLA ELG et al. Integrated ecological risk assessment of pesticides in tropical ecosystems: a case study with Carbofuran in Brazil. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012;31: 437-445.

CHINI P. Uso de minhocas da espécie *Eisenia fetida*, como bioindicadoras em solos contaminados com agrotóxicos [monography]. Palhoça: Engenharia Ambiental e Sanitária/UNISUL; 2014.

COSTA DG da, CAMPOS TMP de, CESAR RG, CASTILHOS ZC, ROCHA BCRC da. Ecotoxicidade do 2,4-D a oligoquetas em função do tipo de solo. *Rev. Bras. Herbic.* 2015;14:248-255.

FERREIRA RCB, PAPINI S, ANDRÉA MM de. Bioavailability and influence of <sup>14</sup>C-Carbofuran on *Eisenia andrei* avoidance, growth and reproduction in treated natural tropical soils. *J. Environ. Sci. Health. Part B* 2015;50:266-274.

GARCIA M, RÖMBKE J, BRITO MT de, SCHEFFCZYK A. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. *Environ. Pollut.* 2008;153:450-456.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS [Internet]. Brasil: Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil. [cited 2018 oct 09]. Available from: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>.

KRÜGER RA, Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa* [dissertation]. Novo Hamburgo. Centro Universitário Feevale; 2009. 58 p.

MACHADO BR. Avaliação da toxicidade ambiental do agrotóxico Glifosato em solo utilizando como bioindicador minhocas da espécie *Eisenia andrei* [monography]. Pelotas: Engenharia Ambiental e Sanitária/UFPel; 2016.

MARCHESAN E, SARTORI GMS, AVILA LA de, MACHADO SLO de, ZANELLA R, PRIMEL EG et al. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cienc. Rural.* 2010;40:1053-1059.

MESNAGE R, DEFARGE N, VENDÔMOIS JS de, SÉRALINI GE, Potential toxic effects of Glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food and Chem. Toxicol.* 2015;84:133-153.

NIEMEYER JC, SANTO FB de, GUERRA N, FILHO AMR, PECH TM. Do recommended doses of Glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. *Chemosphere.* 2018;198:154-160.

NIEMEYER JC, CARNIEL LSC, SANTO FB de, SILVA M, KLAUBERG-FILHO O. Boric Acid as reference substance for ecotoxicity tests in tropical artificial soil. *Ecotoxicology*. 2018;27:395-401.

NOVELLI A. Efeito do Vertimec® 18CE e de seu princípio ativo, a Abamectina, em ambiente aquático: uma análise laboratorial e in situ [thesis]. São Carlos. Escola de Engenharia de São Carlos; 2010. 184 p.

NUNES MET, ESPÍNDOLA ELG. Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of Abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. *Ecotoxicology*. 2012;21:1063-1071.

PAPINI S, ANDRÉA MM. Dissipação de Simazina em solo por ação de minhocas (*Eisenia foetida*). *Rev. Bras. Cienc. Solo*. 2001;25:593-599.

PARK M G, BLITZER, E J, GIBBS J, LOSEY J E, DANFORTH B N. Negative effects of pesticides on wild bee communities can be buffered by landscape context. *Proc. R. Soc. B*. 2015;282: 20150299.

REINECKE A J, MABOETA MS, REINECKE VSA. Assessment of lead nitrate and Mancozeb toxicity in earthworms using the avoidance response. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 2002;68:779-786.

RIBEIRO LV, SCHIEDECK G, ROCHA MP. Evitamento de minhocas *Eisenia andrei* (annelida, oligochaeta) a substratos tratados com calda bordalesa. In: Anais do XXII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas [Internet]; 2013 Novembro 18 à 22; Pelotas, Brasil. 2013 [cited 2018 aug 19]. Available from: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/96036/1/Gustavo-CB-02563.pdf>.

TONETTI CL, GORTE T, BARTZ MLC, VASCONCELOS EC, SAUTTER KD, BROWN GG, et al. Toxicidade de Ácido Aminometilfosfônico (AMPA), em solo artificial e natural sobre oligochaeta terrestre: ensaios de fuga com *Eisenia andrei*. In: Anais do XIV Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia [Internet]; 2016 Setembro 07 à 10; Curitiba, Brasil. 2016. [cited 2018 aug 15]. Available from: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/152747/1/2016-GeorgeB-ECOTOX-Toxicidade.pdf>.

SOUSA APA de, ANDRÉA MM de. Earthworm (*Eisenia andrei*) avoidance of soils treated with Cypermethrin. *Sensors*. 2011;11:11056-11063.

VENTURA BC de. Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do herbicida Atrazina, utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como sistemas-teste [dissertation]. Rio Claro. Faculdade de Ciências Biológicas/ UNESP; 2004. 133 p.

ZALUSKI R. Efeito de dose subletal de Fipronil e Piraclostrobrina, isoladas ou associação, na morfologia de glândulas e proteoma da cabeça de abelhas *Apis mellifera* [thesis]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia: UNESP; 2017. 30 p.