

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RODRIGO ROANI

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HABITAT DO SOLO DE SISTEMAS DE USO PARA AS
MINHOCAS EM DOIS BIOMAS BRASILEIROS

CURITIBA

2025

RODRIGO ROANI

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HABITAT DO SOLO DE SISTEMAS DE USO PARA AS
MINHOCAS EM DOIS BIOMAS BRASILEIROS

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias,
Universidade Federal do Paraná, como requisito
parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência
do Solo, Área de Concentração Solo e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. George Gardner Brown

Coorientadora: Profa. Dr(a). Eloana Janice
Bonfleur

CURITIBA

2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Roani, Rodrigo

Avaliação da função habitat do solo de sistemas de uso para as minhocas em dois biomas brasileiros / Rodrigo Roani. – Curitiba, 2025.

1 recurso online: PDF.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. George Gardner Brown

Coorientador: Profa. Dr(a). Eloana Janice Bonfleur

1. Minhocas. 2. Produtos químicos agrícolas. 3. Solos - Manejo. 4. Toxicologia ambiental. I. Brown, George Gardner. II. Bonfleur, Eloana Janice. III. Universidade Federal do Paraná. Programa Pós-Graduação em Ciência do Solo. IV. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA DO SOLO -
40001016014P4

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA DO SOLO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **RODRIGO ROANI**, intitulada: **AValiação da função habitat do solo de sistemas de uso para as minhocas em dois biomas brasileiros**, sob orientação do Prof. Dr. GEORGE GARDNER BROWN, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 22 de Abril de 2025.

Assinatura Eletrônica
22/04/2025 13:36:18.0
GEORGE GARDNER BROWN
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
22/04/2025 14:09:22.0
LUÍS CARLOS IUNES DE OLIVEIRA FILHO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

Assinatura Eletrônica
22/04/2025 14:18:43.0
JÚLIA CARINA NIEMEYER
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

Assinatura Eletrônica
22/04/2025 14:20:45.0
FELIPE BONINI DA LUZ
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico esta tese a minha esposa e meu filho, por toda paciência nessa jornada, apoio em todos os momentos, dias, noites e semanas longe de casa, mas a cada volta era uma alegria enorme estar na presença da família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, e todas as graças, por tudo! A minha esposa Thamires e meu filho Cezar, por todos os momentos, pelo amor, carinho, paciência, apoio e forças nesse período de doutoramento. Aos meus pais, Elmir e Gláucia pelo apoio, educação e valores ensinados, foram partes importantes para me tornar um homem. Ao meu orientador George, pela oportunidade e confiança em me orientar durante esse período, pela paciência, amizade e troca de conhecimentos, sempre demonstrando ser um profissional excelente e uma pessoa excepcional. A minha coorientadora Eloana, pelo suporte na realização de minha formação e deste trabalho. Aos meus colegas e amigos do grupo de pesquisa, Orlando, Viviane e principalmente a Talita, Rafaela e Wilian pelo grande apoio nas etapas de desenvolvimento desse trabalho, uma amizade verdadeira e duradoura, todos contribuíram e muito nessa jornada e execução deste projeto. Aos amigos do programa, dos quais levarei para vida toda. Aos professores do Programa pelas trocas de ideias dentro e fora da sala de aula, pelos conhecimentos adquiridos, pela oportunidade e pela contribuição em minha formação. À Denise de Conti por ser uma pessoa de luz, sempre disposta a ajudar, a conversar e dona de um enorme coração. Aos colegas do curso de mestrado e de doutorado pela ajuda direta e indireta. As equipes de coleta durante a execução do trabalho, viajando uma boa parte do nosso Brasil. A Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) em Lages pela parceria, principalmente ao professor Dr. Osmar, por firmar a parceria onde realizei um treinamento com troca de conhecimentos junto ao pessoal do laboratório de Ecologia do solo e Ecotoxicologia terrestre, Thiago, Douglas, Daniela, Rafaela, Priscila, Luís, Ana Carolina e a Ana Letícia, por todos os bons momentos, trocas de conhecimentos e amizade adquirida nesse tempo. À Embrapa Florestas e seus funcionários envolvidos direta e indiretamente, em especial aos técnicos de campo. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo e à Universidade Federal do Paraná com subsídios de equipamentos e laboratório, os quais me auxiliaram na execução do trabalho. A todos os laboratoristas e funcionários. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado. Ao projeto "Sistema Plantio Direto – Base para uma agricultura sustentável", concessão nº 23-SB1613 , e financiamento em parte (trabalho de campo) pela União Europeia (Fundo Euroclima+) e gerido pela

Expertise France (EF), Grupo AFD. Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil que foi o proponente, e a Federação Brasileira do Sistema de Plantio Direto (FEBRAPDP) que foi responsável pela execução e coordenação científica deste projeto.

Mas a sabedoria que vem do alto é antes de tudo pura; depois, pacífica, amável, compreensiva, cheia de misericórdia e de bons frutos, imparcial e sincera.

(Tiago 3:17)

RESUMO

A intensificação da agricultura tem sido acompanhada pelo aumento no uso de agrotóxicos, cujos resíduos, presentes nos solos agrícolas, apresentam potencial ecotoxicológico. Dentre os organismos edáficos, as minhocas destacam-se por sua sensibilidade às condições do solo e ao manejo adotado, além de desempenharem funções essenciais na manutenção dos processos ecossistêmicos. Os ensaios ecotoxicológicos padronizados da ISO e da ABNT permitem avaliar o impacto de diversas substâncias em espécies edáficas, porém esses métodos precisam ser melhor adaptados para os solos tropicais e subtropicais. Neste trabalho, investigou-se a sobrevivência, desenvolvimento e reprodução de duas espécies de minhocas (*Pontoscolex corethrurus* e *Perionyx excavatus*), em ensaios padrão usando solos de três sistemas de uso e manejo: lavouras anuais sob plantio direto, culturas anuais sob plantio convencional (ambas sem uso de agrotóxicos) e floresta ombrófila mista nativa. Como controle, foi utilizado o solo artificial tropical (SAT) padrão para ensaios ecotoxicológicos. No segundo capítulo, avaliar diferentes espécies de minhocas (incluindo *Eisenia andrei*) como bioindicadoras da qualidade do solo, através de ensaios ecotoxicológicos padronizados. Os solos eram provenientes de áreas de vegetação nativa e sistemas agrícolas no bioma Cerrado e Mata Atlântica, e tinham condições químicas e físicas diferentes, incluindo níveis diferentes de resíduos de agrotóxicos. No primeiro capítulo, a espécie *P. corethrurus* ganhou peso, especialmente no plantio convencional, diferindo dos demais sistemas, porém, quase não houve reprodução neste sistema (1 casulo), enquanto no solo de plantio direto e floresta encontraram-se mais juvenis e casulos (8,2 e 21 e 9,6 e 16,4, respectivamente), mas sem diferença significativa entre os sistemas de manejo. No SAT, a alta condutividade ($1,18 \text{ mS cm}^{-1}$) levou à morte de todos os indivíduos inoculados. Com *P. excavatus*, a alta condutividade do SAT afetou negativamente a reprodução, em comparação aos solos naturais, onde não houve diferença na reprodução entre os sistemas de manejo. A *P. excavatus* apresenta-se como útil para ensaios de reprodução, por ter baixa mortalidade e alta reprodução em diferentes manejos do solo. No segundo capítulo, os níveis residuais dos agrotóxicos no solo estiveram relacionados com os atributos químicos e com a granulometria do solo, mas não foram iguais para todos os agrotóxicos avaliados. Além disso, observou-se relação entre diferentes agrotóxicos e a reprodução e sobrevivência das minhocas. Em particular, a reprodução de *P. corethrurus* esteve positivamente relacionada com os residuais de três agrotóxicos e o glifosato esteve negativamente associado à reprodução de todas as minhocas. A espécie *P. excavatus* mostrou uma boa reprodução nos solos estudados, gerando mais juvenis em comparação a espécie padrão *E. andrei*, possibilitando ser um bom substituto para a espécie padrão em condições tropicais. Inclusive, deve-se explorar a possibilidade de reduzir a duração do ensaio de 56 dias para um tempo menor (possivelmente 42 dias), considerando a alta reprodução dessa espécie e o alto número de juvenis gerados. Não obstante, formas mais eficazes de quantificar os casulos dessa espécie são necessárias.

Palavras-chave: *Pontoscolex corethrurus* 1. *Perionyx excavatus* 2. *Eisenia andrei* 3. Residuais de agrotóxicos 4. Funções ecossistêmicas 5.

ABSTRACT

The intensification of agriculture has been accompanied by an increased use of pesticides, whose residues, present in agricultural soils, exhibit ecotoxicological potential. Among soil organisms, earthworms stand out due to their sensitivity to soil conditions and management practices, in addition to playing essential roles in maintaining ecosystem processes. Standardized ecotoxicological tests by ISO and ABNT allow the assessment of the impact of various substances on edaphic species; however, these methods must be better adapted to tropical and subtropical soils. In this study, we investigated the survival, growth, and reproduction of two earthworm species (*Pontoscolex corethrurus* and *Perionyx excavatus*) in standard tests using soils from three land use and management systems: annual crops under no-tillage, annual crops under conventional tillage (both without pesticide application), and native mixed ombrophilous forest. As a control, standard Tropical Artificial Soil (TAS) was used in accordance with ecotoxicological testing protocols. We also evaluated different earthworm species (including *Eisenia andrei*) as bioindicators of soil quality through standardized ecotoxicological assays. Soils were collected from native vegetation areas and agricultural systems in the Cerrado and Atlantic Forest biomes, and presented varying chemical and physical properties, including differing levels of pesticide residues. *P. corethrurus* exhibited weight gain, particularly in conventional tillage soil, differing from other systems; however, reproduction in this system was nearly absent (only one cocoon), whereas juvenile and cocoon production was observed in no-tillage and forest soils (8.2 and 21; and 9.6 and 16.4, respectively), with no significant difference among the management systems. In TAS, the high electrical conductivity (1.18 mS cm^{-1}) resulted in the mortality of all inoculated individuals. For *P. excavatus*, the high conductivity of TAS negatively affected reproduction when compared to natural soils, although no significant differences in reproduction were observed among the different land management systems. *P. excavatus* proved to be useful for reproduction tests due to its low mortality and high reproductive output across soil management conditions. Residual pesticide levels in the soils were associated with soil chemical attributes and particle size distribution, although the behavior varied among the pesticides evaluated. Additionally, both positive and negative relationships were observed between different pesticides and earthworm survival and reproduction. Notably, *P. corethrurus* reproduction was positively associated with residues of three pesticides, while glyphosate was negatively correlated with the reproduction of all tested earthworm species. *P. excavatus* showed strong reproductive performance in the tested soils, producing more juveniles compared to the standard species *E. andrei*, supporting its use as a suitable substitute under tropical conditions. Furthermore, shortening the test duration from 56 to potentially 42 days should be considered, given the high reproductive rate and large number of juveniles produced by this species. Nonetheless, more efficient methods for quantifying cocoons of this species are needed.

Keywords: *Pontoscolex corethrurus* 1. *Perionyx excavatus* 2. *Eisenia andrei* 3. Pesticide residues 4. Ecosystem functions 5.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sobrevivência (número médio de indivíduos adultos encontrados) e reprodução (número médio de casulos e juvenis) de <i>Pontoscolex corethrurus</i> ao final do ensaio de 91 dias no solo artificial tropical (SAT), mata nativa (MN), plantio direto (PD), e plantio convencional (PC).....	51
Figura 2. Biomassa total (g) das minhocas <i>Pontoscolex corethrurus</i> ao início e ao final do ensaio de reprodução em diferentes sistemas de uso do solo, mata nativa (MN), plantio direto (PD), plantio convencional (PC), solo artificial tropical (SAT).....	52
Figura 3. Reprodução (número médio de juvenis) de <i>Perionyx excavatus</i> no final do ensaio de 56 dias, em cada tratamento: solo artificial tropical (SAT), mata nativa (MN), plantio direto (PD), plantio convencional (PC).	53
Figura 4. Biomassa total das minhocas adultas inoculadas e aos 28 dias do ensaio de reprodução com <i>Perionyx excavatus</i> em diferentes sistemas de uso do solo, mata nativa (MN), plantio direto (PD), plantio convencional (PC).	54
Figura 5. Recipientes teste completo para ensaio de reprodução (A). Recipientes teste completo para ensaio de preferência (B).	76
Figura 6. Esquema de fracionamento físico granulométrico de amostras para determinar a matéria orgânica do solo.....	79
Figura 7. Mineralogia dos solos dos diferentes locais amostrados, Mangueirinha (A), Carambeí (B), Panambi (C), pertencentes ao bioma da Mata Atlântica.	85
Figura 8. Mineralogia dos solos dos diferentes locais amostrados, Lucas do Rio Verde (D), Conquista (E), Formosa do Rio Preto (F), pertencentes ao bioma do Cerrado	86
Figura 9. Ensaio de preferência para diferentes sistemas de uso do solo, em diferentes locais, Mangueirinha-PR (A), Carambeí-PR (B), Panambi-RS (C) do bioma Mata Atlântica e Cerrado (D).....	87
Figura 10. Biomassa das minhocas adultas de <i>E. fetida</i> (A, D), <i>P. corethrurus</i> (B, E) e <i>P. excavatus</i> (C, F) em diferentes locais e sistemas de uso do solo	

de dois biomas brasileiros, Mata Atlântica (Fazendas 1, 2 e 3, figuras A, B e C) e Cerrado (Fazendas 4, 5 e 6, figuras D, E e F).	89
Figura 11. Número médio de juvenis (A) e biomassa de juvenis (B) da espécie <i>P. excavatus</i> , em diferentes sistemas de uso do solo de dois biomas brasileiros.....	90
Figura 12. Número médio de juvenis (A), casulos (B) e biomassa de juvenis e casulos (C) da espécie <i>E. andrei</i> , em diferentes sistemas de uso do solo de dois biomas brasileiros.	92
Figura 13. Número médio de juvenis (A), casulos (B) e biomassa de juvenis e casulos (C) da espécie <i>P. corethrurus</i> , em diferentes sistemas de uso do solo de dois biomas brasileiros Mata Atlântica e Cerrado.	93
Figura 14. Análise dos componentes principais e projeção das variáveis da análise de componentes principais de agrotóxicos, sistemas de uso do solo e atributos químicos do solo de dois biomas brasileiros.....	95
Figura 15. Resultado a análise de redundância mostrando a relação entre os atributos biológicos das espécies de minhocas e os residuais de agrotóxicos nos solos das áreas avaliadas.....	96
Figura 16. Resultado a análise de redundância mostrando a relação entre os atributos biológicos das espécies de minhocas e os atributos químicos e granulometria do solo das áreas avaliadas.....	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação morfofisiológica e ecológica entre três espécies de minhocas, <i>Eisenia andrei/fetida</i> , <i>Pontoscolex corethrurus</i> , <i>Perionyx excavatus</i> .	20
Tabela 2. Caracterização química e granulométrica do Solo Artificial (SAT), e do solo proveniente dos diferentes sistemas de uso do solo: Plantio Direto (PD), Plantio Convencional (PC), Mata Nativa (MN), antes dos ensaios de reprodução.	47
Tabela 3. Características dos locais objetos de estudo, incluindo estados, cidade, coordenadas geográficas, bioma e sistema de uso do solo.	71
Tabela 4. Caracterização química e granulométrica dos solos dos diferentes sistemas de uso do solo.	77
Tabela 5. Residuais de agrotóxicos (mg kg^{-1}) encontrados nos solos dos locais e sistemas de uso avaliados.	84
Tabela 6. Fracionamento físico da matéria orgânica em frações areia, silte e argila, de solos de diferentes sistemas de uso em locais de dois biomas brasileiros.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AMM	Área Mal Manejada
SPD	Sistema Plantio Direto
VN	Vegetação Nativa
MOS	Matéria Orgânica do Solo
SUS	Sistema de Uso do Solo
SAT	Solo Artificial Tropical
CO	Carbono Orgânico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
1.1 AS MINHOCAS E A QUALIDADE DO SOLO	16
1.2 AS MINHOCAS E A ECOTOXICOLOGIA DO SOLO	18
1.3 A MATÉRIA ORGÂNICA E A SAÚDE DO SOLO	20
1.4 SISTEMAS DE USO E MANEJO DO SOLO E SUA QUALIDADE	22
1.5 SÍNTESE DAS QUESTÕES CIENTÍFICAS, OBJETIVOS E HIPÓTESE	23
1.6 REFERÊNCIAS	24
2 ARTIGO I: AVALIANDO A FUNÇÃO HÁBITAT DO SOLO UTILIZANDO MINHOCAS COMO BIOINDICADORAS	41
2.1 RESUMO	41
2.2 ABSTRACT	41
2.3 INTRODUÇÃO	42
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	45
2.4.1 Coleta e preparo do solo	45
2.4.2 Ensaio ecotoxicológicos	48
2.4.3 Análises estatísticas	49
2.5 RESULTADOS	50
2.5.1 Sobrevivência e reprodução de <i>P. corethrurus</i>	50
2.5.2 Sobrevivência e reprodução de <i>P. excavatus</i>	52
2.6 DISCUSSÃO	54
2.6.1 Efeito do sistema de uso e manejo do solo	54
2.6.2 Potencial de uso das espécies na avaliação da qualidade do solo	56
2.7 CONCLUSÕES	58
2.8 REFERÊNCIAS	58
3 ARTIGO II: RESIDUAIS DE AGROTÓXICOS E REPRODUÇÃO DE MINHOCAS: EM SOLOS AGRÍCOLAS E VEGETAÇÃO NATIVA DO CERRADO E MATA ATLÂNTICA	66
3.1 RESUMO	66
3.2 ABSTRACT	66
3.3 INTRODUÇÃO	67
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	71
3.4.1 Solos naturais e solo controle	71

3.4.2 Minhocas	73
3.4.2.1 Ensaios de reprodução	74
3.4.2.2 Ensaio de fuga/preferência	75
3.4.3 Análise química e granulométrica	76
3.4.4 Mineralogia	78
3.4.5 Fracionamento físico da matéria orgânica	78
3.4.6 Residuais de agrotóxicos	80
3.4.7 Análise estatística	81
3.5 RESULTADOS	82
3.5.1 Residual de agrotóxicos	82
3.5.2 Mineralogia	85
3.5.3 Ensaio de preferência	86
3.5.4 Ensaio de sobrevivência e reprodução	87
3.5.5 Fracionamento de matéria orgânica	93
3.5.6 Relação entre os resíduos de agrotóxicos, as minhocas e os atributos químicos e granulometria do solo	95
3.6 DISCUSSÃO	97
3.6.1 Residual de agrotóxicos	97
3.6.2 Mineralogia	99
3.6.3 Ensaio de preferência	101
3.6.4 Ensaio de sobrevivência e reprodução	102
3.6.5 Fracionamento de matéria orgânica	105
3.6.6 Relação entre os atributos do solo e os residuais de agrotóxicos e as minhocas	106
3.7 CONCLUSÕES	108
3.8 REFERÊNCIAS	108
4 CONCLUSÃO GERAL	127
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	127
6 REFERÊNCIAS	128

1 INTRODUÇÃO GERAL

O aumento da população humana impulsionou a intensificação agrícola para atender às crescentes demandas por alimentos (van Dijk et al. 2021), causando maior pressão sobre os recursos naturais vitais, particularmente o solo (Kopittke et al. 2019). Contudo, a integridade e qualidade dos solos vêm sendo, mundialmente, comprometida pelo mau uso, e por diversas ações antrópicas e naturais, incluindo as mudanças climáticas globais, as mudanças no uso da terra, o manejo do solo, a perda da matéria orgânica do solo, e o uso de agrotóxicos (FAO, 2020; Beaumelle et al., 2021, 2023; Phillips et al., 2024). Além disso, estima-se que pelo menos 33% dos solos mundiais estejam degradados, necessitando de recuperação (FAO, 2015. Smith et al., 2024).

O solo é o habitat mais biodiverso do planeta. Estima-se que quase 60% de todas as espécies do mundo habitem no solo (Anthony et al., 2023). Entre esses, estão os animais edáficos, que representam aproximadamente 23% de todas as espécies conhecidas (Decaëns et al., 2006). Essa fauna executa atividades essenciais para a manutenção do funcionamento do solo, e inclui a microfauna (protozoários, nematóides, tardígrados), mesofauna (por ex., colêmbolos, ácaros, pseudo-escorpiões), e a macrofauna (coleópteros, milipéias, minhocas, cupins, formigas, aranhas, tesourinhas, cigarras, percevejos, caramujos, tatuzinhos, baratas, etc.). Contudo, essa biodiversidade está ameaçada pelo uso e manejo intensivo do solo, incluindo a aplicação de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças agrícolas e florestais (Beaumelle et al., 2023). A necessidade de melhorar a qualidade, produção e longevidade de alimentos vem estimulando ao longo do tempo o desenvolvimento e uso dos agrotóxicos cada vez mais seguros e eficientes, porém esses podem ter efeitos não-alvo, comprometendo a qualidade do solo e dos alimentos, especialmente quando não utilizados corretamente (Sapbamrer & Chittrakul, 2022; Tang & Maggi, 2021).

1.1 AS MINHOCAS E A QUALIDADE DO SOLO

Dentre os organismos mais importantes para o funcionamento e a fertilidade do solo, estão as minhocas, amplamente reconhecidas pelos agricultores como bons bioindicadores de qualidade (Brown e Domínguez, 2010). Elas afetam a estrutura do solo, a infiltração e retenção de água, a decomposição e mineralização de

nutrientes, a pedogênese, e a produção vegetal (Brown et al., 2018; Guhra et al., 2020; Hodson et al., 2023; Lavelle et al., 1988; Van Groenigen et al., 2014). Por sua importância para o funcionamento do solo, e por serem afetadas pelas condições edáficas, elas são frequentemente usadas em programas de monitoramento da qualidade do ecossistema. São servíveis a métodos de uso ou manejo do solo, e às condições ambientais, como os níveis de perturbações ou contaminação (Bhaduri et al. 2022; Römcke et al., 2005). As minhocas representam cerca de 92% da biomassa de invertebrados presentes no solo, tornando-se, assim, particularmente interessantes para avaliar os efeitos não alvo dos agrotóxicos utilizados nas lavouras (Eriksen-Hamel & Whalen, 2007).

Em condições de campo, as minhocas estão presentes em comunidades mistas compostas por várias espécies, que podem pertencer a qualquer um dos três principais grupos ecológicos, e em diferentes proporções simultâneas dependendo do hábitat em questão (Diallo et al., 2023; Petit-Dit-Grézériat et al., 2024; Prendergast-Miller et al., 2021; Sutri et al., 2024; Vos et al., 2022). Em ambientes agrícolas, particularmente na região tropical há poucas espécies epigeicas, que são as que vivem associadas à camada de serapilheira ou palhada superficial do solo (Fragoso et al., 1997). A maior parte das espécies e da população de minhocas normalmente pertence ao grupo de endogeicas, que vivem dentro do solo e são geófagas (Fragoso et al., 1999). Em alguns países tropicais, mas especialmente na região temperada, podem ser encontradas espécies anécicas em áreas de floresta ou pastagens (Fragoso et al., 1997; Righi, 1997), que abrem galerias verticais, e consomem material orgânico mais fresco em diferentes estágios de decomposição (Lavelle, 1988). As espécies endogeicas desempenham um papel significativo na melhoria dos solos, modificando a estrutura do solo, ativando os microrganismos, e aumentando a disponibilidade de nutrientes para as plantas e a ciclagem da matéria orgânica (Amossé et al., 2015; Blouin et al., 2013).

Manter a população e atividade dos invertebrados que habitam o solo, especialmente as comunidades de minhocas, é fundamental para assegurar a saúde e a qualidade do solo, além de garantir a estabilidade dos ecossistemas (Al-Maliki et al., 2021; Blouin et al., 2013; Liu et al., 2019; Prendergast-Miller et al., 2021; Spurgeon et al., 2013). Portanto, é importante avaliar como as práticas agrícolas influenciam as populações da fauna edáfica, visando preservar a biodiversidade e função do solo (Vršič et al., 2021). Porém, as espécies reagem de forma diferente às

pressões ambientais, demonstrando diferente resistência à poluição, diferenças no ciclo reprodutivo, na alimentação e nas características ecológicas (White et al., 2014). Por isso, é necessário usar espécies diferentes como modelos biológicos em estudos ecotoxicológicos, e na avaliação da qualidade do solo ou da água (Jones et al., 2016).

1.2 AS MINHOCAS E A ECOTOXICOLOGIA DO SOLO

As minhocas são um grupo importante integrante da rede alimentar associada ao solo, sendo predadas por inúmeras espécies de vertebrados e invertebrados (King et al., 2010; Macdonald, 1983; Nyffeler et al., 2017). Elas podem acumular contaminantes como metais ou resíduos de agrotóxicos presentes no solo, por se alimentarem principalmente de solo, e por absorverem esses contaminantes topicamente (Yasmin & D'Souza, 2010). Assim, podem ser importantes fontes de contaminação da cadeia trófica alimentar (Byambas et al., 2019; Langdon et al., 2003). Visando avaliar a qualidade do solo e o efeito potencial dos contaminantes no meio ambiente, foram desenvolvidos diversos ensaios padronizados por órgãos como o Organization for the Economic Development and Cooperation (OECD, 1984; 2015), o International Standards Organization (ISO, 1993; 2008; 2012), e a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2011; 2014), incluindo espécies de minhocas e solos artificiais e naturais. De fato, a lei dos agrotóxicos (Lei nº 14785, Brasil, 2023) exige que qualquer novo produto a ser lançado no mercado precisa ter um ensaio padronizado com organismos (terrestres e aquáticos) não alvo, como, por exemplo, as minhocas.

Entre as espécies preconizadas para esses ensaios, estão as minhocas de minhocários, *Eisenia fetida* Savigny, 1826 e *Eisenia andrei* Bouché, 1972. Embora tenha sido constatado que essas espécies possuem sensibilidade diferente para alguns contaminantes que as espécies nativas de minhocas (Buch et al., 2013; Daam et al., 2011; De Silva et al., 2010; Dittbrenner et al., 2011; Heger et al., 2015; Pelosi et al., 2013), elas se destacam por sua facilidade de cultivo e manutenção em ambientes laboratoriais (Andréa et al., 2010; Yasmin & D'Souza, 2010), e por sobreviverem e se reproduzirem tanto em solo natural quanto em solos artificiais (Azevedo et al., 2025; Mao et al., 2017; Yan et al., 2024). Não obstante, as espécies de *Eisenia* usadas nos ensaios ecotoxicológicos padrão são epigeicas oriundas de

clima temperado (Schiedeck et al., 2019), e não são encontradas em campos agrícolas na região neotropical (Brown et al., 2006b).

A minhoca “mansa” ou “rabo de escova” *Pontoscolex corethrus* (Müller, 1857) é uma espécie endogeica nativa do Planalto das Guianas na América do Sul (Righi, 1984), sendo comumente encontrada na região tropical e subtropical, especialmente em áreas perturbadas pela atividade humana, incluindo lavouras, pastagens, pomares e florestas secundárias (Lavelle et al., 1987; Brown et al., 2006a). Portanto, esta espécie partenogenética pode ser uma boa alternativa para testes ecotoxicológicos, e mais relevante aos solos de áreas tropicais manejadas, do que as espécies padrão *E. fetida* ou *E. andrei* (Buch et al., 2011, 2013).

De fato, a espécie *P. corethrurus* tem sido usada em diversos ensaios ecotoxicológicos (Langenbach et al., 2002; Garcia, 2004; Garcia et al., 2008; Kuperman et al., 2009; Förster et al., 2009; Mestrinho, 2009; Gaupp-Berghausen et al., 2015; García-Pérez et al., 2016; García-Pérez et al., 2020), demonstrando sua flexibilidade e utilidade mais ampla. Possui um ciclo de vida de entre 90 e 120 dias, dependendo da temperatura, e produz casulos com apenas um indivíduo (Schiedeck et al., 2019). Sua abundância e relativa facilidade de coleta nos solos da região tropical tornam esta espécie particularmente útil para estudos avaliando efeitos colaterais não-alvo de vários contaminantes no solo, incluindo agrotóxicos e metais. Contudo, é importante que as populações a serem testadas sejam avaliadas geneticamente, visando usar apenas uma linhagem e reduzir a variabilidade dos resultados (Schiedeck et al., 2019), já que a espécie possui diversidade críptica (Taheri et al., 2018; 2020).

A espécie epigêica *Perionyx excavatus* Perrier, 1872, conhecida popularmente como “violeta do himalaia” (por ser provavelmente originária da região do Himalaia: Gates, 1972), pertence à família Megascolecidae, e é comumente utilizada em vermicompostagem (Blakemore, 2006; Edwards et al., 1998), particularmente na região tropical (Schiedeck et al., 2019). Pode ser encontrada na camada superior do solo (0-15 cm), em temperaturas que variam entre 20 °C e 28 °C e pH de 6,4-7,4 (Bhattacharjee e Chaudhuri, 2002), porém não tem sido encontrada em solos brasileiros, onde vive apenas em minhocários ou acúmulos de restos vegetais ou animais (Ferreira et al., 2023). Contudo, por ser fácil de criar em cativeiro, e se reproduzir mais rapidamente que as *Eisenia* spp., poderia ser uma

espécie ideal para condições tropicais, resistindo a amplos intervalos de temperatura, quando comparada às espécies padrão (Schiedeck et al., 2019).

O ciclo de vida e a biologia desta espécie (*P. excavatus*) têm sido amplamente estudados (Reinecke & Hallatt, 1989; Hallatt et al., 1990; Edwards et al., 1998; Bhattacharjee & Chaudhuri, 2002; Chaudhuri e Bhattacharjee, 2002; Joshi & Dabral, 2008), e diversos autores testaram os efeitos de agrotóxicos sobre a espécie, em ensaios de fuga, letalidade e reprodução (Neuhauser et al., 1986; De Silva & Van Gestel, 2009; Das Gupta et al., 2010; 2012; Mangala et al., 2009; Sanyal et al., 2015; Wang et al., 2018; Ng et al., 2019; Narayanan et al., 2022; Elango et al., 2023). Possui um ciclo de vida de entre 40 e 60 dias, dependendo da temperatura, e produz casulos com 1 a 1,3 indivíduos (Schiedeck et al., 2019). Algumas características das espécies mencionadas até o momento podem ser observadas na TABELA 1.

Tabela 1. Comparação morfofisiológica e ecológica entre três espécies de minhocas, *Eisenia andrei/fetida*, *Pontoscolex corethrurus*, *Perionyx excavatus*

	<i>Eisenia andrei/E. fetida</i>	<i>Pontoscolex corethrurus</i>	<i>Perionyx excavatus</i>
Moela	Presente	Presente	Ausentes
Glândula Calcífera	Presente	Três pares	Presente
Cêgos intestinais	Ausente	Ausente	Ausente
Tiflosol	Presentes	Presentes	Ausente
Coloração	Avermelhada	Acinzentada	Vermelho violeta
Categoria ecológica	Epigeica	Endogeica	Epigeica
Ciclo de vida a 25°C	48 a 56 dias ¹	135 a 165 dias ²	46 a 60 dias ³
Taxa de reprodução	2,5-3,5 casulos indiv. ⁻¹ semana ⁻¹	1-2 casulos indiv. ⁻¹ semana ⁻¹	8-10 casulos indiv. ⁻¹ semana ⁻¹

Fonte: Adaptado de Schiedeck et al. (2019)

¹ Domínguez e Gómez-Brandón (2010); Venter e Reinecke (1988). ²Lavelle et al., 1987; Buch (2010). ³Domínguez e Gómez-Brandón (2010); Hallatt et al. (1990).

1.3 A MATÉRIA ORGÂNICA E A SAÚDE DO SOLO

A saúde e a qualidade do solo estão diretamente relacionadas à sua capacidade de sustentar a produtividade vegetal, manter a biodiversidade e promover os ciclos biogeoquímicos essenciais (Crowther et al., 2019; Delgado-Baquerizo et al., 2020; Lehmann et al., 2020). A saúde do solo é um pilar crítico para

a segurança alimentar e a sustentabilidade ambiental, influenciando serviços ecossistêmicos como regulação hídrica, sequestro de carbono e manutenção da biodiversidade (Doran & Zeiss, 2000; Kopittke et al., 2019; Lal, 2015). A matéria orgânica do solo (MOS) exerce papel fundamental nesse contexto, pois contribui para a estrutura física do solo, retenção de água, disponibilidade de nutrientes e estímulo à atividade biológica (Craswell & Lefroy, 2001; Lal, 2016; Sharma et al., 2017; Voltr et al., 2021). Além disso, a presença de matéria orgânica está fortemente associada à atividade da fauna edáfica, especialmente das minhocas, que desempenham funções-chave na decomposição da matéria vegetal, ciclagem de nutrientes e formação de agregados do solo (Blouin et al., 2013; Bünemann et al., 2018; Edwards & Arancon, 2022).

As minhocas, consideradas engenheiras do ecossistema do solo, utilizam a matéria orgânica como principal fonte de alimento, o que influencia diretamente sua atividade, crescimento e reprodução (Amossé et al., 2015; Medina-Sauza et al., 2019). Elas fragmentam e misturam resíduos orgânicos, promovendo a formação de húmus e facilitando a assimilação de nutrientes por plantas e microrganismos (Bertrand et al., 2015; Gómez-Brandón et al., 2012). Além disso, a fauna edáfica em geral, composta por organismos como ácaros, colêmbolos e outros invertebrados, depende da matéria orgânica para subsistência, contribuindo coletivamente para a manutenção da fertilidade do solo e equilíbrio ecológico dos ambientes terrestres (Bardgett et al., 2005; Bardgett & van der Putten, 2014; Brussaard et al., 2007; Lavelle et al., 2006).

As diferentes frações da MOS apresentam diferentes tempos de ciclagem. A matéria orgânica leve (ou carbono orgânico particulado), separada por dispersão e peneiramento do solo associado à fração areia (CO da MO grosseira > 53 µm), é composta principalmente por resíduos de plantas, raízes e hifas de fungos em diferentes estágios de decomposição, porém ainda possui características de seu material de origem (Diekow et al., 2003; 2005; Ramnarine et al., 2015). Devido ao seu curto tempo de ciclagem, a matéria orgânica leve é considerada um compartimento lábil de C no solo, atua na manutenção da atividade microbiana do solo e na ciclagem de nutrientes, sendo severamente alterado pelo manejo e uso do solo (Bayer et al., 2004; Carneiro et al., 2009; Chen et al., 2012; Duval et al., 2013; Leite et al., 2003; Roscoe & Machado, 2002).

A matéria orgânica pode ser determinada pela técnica de fracionamento físico, na qual se baseia em separar as diferentes frações de C por métodos densimétricos, também é possível à separação por tamanho de partículas (peneiramento) ou uma combinação de ambos os métodos (Diekow et al., 2003; Roscoe & Machado, 2002; Vieira et al., 2007). O uso do fracionamento físico permite separar frações homogêneas em relação à natureza e função inferindo sobre as possíveis interações organominerais (Christensen, 2001). Com o fracionamento granulométrico é possível conseguir a máxima dispersão do solo, a fim de separar as frações areia, silte e argila, com a mínima alteração da matéria orgânica do solo (MOS) associada a essas frações (Basanta, 2004).

As frações mais finas do solo ($< 20 \mu\text{m}$) possuem maior potencial de sorção de agrotóxicos, devido à maior superfície específica e a presença de material orgânico mais humificado (De Jonge et al., 2000; Séquaris et al., 2005; Wang & Keller, 2009). O carbono orgânico associado aos minerais forma complexos organominerais fornecendo sítios livres para sorção de agrotóxicos (Salloum et al., 2001). Os agregados de tamanho silte ($53\text{-}2 \mu\text{m}$) apresentaram grande contribuição na sorção de três agrotóxicos em solos tropicais e subtropicais (Bonfleur, 2014). Essa fração é composta basicamente por materiais orgânicos complexados a formas pouco cristalinas de Fe e Al. Outro fator que auxilia na adsorção dos agrotóxicos pelos argilominerais (matéria orgânica associada aos minerais) é o pH, pois, na medida que aumenta o seu valor maior será a imobilização dos íons (Otunola & Ololade, 2020). Com o aumento do pH, uma maior presença de sítios de adsorção carregados negativamente nas superfícies dos coloides do solo e da MOS se torna disponível, o que por consequência diminui a disponibilidade dos agrotóxicos na solução do solo (Akpomie & Dawodu, 2016).

1.4 SISTEMAS DE USO E MANEJO DO SOLO E SUA QUALIDADE

O sistema de uso do solo é um fator determinante para a qualidade do solo, incluindo as populações da fauna edáfica, e da quantidade de carbono adicionado e a sua manutenção no ambiente (Amoakwah et al., 2022; Jat et al., 2022; Kumar et al., 2022; Li et al., 2021; Ross et al., 2021; Szoboszlay et al., 2017). Em área de mata nativa, a MOS permanece de forma estável no solo, mas quando há a implantação de sistemas agrícolas, há redução nos teores de MOS, principalmente com revolvimento do solo, promovendo uma maior exposição do material orgânico à

ação da microbiota, e baixa ou nula adição de resíduos culturais (Bayer & Mielniczuk, 2008). Conforme Bayer (2004) o aporte contínuo de material senescente da parte aérea das árvores pode devolver ao solo grande quantidade de material orgânico, contribuindo para a melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo.

A intensidade do uso do solo e também o manejo são determinantes na abundância e composição das comunidades de minhocas em sistemas agrícolas de produção (Smith et al., 2008). Minhocas são encontradas em menores quantidades em solos com árvores exóticas e solos agrícolas com uso intensivo, sendo o número maior em plantio direto e de espécies nativas em vegetação nativa (Gudeta et al., 2022; Dudas et al., 2023). A redução na intensidade do uso da terra, ou seja, menor perturbação antrópica, pode beneficiar a comunidade biótica em solos agrícolas, incluindo as minhocas (Peres et al., 2006; Gardi et al., 2009; Pauli et al., 2011; Spurgeon et al., 2013). Os solos da agricultura convencional estão sujeitos a uma combinação de perturbações físicas (preparo do solo) e químicas (fertilizantes minerais e agrotóxicos) (Spurgeon et al., 2013). Já as práticas de manejo conservacionista como o plantio direto, favorecem a biota edáfica, particularmente as populações de minhocas (Van Capelle et al., 2012; Bartz et al., 2013; 2014; Santos et al., 2018; Demetrio et al., 2020).

1.5 SÍNTESE DAS QUESTÕES CIENTÍFICAS, OBJETIVOS E HIPÓTESE

Portanto, as espécies de minhocas e outros organismos não-alvo especificamente adaptados a solos ácidos devem ser identificados, avaliados e padronizados em ensaios ecotoxicológicos. Os efeitos determinados com os solos artificiais padrão atualmente utilizados certamente não representam o pior cenário, o valor de efeito mais baixo obtido em solos naturais é inferior comparado ao artificial (Römbke et al., 2006; 2007). Ao avaliar o risco de poluentes em organismos do solo não se pode ignorar esta diferença.

A matéria orgânica do solo influencia na concentração de substâncias não ionizáveis, principalmente por meio da água dos poros do solo, e os efeitos sobre os organismos devem diminuir com o aumento do conteúdo de matéria orgânica do solo (Lock et al., 2002). A compreensão dos efeitos dos resíduos de agrotóxicos para as minhocas e sua interação com diferentes sistemas de uso do solo são fundamentais para o desenvolvimento de práticas agrícolas sustentáveis que

minimizem os impactos negativos no meio ambiente. Além disso, essas informações podem contribuir para a elaboração de políticas e regulamentos mais eficazes para o uso responsável de agrotóxicos e a conservação da biodiversidade do solo.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo (i) investigar os efeitos de diferentes sistemas de uso do solo sobre a qualidade do solo, usando como indicadores biológicos a reprodução e sobrevivência de duas espécies de minhocas: *P. corethrurus* e *P. excavatus*; (ii) relacionar os níveis residuais de agrotóxicos com os atributos do solo, considerando diferenças mineralógicas (material de origem), e frações da matéria orgânica, em diferentes sistemas de uso do solo com diferentes espécies de minhocas bioindicadoras.

As hipóteses desse estudo foram: 1) a sobrevivência e reprodução de *P. corethrurus* seriam menores que de *P. excavatus* em todos os solos; 2) o solo coletado em áreas de floresta nativa teria melhor qualidade, permitindo melhor reprodução e sobrevivência de ambas espécies de minhocas que no solo das áreas agrícolas; 3) o solo de área de plantio convencional teria a pior qualidade, com menor taxa de reprodução e sobrevivência que a área com plantio direto, para ambas as espécies; 4) a reprodução e os atributos morfológicos dos oligoquetas terão uma relação direta com os níveis residuais dos agrotóxicos presentes em diferentes sistemas de uso do solo, e a espécie endogeica (*P. corethrurus*) será mais sensível; 5) os três sistemas de uso do solo terão residuais de agrotóxicos e, seus níveis residuais estarão relacionados não só com os teores de argila e matéria orgânica do solo, mas principalmente com a qualidade dessas frações.

1.6 REFERÊNCIAS

- ABNT. (2011). Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 17512-1: qualidade do solo: ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1: ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro, 2011.
- ABNT. (2014). Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15537: ecotoxicologia terrestre: ecotoxicidade aguda: método de ensaio com minhocas. Rio de Janeiro.

- Akpomie, K. G., & Dawodu, F. A. (2016). Acid-modified montmorillonite for sorption of heavy metals from automobile effluent. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(1), 1-12.
- Al-Maliki S, Al-Taey DKA, Al-Mammori HZ (2021) Earthworms and eco-consequences: considerations to soil biological indicators and plant function: a review. *Acta Ecol Sin* 41:512–523. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2021.02.003>
- Amoakwah, E., Lucas, S. T., Didenko, N. A., Rahman, M. A., & Islam, K. R. (2022). Impact of deforestation and temporal land-use change on soil organic carbon storage, quality, and lability. *PLoS One*, 17(8), e0263205.
- Amossé, J., Turberg, P., Kohler-Milleret, R., Gobat, J. M., & Le Bayon, R. C. (2015). Effects of endogeic earthworms on the soil organic matter dynamics and the soil structure in urban and alluvial soil materials. *Geoderma*, 243, 50-57.
- Andréa, M. M. D. (2010). O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. *Acta zoológica mexicana*, 26(SPE2), 95-107.
- Anthony, M., Bender, S., & Van Der Heijden, M. (2023) Enumerating soil biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2304663120>.
- Azevedo, T., Silva-Reis, R., Medeiros-Fonseca, B., Gonçalves, M., Mendes, G., Roboredo, M., Rocha, M. J., Peixoto, F., Pinto, M. de L., Matos, M., Sousa, J. R., Oliveira, P. A., & Coimbra, A. M. (2025). Do (xeno)estrogens pose a risk to earthworms? Soy isoflavones and estradiol impact gonad structure and induce oxidative stress in *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 377, 144315. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144315>
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515(7528), 505-511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Bardgett, R. D., Freeman, C., & Ostle, N. J. (2005). Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *The ISME Journal*, 2(8), 805-814. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.58>
- Bartz, M. L. C., Brown, G. G., da Rosa, M. G., Klauberg Filho, O., James, S. W., Decaëns, T., & Baretta, D. (2014) Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil. *Applied Soil Ecology*, 83, 59-70.
- Bartz, M. L. C., Pasini, A., & Brown, G. G. (2013) Earthworms as soil quality indicators in Brazilian no-tillage systems. *Applied Soil Ecology*, 69, 39-48.

- Basanta, M. Del V. (2004). Dinâmica do nitrogênio da cultura de cana-de-açúcar em diferentes sistemas de manejo de resíduo da colheita. Tese (Doutorado – Escola Superior de Agricultura – Luiz de Queiroz) - Universidade de São Paulo Piracicaba-SP.
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuk, J., & Pavinato, A. (2004). Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39, 677-683.
- Bayer, C.; Mielniczuk, J. (2008). Dinâmica e função da matéria orgânica. In: Santos, G. A.; Silva, L. S.; Canellas, L. P.; Camargo, F. A. O. (Eds). *Fundamentos da matéria orgânica do solo em ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2ª. ed. Porto Alegre: Metrópole; p.7-18.
- Beaumelle, L., Thouvenot, L., Hines, J., Jochum, M., Eisenhauer, N., & Phillips, H. R. (2021). Soil fauna diversity and chemical stressors: a review of knowledge gaps and roadmap for future research. *Ecography*, 44(6), 845-859. <https://doi.org/10.1111/ecog.05627>
- Beaumelle, L., Tison, L., Eisenhauer, N., Hines, J., Malladi, S., Pelosi, C., ... & Phillips, H. R. (2023). Pesticide effects on soil fauna communities—A meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 60(7), 1239-1253. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14437>
- Bertrand, M., Barot, S., Blouin, M., Whalen, J., de Oliveira, T., & Roger-Estrade, J. (2015). Earthworm services for cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 553-567.
- Bhaduri, D., Sihi, D., Bhowmik, A., Verma, B. C., Munda, S., & Dari, B. (2022). A review on effective soil health bio-indicators for ecosystem restoration and sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 13, 938481. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.938481>.
- Bhattacharjee, G., & Chaudhuri, P. S. (2002). Cocoon production, morphology, hatching pattern and fecundity in seven tropical earthworm species—a laboratory-based investigation. *Journal of biosciences*, 27(3), 283-294.
- Blakemore, R. J., Ito, M. T., & Kaneko, N. (2006). Alien earthworms in the Asia/Pacific region with a checklist of species and the first records of *Eukerria saltensis* (Oligochaeta: Ocnerodrilidae) and *Eiseniella tetraedra* (Lumbricidae) from Japan, and *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae) from Okinawa. *Assessment and control of biological invasion risks*, 173-181.

- Blouin, M., Hodson, M. E., Delgado, E. A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K. R., ... & Brun, J. J. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*, 64(2), 161-182.
- Bonfleur, E. J. (2014). Matéria orgânica e a sorção de herbicidas em solos sob plantio direto nas regiões tropical e subtropical do Brasil. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade de São Paulo Esalq, 95p.
- BRASIL. Lei nº. 14.785, de 27 de dezembro de 2023. Disponível em: < https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2023-2026/2023/Lei/L14785.htm#art65 >. Acesso em 19 mar. 2025.
- Brown, G. G., & Domínguez, J. (2010). Uso das minhocas como bioindicadoras ambientais: princípios e práticas-o 3 Encontro Latino Americano de Ecologia e Taxonomia de Oligoquetas (ELAETA03). *Acta zoológica mexicana*, 26(SPE2), 1-18.
- Brown, G. G., James, S. W., Pasini, A., Nunes, D. H., Benito, N. P., Martins, P. T., & Sautter, K. D. (2006a). Exotic, peregrine, and invasive earthworms in Brazil: diversity, distribution, and effects on soils and plants. *Caribbean Journal of Science*, 42(3), 339.
- Brown, G. G.; James, S. W. (2007). Ecologia, biodiversidade e biogeografia das minhocas no Brasil. In: BROWN, G. G., FRAGOSO, C. (Ed.). *Minhocas na América Latina: biodiversidade e ecologia*. Londrina: Embrapa Soja, p. 297-381.
- Brown, G.G., Silva, E., Thomazini, M.J., Niva, C.C., Decaëns, T., Cunha, L.F.N., Nadolny, H., Demetrio, W.C., Santos, A., Ferreira, T., Maia, L.S., Conrado, A.C., Segalla, R.F., Ferreira, A.C., Pasini, A., Bartz, M.L.C., Sautter, K.D., James, S.W., Baretta, D., Antonioli, Z.I., Briones, M.J.I., Sousa, J.P., Römcke, J. & P. Lavelle (2018): The role of soil fauna in soil health and delivery of ecosystem services. In: Reicosky, D. ed. *Managing soil health for sustainable agriculture*, v. 1: Fundamentals. Burleigh Dodds Science Publishing, Oxford. pp. 197-241.
- Brown, G. G., Römcke, J., Höfer, H., Verhaagh, M., Sautter, K. D., & Santana, D.D Q. (2006b) Biodiversity and function of soil animals in Brazilian agroforestry systems. *Sistemas Agroflorestais: Bases Científicas para o desenvolvimento sustentável*. Ed.: Gama-Rodrigues, A.C., Barros, N.F., Gama-Rodrigues, E.F., Freitas, M.S.M., Viana, A.P, Jasmin, J.M., Marciano, C.R., Carneiro, J.G.A. UENF, Campos dos Goytacazes, 217-242.

- Brussaard, L., de Ruiter, P. C., & Brown, G. G. (2007). Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 121(3), 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.12.013>
- Buch, A. C. *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) e *Eisenia andrei*, Bouché, 1972, como bioindicadoras de solos contaminados por agrotóxicos. 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Buch, A. C., Brown, G. G., Niva, C. C., Sautter, K. D., & Lourençato, L. F. (2011). Life cycle of *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) in tropical artificial soil. *Pedobiologia*, 54, S19-S25.
- Buch, A. C., Brown, G. G., Niva, C. C., Sautter, K. D., & Sousa, J. P. (2013). Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). *Applied soil ecology*, 69, 32-38.
- Bünemann, E. K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R. E., De Deyn, G., de Goede, R., ... & Brussaard, L. (2018). Soil quality - A critical review. *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 105-125. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>
- Byambas, P., Hornick, J. L., Marlier, D., & Francis, F. (2019). Vermiculture in animal farming: A review on the biological and nonbiological risks related to earthworms in animal feed. *Cogent Environmental Science*, 5(1), 1591328.
- Carneiro, M. A. C., Souza, E. D. D., Reis, E. F. D., Pereira, H. S., & Azevedo, W. R. D. (2009). Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 33, 147-157.
- Chaudhuri, P. S., & Bhattacharjee, G. (2002). Capacity of various experimental diets to support biomass and reproduction of *Perionyx excavatus*. *Bioresource technology*, 82(2), 147-150.
- Chen Y., Li, Y., Awada, T., Han, J., & Luo, Y. (2012). Carbon sequestration in the total and light fraction soil organic matter along a chronosequence in grazing exclosures in a semiarid degraded sandy site in China. *Journal of Arid Land*, 4(4), 411-419.
- Christensen, B. T. (2001). Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European journal of soil science*, 52(3), 345-353.
- Craswell, E., & Lefroy, R. (2001). The role and function of organic matter in tropical soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 61, 7-18. <https://doi.org/10.1023/A:1013656024633>.

- Crowther, T., Hoogen, J., Wan, J., Mayes, M., Mayes, M., Keiser, A., Keiser, A., Mo, L., Averill, C., Averill, C., & Maynard, D. (2019). The global soil community and its influence on biogeochemistry. *Science*, 365. <https://doi.org/10.1126/science.aav0550>.
- Daam, M. A., Leitão, S., Cerejeira, M. J., & Paulo Sousa, J. (2011). Comparing the sensitivity of soil invertebrates to pesticides with that of *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 85(6), 1040–1047. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.032>
- Das Gupta, R., Chakravorty, P. P., & Kaviraj, A. (2010). Studies on relative toxicities of six insecticides on epigeic earthworm, *Perionyx excavatus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 85, 83-86.
- Das Gupta, R., Chakravorty, P. P., & Kaviraj, A. (2012). Effects of carbaryl, chlorpyrifos and endosulfan on growth, reproduction and respiration of tropical epigeic earthworm, *Perionyx excavatus* (Perrier). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(2), 99-103.
- Decaëns, T., Jiménez, J. J., Gioia, C., Measey, G. J., & Lavelle, P. (2006) The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42, S23-S38.
- De Jonge, L. W., De Jonge, H., Moldrup, P., Jacobsen, O. H., & Christensen, B. T. (2000). Sorption of prochloraz on primary soil organomineral size separates (Vol. 29, No. 1, pp. 206-213). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America.
- De Silva, P. M. C., & van Gestel, C. A. (2009). Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. *Chemosphere*, 77(11), 1609-1613.
- De Silva, P. M. C., Pathiratne, A., & van Gestel, C. A. (2010) Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. *Applied Soil Ecology*, 44(1), 56-60.
- Delgado-Baquerizo, M., Reich, P., Trivedi, C., Eldridge, D., Abades, S., Alfaro, F., Bastida, F., Berhe, A., Cutler, N., Gallardo, A., García-Velázquez, L., Hart, S., Hayes, P., He, J., Hseu, Z., Hu, H., Kirchmair, M., Neuhauser, S., Pérez, C., Reed, S., Santos, F., Sullivan, B., Trivedi, P., Wang, J., Weber-Grell, L., Williams, M., & Singh, B. (2020). Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes. *Nature Ecology & Evolution*, 4, 210 - 220. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1084-y>.

- Demetrio, W. C., Ribeiro, R. H., Nadolny, H., Bartz, M. L., & Brown, G. G. (2020). Earthworms in Brazilian no tillage agriculture: Current status and future challenges. *European Journal of Soil Science*, 71(6), 988-1005.
- Diallo, A., Hoeffner, K., Guillocheau, S., Sorgniard, P., & Cluzeau, D. (2023). Combined effects of annual crop agricultural practices on earthworm communities. *Applied Soil Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105073>.
- Diekow, J. (2003). *Estoque e qualidade da matéria orgânica do solo em função de sistemas de culturas e adubação nitrogenada no sistema plantio direto*. Tese (Doutorado em Ciência do Solo. Programa de Pós Graduação em Ciências do Solo) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 164 p.
- Diekow, J., Mielniczuk, J., Knicker, H., Bayer, C., Dick, D. P., & Kögel-Knabner, I. (2005). Carbon and nitrogen stocks in physical fractions of a subtropical Acrisol as influenced by long-term no-till cropping systems and N fertilisation. *Plant and Soil*, 268, 319-328.
- Dittbrenner, N., Schmitt, H., Capowiez, Y., & Triebkorn, R. (2011). Sensitivity of *Eisenia fetida* in comparison to *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus terrestris* after imidacloprid exposure. Body mass change and histopathology. *Journal of Soils and Sediments*, 11, 1000-1010.
- Domínguez, J., & Gómez-Brandón, M. (2010). Ciclos de vida de las lombrices de tierra aptas para el vermicompostaje. *Acta zoológica mexicana*, 26(SPE2), 309-320.
- Doran, J. W., & Zeiss, M. R. (2000). Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 3–11. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00067-6)
- Dudas, R. T., Demetrio, W. C., Nadolny, H. S., Brown, G. G., & Bartz, M. L. C. (2023). Earthworms in the state of Paraná, Brazil: State of the art. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 47, e0220159.
- Duval, M. E., Galantini, J. A., Iglesias, J. O., Canelo, S., Martinez, J. M., & Wall, L. (2013). Analysis of organic fractions as indicators of soil quality under natural and cultivated systems. *Soil and Tillage Research*, 131, 11-19.
- Edwards, C., Dominguez, J. & Neuhauser, E. (1998). Growth and reproduction of *Perionyx excavatus* (Perr.) (Megascolecidae) as factors in organic waste management. *Biology and Fertility of Soils* 27, 155–161. <https://doi.org/10.1007/s003740050414>

- Edwards, C.A., Arancon, N.Q. (2022). The Influence of Environmental Factors on Earthworms. In: *Biology and Ecology of Earthworms*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74943-3_7
- Elango, D., Kayalvizhi, N., & Jayanthi, P. (2023). Effects of a Neonicotinoid on Indigenous Earthworm *Perionyx excavatus* Biochemical and Histopathological Alterations. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 110(5), 1-8.
- Eriksen-Hamel, N. S., & Whalen, J. K. (2007). Impacts of earthworms on soil nutrients and plant growth in soybean and maize agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 120(2-4), 442-448.
- FAO (2015): Status of the world's soil resources. FAO, Rome. <http://www.fao.org/3/i5199e/I5199E.pdf>.
- FAO, ITPS, GSBI, SCBD, & EC (2020): State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities, Report 2020. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>
- Ferreira, T., James, S. W., Bartz, M. L. C., De Lima, A. C. R., Dudas, R., & Brown, G. G. (2023). Distribution and diversity of earthworms in different land use systems in Rio Grande do Sul, Brazil. *Zootaxa*, 5255(1), 399-416.
- Förster, B., Garcia, M., Höfer, H., Morgan, E., & Römcke, J. (2009). Tropical terrestrial model ecosystems for evaluation of soil fauna and leaf litter quality effects on litter consumption, soil microbial biomass and plant growth. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 1063-1071.
- Fragoso, C., Brown, G. G., Patrón, J. C., Blanchart, E., Lavelle, P., Pashanasi, B., Senapati, B. K., Kumar, T. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms. *Applied soil ecology*, 6(1), 17-35.
- Fragoso, C., Lavelle, P., Blanchart, E., Senapati, B. K., Jimenez, J. J., Martinez, M. D. L. A., ... & Tondoh, J. (1999). Earthworm communities of tropical agroecosystems: origin, structure and influence of management practices. In: *Earthworm management in tropical agroecosystems*. Eds Lavelle, P., Brussaard, L., Hendrix, P. p. 27-55.
- Garcia, M. (2004). Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions (Vol. 19). Cuvillier Verlag.
- Garcia, M.; Brito, M.; Garcia, T.; Pinheiro, S.; Mestrinho, C.; Römcke, J. (2008). *Minhocas nativas como indicadores da contaminação do solo*. In: Congresso

- Brasileiro de Ecotoxicologia, 10., 2008, Bento Gonçalves/RS. Resumos. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia, 2008. p. 84.
- García-Pérez, J. A., Alarcón, E., Hernandez, Y., & Hernandez, C. (2016). Impact of litter contaminated with glyphosate-based herbicide on the performance of *Pontoscolex corethrurus*, soil phosphatase activities and soil pH. *Applied Soil Ecology*, 104, 31-41.
- García-Perez, J. A., Alarcon-Gutierrez, E., & Diaz-Fleischer, F. (2020). Interactive effect of glyphosate-based herbicides and organic soil layer thickness on growth and reproduction of the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857). *Applied Soil Ecology*, 155, 103648.
- Gardi, C., Montanarella, L., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Jolivet, C., Mulder C, Ranjard L, Römcke J, Rutgers M, Menta, C. (2009) Soil biodiversity monitoring in Europe: ongoing activities and challenges. *European Journal of Soil Science*, 60(5), 807-819.
- Gates, G. E. (1972). Burmese earthworms: an introduction to the systematics and biology of megadrile oligochaetes with special reference to Southeast Asia. *Transactions of the American philosophical Society*, 62(7), 1-326.
- Gaupp-Berghausen, M., Hofer, M., Rewald, B., & Zaller, J. G. (2015). Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific reports*, 5(1), 12886.
- Gómez-Brandón, M., Lores, M., & Domínguez, J. (2012). Species-specific effects of epigeic earthworms on microbial community structure during first stages of decomposition of organic matter. *PloS one*, 7(2), e31895.
- Gudeta, K., Bhagat, A., Julka, J. M., Bhat, S. A., Sharma, G. K., Bantihun, G., ... & Belina, M. (2022). Impact of aboveground vegetation on abundance, diversity, and biomass of earthworms in selected land use systems as a model of synchrony between aboveground and belowground habitats in mid-himalaya, India. *Soil Systems*, 6(4), 76.
- Guhra, T., Stolze, K., Schweizer, S., & Totsche, K. U. (2020). Earthworm mucus contributes to the formation of organo-mineral associations in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 145, 107785.
- Hallatt, L., Reinecke, A. J., & Viljoen, S. A. (1990). Life cycle of the oriental compost worm *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). *African Zoology*, 25(1), 41-45.

- Heger, Z., Michalek, P., Guran, R., Havelkova, B., Kominkova, M., Cernei, N., ... & Kizek, R. (2015). Exposure to 17 β -Oestradiol induces oxidative stress in the non-oestrogen receptor invertebrate species *Eisenia fetida*. PLoS One, 10(12), e0145426.
- Hodson, M. E., Brailey-Crane, P., Burn, W. L., Harper, A. L., Hartley, S. E., Helgason, T., & Walker, H. F. (2023). Enhanced plant growth in the presence of earthworms correlates with changes in soil microbiota but not nutrient availability. Geoderma, 433, 116426.
- ISO. (1993). International Organization for Standardization. ISO 11268-1: soil quality: effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*): part 1: M: determination of acute toxicity using artificial soil substrate. Geneva.
- ISO. (2008). International Organization for Standardization. ISO 17512-1: soil quality: avoidance test for evaluating the quality of soils and the toxicity of chemicals: part 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneve.
- ISO. (2012) International Organization for Standardization. ISO 11268-2: Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 2: Determination of effects on reproduction to *Eisenia fetida* / *Eisenia andrei*. Geneve.
- Jat, H., Choudhary, M., Kakraliya, S., Gora, M., Kakraliya, M., Kumar, P., , P., Poonia, T., Mcdonald, A., Jat, M., Sharma, P., & Abdallah, A. (2022). A Decade of Climate-Smart Agriculture in Major Agri-Food Systems: Earthworm Abundance and Soil Physico-Biochemical Properties. Agronomy. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030658>.
- Jones, E. W., Jackson, M. C., & Grey, J. (2016). Environmental drivers for population success: Population biology, population and community dynamics. Biology and ecology of crayfish, 251, 286.
- Joshi, N., & Dabral, M. (2008). Life cycle of earthworms *Drawida nepalensis*, *Metaphire houlleti* and *Perionyx excavatus* under laboratory controlled conditions. Life Science Journal, 5(4), 83-86.
- King, R., Vaughan, I., Bell, J., Bohan, D., & Symondson, W. (2010). Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. Molecular Ecology, 19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04602.x>.

- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A., & Lombi, E. (2019). Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment international*, 132, 105078. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>.
- Kumar, S. S., Wani, O. A., Mir, S. A., Babu, S., Sharma, V., Chesti, M. U. H., ... & Yadav, D. (2022). Soil carbon dynamics in the temperate Himalayas: Impact of land use management. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 1009660.
- Kuperman, R. G., Checkai, R. T., Garcia, M. V. B., Römbke, J., Stephenson, G. L., & Sousa, J. P. (2009). State of the science and the way forward for the ecotoxicological assessment of contaminated land. *Pesquisa agropecuaria brasileira*, 44, 811-824.
- Lal, R. (2015). Restoring soil quality to mitigate soil degradation. *Sustainability*, 7(5), 5875-5895. <https://doi.org/10.3390/su7055875>
- Lal, R. (2016). Soil health and carbon management. *Food and Energy Security*, 5(4), 212-222. <https://doi.org/10.1002/fes3.96>
- Langdon, C. J., Pearce, T. G., Meharg, A. A., & Semple, K. T. (2003). Interactions between earthworms and arsenic in the soil environment: a review. *Environmental Pollution*, 124(3), 361-373.
- Langenbach, T., Inácio, M. V. D. S., Aquino, A. M. D., & Brunninger, B. (2002). Influência da minhoca *Pontoscolex corethrurus* na distribuição do acaricida dicofol em um Argissolo. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 37, 1663-1668.
- Lavelle, P. (1988). Earthworm activities and the soil system. *Biology and fertility of soils*, 6, 237-251. <https://doi.org/10.1007/BF00260820>
- Lavelle, P., Barois, I., Cruz, I., Fragoso, C., Hernandez, A., Pineda, A., & Rangel, P. (1987). Adaptive strategies of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta), a peregrine geophagous earthworm of the humid tropics. *Biology and Fertility of Soils*, 5, 188-194. <https://doi.org/10.1007/BF00256899>
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., ... & Rossi, J. P. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, 42, S3-S15. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>
- Lehmann, J., Bossio, D. A., Kögel-Knabner, I., & Rillig, M. C. (2020). The concept and future prospects of soil health. *Nature Reviews Earth & Environment*, 1(10), 544-553. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0080-8>
- Leite, L. F. C., Mendonça, E. S., Neves, J. C. L., Machado, P. L. O. A., & Galvão, J. C. C. (2003). Estoques totais de carbono orgânico e seus compartimentos em

Argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 27, 821-832.

Li, Y., Wang, J., & Shao, M. (2021). Assessment of earthworms as an indicator of soil degradation: A case?study on loess soils. Land Degradation & Development, 32, 2606 - 2617. <https://doi.org/10.1002/ldr.3928>.

Liu, T., Chen, X., Gong, X., Lubbers, I. M., Jiang, Y., Feng, W., ... & Liu, M. (2019). Earthworms coordinate soil biota to improve multiple ecosystem functions. Current Biology, 29(20), 3420-3429.

Lock. K., De Schamphelaere. K. A. C., & Janssen. C. R. (2002). The effect of lindane on terrestrial invertebrates. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 42. 217-221.

Macdonald, D. (1983). Predation on earthworms byterrestrial vertebrates. , 393-414. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5965-1_35.

Mangala, P., Pathiratne, A., Cornelis, A. M., Gestela, V., & de Silva, C. S. (2009). Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. Pesticide Effects on Earthworms: A Tropical Perspective. Amsterdam. 119p.

Mao, L., Zhang, L., Zhang, Y., & Jiang, H. (2017). Ecotoxicity of 1,3-dichloropropene, metam sodium, and dazomet on the earthworm *Eisenia fetida* with modified artificial soil test and natural soil test. Environmental Science and Pollution Research, 24(22), 18692–18698. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9620-2>

Medina-Sauza, R. M., Álvarez-Jiménez, M., Delhal, A., Reverchon, F., Blouin, M., Guerrero-Analco, J. A., ... & Barois, I. (2019). Earthworms building up soil microbiota, a review. Frontiers in Environmental Science, 7, 81.

Mestrinho, C C. (2009). Toxicidade aguda e rejeição ao fungicida oxicloreto de cobre para *Eisenia fetida* e *Pontoscolex corethrurus* (oligochaeta). 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

Müller F. *Lumbricus corethrurus*. Arch fur Naturg. 1857;6–113.

Narayanan, M., Murugan, J. M., Kandasamy, G., Kandasamy, S., Nasif, O., Rajendran, M., & Pugazhendhi, A. (2022). The biotransformation potential of *Bacillus cereus* on β -cypermethrin to protect the earthworm (*Perionyx excavatus*) on insecticide-contaminated soil. Archives of Agronomy and Soil Science, 68(7), 944-955.

- Neuhauser, E. F., Durkin, P. R., Malecki, M. R., & Anatra, M. (1986). Comparative toxicity of ten organic chemicals to four earthworm species. *Comparative biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology*, 83(1), 197-200.
- Ng, B., Chanabun, R., & Panha, S. (2019). Biological and physiological responses of *Perionyx excavatus* to abamectin. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 28309-28318.
- Nyffeler, M., Lapinski, W., Snyder, A., & Birkhofer, K. (2017). Spiders feeding on earthworms revisited: consumption of giant earthworms in the tropics. *Journal of Arachnology*, 45, 242 - 247. <https://doi.org/10.1636/JoA-17-013.1>.
- OECD. (1984). Organization for Economic Co-Operation and Development. Earthworm acute toxicity test. Paris. 9 p. (OECD. Guideline for testing of chemicals, 207).
- OECD. (2015) Organization for Economic Co-Operation and Development. Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/andrei*). Paris: OECD. Guidelines for testing of chemicals, 222. p. 19.
- Otunola, B. O., & Ololade, O. O. (2020). A review on the application of clay minerals as heavy metal adsorbents for remediation purposes. *Environmental Technology & Innovation*, 18, 100692.
- Pauli N, Barrios E, Conacher AJ, Oberthür T (2011) Soil macrofauna in agricultural landscapes dominated by the Quesungual Slash-and-Mulch Agroforestry System, western Honduras. *Appl Soil Ecol* 47(2):119–132
- Pelosi, C., Joimel, S., & Makowski, D. (2013). Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests – A meta-analysis. *Chemosphere*, 90(3), 895–900. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.034>
- Peres, G., Cluzeau, D., Ferrand, C.; & Peron, D. (2006). Earthworms used as indicators of agricultural managements. BIO-BIO Project. Biodiversity-Bioindication to Evaluate Soil Health; Cenci, RM, Sena, F., Eds, 22245, 107-115.
- Petit-dit-Grézéziat, L., Rault, M., Serbource, C., & Pelosi, C. (2024). Earthworm inoculation in degraded soils: A meta-analysis. *Applied Soil Ecology*, 204, 105745. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105745>.
- Phillips, H. R. P., Cameron, E. K., Eisenhauer, N., Burton, V. J., Ferlian, O., Jin, Y., Kanabar, S., Malladi, S., Murphy, R. E., Peter, A., Petrocelli, I., Ristok, C., Tyndall, K., van der Putten, W., & Beaumelle, L. (2024): Global changes and their

- environmental stressors have a significant impact on soil biodiversity-A meta-analysis. *iScience*, 27(9): 110540. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110540>
- Prendergast-Miller, M., Jones, D., Berdeni, D., Bird, S., Chapman, P., Firbank, L., Grayson, R., Helgason, T., Holden, J., Lappage, M., Leake, J., & Hodson, M. (2021). Arable fields as potential reservoirs of biodiversity: Earthworm populations increase in new leys.. *The Science of the total environment*, 789, 147880 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147880>.
- Ramnarine, R., Voroney, R. P., Wagner-Riddle, C., & Dunfield, K. E. (2015). Conventional and no tillage effects on the distribution of crop residues and light fraction organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 79(1), 74-80.
- Reinecke, A. J., & Hallatt, L. (1989). Growth and cocoon production of *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). *Biology and fertility of soils*, 8, 303-306.
- Righi, G. (1984). *Pontoscolex* (Oligochaeta, Glossoscolecidae), a new evaluation. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 19(3), 159-177.
- Righi, G. 1997. Minhocas da América Latina: Diversidade, função e valor. In *Anais do XXVI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo*. Rio de Janeiro: SBCS, CD-Rom.
- Römbke, J., Jänsch, S., & Didden, W. (2005). The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2), 249-265.
- Römbke, J., Jänsch, S., Junker, T., Pohl, B., Scheffczyk, A., & Schallnaß, H. J. (2006). Improvement of the applicability of ecotoxicological tests with earthworms. springtails. and plants for the assessment of metals in natural soils. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 25(3). 776-787.
- Römbke, J., Jänsch, S., Junker, T., Pohl, B., Scheffczyk, A., & Schallnaß, H. J. (2007). The effect of tributyltin-oxide on earthworms. springtails. and plants in artificial and natural soils. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 52. 525-534.
- Roscoe, R., & Machado, P. D. A. (2002). Fracionamento físico do solo em estudos de matéria orgânica.
- Ross, D. S., Knowles, M. E., Juillerat, J. I., Görres, J. H., Cogbill, C. V., Wilmot, S., & D'Agati, K. (2021). Interaction of land use history, earthworms, soil chemistry and tree species on soil carbon distribution in managed forests in Vermont, USA. *Forest Ecology and Management*, 489, 119049.

- Salloum, M. J., Dudas, M. J., & McGill, W. B. (2001). Variation of 1-naphthol sorption with organic matter fractionation: the role of physical conformation. *Organic Geochemistry*, 32(5), 709-719.
- Santos, A., Gorte, T., Demetrio, W. C., Ferreira, T., Nadolny, H., Cardoso, G. B., Tonetti C., Ralisch R., Nunes AP., Coqueiro ACP., Leandro HCL., Wandscheer CAR., Bortoluzzi J., Brown GG & Bartz, M. L. (2018). Earthworm species in no-tillage agroecosystems and native Atlantic forests in Western Paraná, Brazil. *Zootaxa*, 4496(1), 517-534
- Sanyal, S., Dasgupta, R., Kaviraj, A., & Chakravorty, P. P. (2015). Comparative toxicity studies of four pesticides on the epigeic earthworm *Perionyx excavatus* in two different soil media. *EM International*, 34(1), 47-51.
- Sapbamrer, R., & Chittrakul, J. (2022). Determinants of consumers' behavior in reducing pesticide residues in vegetables and fruits, Northern Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(20), 13033.
- Schiedeck, G., Pasini, A., Alves, P.R.L., Niva, C.C., Cantelli, K., Buch, A.C., Brown, G.G., Martin, J.D. (2019). Criação e manutenção dos organismos. In: *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Ed.: Niva, CC; Brown, GG. Brasília, DF. Cap 4. 81-132 p.
- Séguaris, J. M., Lavoretti, A., & Burauel, P. (2005). Equilibrium partitioning of ¹⁴C-benzo (a) pyrene and ¹⁴C-benazolin between fractionated phases from an arable topsoil. *Environmental Pollution*, 135(3), 491-500
- Sharma, P., Laor, Y., Raviv, M., Medina, S., Saadi, I., Krasnovsky, A., Vager, M., Levy, G., Bar-Tal, A., & Borisover, M. (2017). Compositional characteristics of organic matter and its water-extractable components across a profile of organically managed soil. *Geoderma*, 286, 73-82. <https://doi.org/10.1016/J.Geoderma.2016.10.014>.
- Smith, R. G., McSwiney, C. P., Grandy, A. S., Suwanwaree, P., Snider, R. M., & Robertson, G. P. (2008). Diversity and abundance of earthworms across an agricultural land-use intensity gradient. *Soil and Tillage Research*, 100(1-2), 83-88.
- Smith, P., Poch, R. M., Lobb, D. A., Bhattacharyya, R., Alloush, G., Eudoxie, G. D., ... & Hallett, P. (2024). Status of the World's Soils. *Annual Review of Environment and Resources*, 49.

- Spurgeon, D. J., Keith, A. M., Schmidt, O., Lammertsma, D. R., & Faber, J. H. (2013). Land-use and land-management change: relationships with earthworm and fungi communities and soil structural properties. *BMC ecology*, 13, 1-13.
- Sutri, M., Ivask, M., Kuu, A., Escuer-Gatius, J., Reintam, E., & Shanskiy, M. (2024). The effects of agricultural practices on earthworm communities in Estonia. *European Journal of Soil Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2024.103662>.
- Szoboszlay, M., Dohrmann, A. B., Poeplau, C., Don, A., & Tebbe, C. C. (2017). Impact of land-use change and soil organic carbon quality on microbial diversity in soils across Europe. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(12), fix146.
- Taheri, S., Decaëns, T., Cunha, L., Brown, G. G., Da Silva, E., Bartz, M. L. C., ... & Dupont, L. (2020). Genetic evidence of multiple introductions and mixed reproductive strategy in the peregrine earthworm *Pontoscolex corethrurus*. *Biological Invasions*, 22, 2545-2557.
- Taheri, S., James, S., Roy, V., Decaëns, T., Williams, B. W., Anderson, F., ... & Dupont, L. (2018). Complex taxonomy of the 'brush tail' peregrine earthworm *Pontoscolex corethrurus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 124, 60-70.
- Tang, F. H., & Maggi, F. (2021). Pesticide mixtures in soil: a global outlook. *Environmental Research Letters*, 16(4), 044051.
- Van Capelle, C., Schrader, S., & Brunotte, J. (2012). Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota—A review with a focus on German data. *European Journal of Soil Biology*, 50, 165-181.
- van Dijk M, Morley T, Rau ML, Saghai Y (2021) A metaanalysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nat Food* 2:494–501. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>.
- Van Groenigen, J. W., Lubbers, I. M., Vos, H. M., Brown, G. G., De Deyn, G. B., & Van Groenigen, K. J. (2014). Earthworms increase plant production: a meta-analysis. *Scientific reports*, 4(1), 6365. <https://doi.org/10.1038/srep06365>.
- Venter, J. M., & Reinecke, A. J. (1988). The life-cycle of the compost worm. *African Zoology*, 23(3), 161-165.
- Vieira, F. C. B., Bayer, C., Zanatta, J. A., Dieckow, J., Mielniczuk, J., & He, Z. L. (2007). Carbon management index based on physical fractionation of soil organic matter in an Acrisol under long-term no-till cropping systems. *Soil and Tillage Research*, 96(1-2), 195-204.

- Voltr, V., Menšík, L., Hlisnikovský, L., Hruška, M., Pokorný, E., & Pospíšilová, L. (2021). The Soil Organic Matter in Connection with Soil Properties and Soil Inputs. *Agronomy*, 11, 779. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11040779>.
- Vos, H., Koopmans, G., Ferron, L., Oenema, O., & Van Groenigen, J. (2022). `Do earthworms increase grass biomass production and phosphorus uptake under field conditions?. *Applied Soil Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104598>.
- Vršič S, Breznik M, Pulko B, Rodrigo-Comino J (2021) Earthworm abundance changes depending on soil management practices in Slovenian Vineyards. *Agronomy* 11:1241. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061241>
- Wang, L., Huang, X., Laserna, A. K. C., & Li, S. F. Y. (2018). Untargeted metabolomics reveals transformation pathways and metabolic response of the earthworm *Perionyx excavatus* after exposure to triphenyl phosphate. *Scientific Reports*, 8(1), 16440.
- Wang, P., & Keller, A. A. (2009). Sorption and desorption of atrazine and diuron onto water dispersible soil primary size fractions. *Water Research*, 43(5), 1448-1456.
- White, B. P., Pilgrim, E. M., Boykin, L. M., Stein, E. D., & Mazor, R. D. (2014). Comparison of four species-delimitation methods applied to a DNA barcode data set of insect larvae for use in routine bioassessment. *Freshwater Science*, 33(1), 338-348.
- Yan, Y., Zhai, J., Wang, L., & Wang, X. (2024). Response and defense mechanisms of the earthworms *Eisenia foetida* to natural saline soil stress. *Science of The Total Environment*, 951, 175480. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175480>
- Yasmin, S., & D' Souza, D. (2010). Effects of pesticides on the growth and reproduction of earthworm: a review. *Applied and Environmental soil science*, 2010(1), 678360.

2 ARTIGO I: AVALIANDO A FUNÇÃO HÁBITAT DO SOLO UTILIZANDO MINHOCAS COMO BIOINDICADORAS

2.1 RESUMO

As minhocas participam de diversas funções ecossistêmicas no solo, e suas populações são afetadas pelo manejo e a qualidade dos solos. Os ensaios ecotoxicológicos padronizados da ISO e da ABNT permitem avaliar o impacto de diversas substâncias em espécies edáficas, porém não são adaptados aos solos tropicais e subtropicais. Neste trabalho, investigou-se a sobrevivência, desenvolvimento e reprodução de duas espécies de minhocas (*Pontoscolex corethrurus* e *Perionyx excavatus*), em ensaios padrões usando solos de três sistemas de uso e manejo: lavouras anuais sob plantio direto, culturas anuais sob plantio convencional (ambas sem uso de agrotóxicos) e floresta ombrófila mista. Como controle, foi utilizado o solo artificial tropical (SAT) padrão para ensaios ecotoxicológicos, consistindo de 70% areia, 20% caulim, e 10% pó de fibra de coco. Cada unidade experimental recebeu 500 g (seco) de solo, em capacidade de campo a 60%, além de 6 g de alimento e 10 indivíduos adultos de cada espécie. O ensaio durou 56 e 91 dias com *P. excavatus* e *P. corethrurus*, respectivamente. A espécie *P. corethrurus* ganhou peso, especialmente no plantio convencional, diferindo dos demais sistemas, porém, quase não houve reprodução neste sistema e apenas 1 casulo; enquanto no solo de plantio direto e floresta encontraram-se juvenis e casulos (8,2 e 21 e 9,6 e 16,4, respectivamente), mas sem diferença significativa entre os sistemas de manejo. No SAT, a alta condutividade ($1,18 \text{ mS cm}^{-1}$) levou à morte de todos os indivíduos inoculados. Com *P. excavatus*, a alta condutividade do SAT afetou negativamente a reprodução, em comparação aos solos naturais, onde não houve diferença na reprodução entre os sistemas de manejo. A espécie *P. excavatus* apresenta-se como útil para ensaios de reprodução, por ter baixa mortalidade e alta reprodução em diferentes manejos do solo. Para futuros ensaios recomendamos novas adaptações na avaliação com *P. corethrurus*, com avaliações quinzenais do comportamento e biomassa, principalmente para detectar a mortalidade que ocorreu no SAT.

Palavras-chave: Ecotoxicologia terrestre. Oligoquetas. Solos naturais.

2.2 ABSTRACT

Earthworms play several ecosystem functions, and their status is affected by soil management and quality. Standardized ecotoxicological tests from ISO and ABNT allow the evaluation of the impact of several substances on soil species, but these methods are not good representatives of tropical and subtropical soils. In this study, the survival, development and reproduction of two species of earthworms (*Pontoscolex corethrurus* and *Perionyx excavatus*) were investigated in standard tests using soils from three land use and management systems: annual crops under no-tillage, annual crops under conventional tillage (both without the use of pesticides) and native mixed rainforest. As a control, a standard artificial tropical soil (ATS) for ecotoxicological tests was used, consisting of 70% sand, 20% kaolin and 10% coconut fiber powder. Each experimental unit received 500 g (dry) of soil, with a field capacity of 60%, in addition to 6 g of food and 10 adult individuals of each species. The trial lasted 56 and 91 days with *P. excavatus* and *P. corethrurus*, respectively. The species *P. corethrurus* gained weight, especially in conventional planting,

differentiating it from the other systems, however, there was almost no reproduction in this system (1 cocoon), while in the no-tillage and forest soil, juveniles and cocoons were found (8.2 and 21 and 9.6 and 16.4, respectively), but with no significant difference between the management systems. In the ATS, the high conductivity (1.32 mS cm^{-1}) led to the death of all inoculated individuals. With *P. excavatus*, the high conductivity of the SAT presented reproductive qualities, compared to natural soils, where there was no difference in reproduction between the management systems. *P. excavatus* is useful for reproduction trials, as it has low mortality and high reproduction in different soil managements. For future trials, we recommend new adaptations in the evaluation with *P. corethrurus*, with biweekly evaluations of behavior and biomass, mainly to detect the mortality that occurred in the ATS.

Keywords: Terrestrial ecotoxicology. Oligochaetes. Natural soils.

2.3 INTRODUÇÃO

O solo é um importante *hotspot* de biodiversidade, essencial para o funcionamento dos ecossistemas terrestres (Bach et al. 2020; Van Der Ent & Lambers, 2016). Os animais edáficos representam aproximadamente 59% de todas as espécies descritas no mundo (Decaëns et al., 2006; Anthony et al. 2023;), e contribuem para importantes serviços ecossistêmicos desde o suporte à produção agrícola até a regulação dos gases de efeito estufa e da ciclagem de nutrientes e dos fluxos de água no solo (Lavelle et al., 2006) e, portanto, devem ser considerados como um recurso biológico natural nos solos agrícolas e florestais (Lavelle et al., 2001).

Apesar de sua importância, o estudo da biodiversidade do solo enfrenta desafios existindo importantes lacunas de dados e ameaças ambientais, destacando a necessidade de maiores esforços de conservação e práticas de gestão sustentáveis, principalmente para invertebrados, os quais tem sido negligenciados ao longo dos anos (Eisenhauer et al., 2019; FAO, 2020; Wall et al. 2015). Por ser um sistema complexo, o solo e sua qualidade são influenciados pelas propriedades químicas, físicas e biológicas, e pelas interações internas e externas com o ambiente natural e antrópico (Vezzani & Mielniczuk, 2011).

O sistema solo oferece uma variedade de recursos para a biota edáfica que diferem em sua disponibilidade física e química dependendo do sistema de manejo. Estudos de Garcia (2004) e De Silva et al. (2009) mostraram como os organismos edáficos tropicais reagem diferentemente em solos tropicais que os de clima

temperado, sendo influenciados por fatores como a temperatura, o tipo de solo, sua textura e mineralogia, a natureza do contaminante, os pontos finais medidos e suas interações, resultando em sensibilidades diferentes dos organismos aos mesmos contaminantes. Além disso, os solos da região tropical são habitados por uma imensa diversidade de espécies, particularmente de invertebrados como as minhocas (Brown et al., 2006a), o que dificulta a previsão dos efeitos ecotoxicológicos de contaminantes como agrotóxicos em campo (De Silva et al., 2010; Briones & Schmidt, 2017).

A abundância e diversidade da fauna edáfica e seu comportamento em diferentes tipos de solos e sistemas de manejo (Chelinho et al., 2011; Demetrio et al., 2020) são importantes indicadores da qualidade dos solos e da sustentabilidade do uso dos ecossistemas terrestres (Brown & Domínguez, 2010; Bünemann et al., 2018). Por exemplo, o uso prolongado de práticas agrícolas convencionais, incluindo fertilizantes químicos e agrotóxicos em excesso, e o revolvimento do solo, pode causar graves danos à biodiversidade de minhocas (Xie et al., 2018; Marshall e Lynch, 2020; Singh et al., 2020). Além disso, mudanças no sistema de uso da terra alteram as condições físicas, químicas e biológicas do solo (Demetrio et al., 2020), afetando a densidade e diversidade da macrofauna do solo e de minhocas, e a qualidade do solo (Brussaard et al., 2007; Pauli et al., 2011; Lavelle et al., 2022).

Vários métodos padrão foram desenvolvidos pela Organização Internacional para Padronização (ISO) para avaliar o impacto de contaminantes no solo sobre a fauna edáfica (Römbke et al., 2006). Esses incluem testes agudos (mortalidade) e crônicos (reprodução), assim como testes comportamentais (fuga) (Niva & Brown, 2019). Os ensaios com minhoca fazem parte dos ensaios obrigatórios para a o licenciamento de novos agrotóxicos (IBAMA, 2009), sendo usadas para avaliar os impactos de novos ingredientes ativos, como representantes do impacto de contaminantes sobre organismos não-alvo dos agrotóxicos.

As minhocas de minhocultura ou vermicompostagem das espécies *Eisenia fetida* ou *E. andrei* são as espécies padrão usadas nos testes ecotoxicológicos da ISO (2012) e ABNT (2011). Elas têm sido amplamente usadas em ensaios ecotoxicológicos (Langenbach et al., 2002; Garcia, 2004; Garcia et al., 2008; Kuperman et al., 2009; Förster et al., 2009; Mestrinho, 2009; Gaupp-Berghausen et al., 2015; García-Pérez et al., 2016; García-Pérez et al., 2020), demonstrando sua flexibilidade e utilidade para avaliar impactos de contaminantes no solo (Niva &

Brown, 2019). Por serem de fácil cultivo em laboratório, têm sido indicadas para avaliação padronizada dos impactos de contaminantes no solo. Porém, não são encontradas em solos na região tropical, havendo registro apenas em jardins urbanos de cinco municípios do Rio Grande do Sul no início dos anos 1970 (Knäpper, 1972).

Nesse sentido, outras espécies, particularmente de clima tropical ou subtropical podem ser mais interessantes por gerarem resultados mais relevantes, particularmente se elas podem ser facilmente cultiváveis e/ou são comuns e habitam diferentes tipos de solos de áreas agrícolas ou florestais. Assim, Buch et al. (2011; 2013) preconizaram o uso da espécie Pantropical geófaga *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857), a “minhoca mansa”, comumente encontrada nos solos perturbados do Brasil (Brown et al., 2006). Enquanto isso, Schiedeck et al. (2019) recomendaram a utilização da espécie epigêica tropical *Perionyx excavatus* (Perrier, 1872), a “violeta-do-himalaia”. Contudo, ainda há poucos dados sobre a viabilidade mais ampla do uso dessas espécies na avaliação da saúde ou contaminação do solo, havendo apenas dois trabalhos publicados no Brasil com essas espécies em solos naturais (Buch et al., 2017; de Oliveira et al., 2024).

Portanto, faz-se necessário ampliar o conhecimento do potencial dessas espécies de serem mais amplamente usadas para essa finalidade, visando melhorar a compreensão dos efeitos de contaminantes no solo sobre as minhocas e sua interação com diferentes sistemas de uso do solo e manejo das culturas agrícolas e florestais no país. Esses dados são fundamentais para o desenvolvimento de práticas agrícolas sustentáveis que minimizem os impactos negativos ao meio ambiente. Além disso, essas informações podem contribuir para a elaboração de políticas públicas e legislação mais eficaz para o uso responsável de agrotóxicos e a conservação da biodiversidade do solo.

Nesse contexto, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos de diferentes sistemas de uso do solo sobre a qualidade do solo, usando como indicadores biológicos a reprodução e sobrevivência de duas espécies de minhocas: *P. corethrurus* e *P. excavatus*. Foram comparados solos de dois sistemas agrícolas (um com plantio convencional e outro com plantio direto) com o solo de um fragmento de floresta nativa (Mata Atlântica). Testou-se a hipótese de que a sobrevivência e reprodução de *P. corethrurus* seriam menores que de *P. excavatus* em todos os solos, e que a floresta nativa teria melhor qualidade, permitindo melhor

reprodução e sobrevivência de ambas espécies de minhocas que no solo das áreas agrícolas. Além disso, que o solo do plantio convencional teria a pior qualidade, com menor taxa de reprodução e sobrevivência que a área com plantio direto, para ambas as espécies.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Coleta e preparo do solo

Os solos utilizados no estudo foram coletados em três áreas da Fazenda Canguiri da Universidade Federal do Paraná (UFPR), município de Pinhais, Paraná. Os solos foram classificados como Cambissolo Háplico (equivalente Cambisols, WRB, 2015) de acordo com o sistema brasileiro de classificação de solos (Santos et al. 2018a). Por estarem na Área de Proteção Ambiental (APA) do Iraí, o uso de agrotóxicos não é permitido nessas áreas, e a coleta foi realizada na profundidade de 0-20 cm em quatro pontos de três sistemas de uso e manejo: 1) plantio direto consolidado (latitude -25.400785°S, longitude -49.121360°W) com >20 anos (PD), parte do experimento de sistemas integrados do Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária (NITA) (Lang et al., 2018); 2) área degradada (-25.390318°S, -49.124413°W) pelo contínuo preparo convencional (PC); e 3) mata nativa (-25.400877°S, -49.122604°W) com floresta ombrófila mista (MN). Como substrato padrão recomendado nos ensaios ecotoxicológicos, foi utilizado o solo artificial tropical (SAT) composto por uma mistura de areia fina (70% do volume total da mistura), caulim (20%) e pó de fibra de casca de coco (10%) (Garcia, 2004; Niemeyer et al., 2019).

O solo foi seco ao ar, destorroado, peneirado a 2 mm e armazenado para posterior uso e análise física e química. Foram realizadas análises granulométricas conforme método do densímetro (Bouyoucos, 1927) e análise química conforme Motta e Marques (2003). A análise química consistiu na determinação de pH em água, P e K⁺ com o extrator Mehlich-1, Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ com extração em KCl 1 mol L⁻¹, e a acidez potencial (H + Al) em 0,5 mol L⁻¹ com extrator de acetato de cálcio em pH 7,0. CTC potencial foi calculada somando a soma de bases e acidez potencial, determinando assim a capacidade de troca de cátions a pH 7,0. Além disso, mediu-se a condutividade elétrica (CE) por meio da relação solo:água

destilada (volume 20:20) (Richards,1954). As análises químicas e físicas do solo foram realizadas no solo proveniente do campo, antes da inoculação das minhocas (Tabela 2).

Tabela 2. Caracterização química e granulométrica dos solos provenientes de diferentes sistemas de uso do solo: Plantio Direto (PD), Plantio Convencional (PC), Mata Nativa (MN) e Solo Artificial Tropical (SAT), antes dos ensaios de reprodução.

	Areia	Argila	Silte	pH	pH	SMP	P	C	K	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC	CE
	g Kg ⁻¹						g Kg ⁻¹									mS cm ⁻¹
PD	450	425	125	5,77	5,79	5,79	0,14	45,32	0,77	0,04	6,65	2,75	0,14	5,80	16,01	0,75
PC	400	525	75	6,02	6,53	6,53	0,04	37,82	0,16	0,03	9,65	4,09	0,04	3,30	17,23	0,12
MN	575	300	125	4,95	4,81	4,81	2,84	55,57	0,13	0,04	3,71	1,75	2,84	14,40	20,03	0,69
SAT	775	175	50	6,14	6,41	6,41	0,05	47,69	1,11	0,63	1,90	0,93	0,05	3,70	8,26	1,18

PC = Plantio convencional; PD = Plantio Direto; MN = Mata Nativa; SAT = Solo Artificial Tropical. Areia total, Silte e Argila: método densímetro Bouyoucos. pH em água; P e K⁺: extrator Mehlich⁻¹; Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺: extrator de KCl 1 mol L⁻¹; H + Al: 0,5 mol L⁻¹ extrator de acetato de cálcio em pH 7,0. CTC potencial= Capacidade de troca catiônica a pH 7,0. CE= Condutividade elétrica

2.4.2 Ensaio ecotoxicológicos

Para os ensaios ecotoxicológicos foram utilizadas duas espécies de minhocas, *P. corethrurus* e *P. excavatus*. A espécie *P. corethrurus* foi obtida de um solo livre de contaminantes provenientes na área experimental da Embrapa Florestas. Nessa área, previamente uma plantação de *Pinus elliottii*, existe uma população clonal de apenas uma linhagem de *P. corethrurus* (L1), considerada a mesma do neótipo da espécie (Taheri et al., 2018; James et al., 2019). Como a espécie possui diversidade críptica, é importante caracterizar a espécie geneticamente para saber qual linhagem está sendo usada nos ensaios (Schiedeck et al., 2019). Os indivíduos de *P. excavatus* foram comprados da empresa Minhobox® de Juiz de Fora, que proporciona diversas espécies de minhocas para ensaios ecotoxicológicos no Brasil.

Os ensaios de ecotoxicidade crônica (reprodução) foram realizados usando o método padrão do International Standard Organization - ISO 11268-2 – Efeito de poluentes em minhocas, determinação do efeito na reprodução (ISO, 2012). O ensaio foi adaptado conforme as espécies de minhocas utilizadas. Para *P. excavatus*, a temperatura da incubadora BOD foi de $24 \pm 1,5$ °C e para *P. corethrurus* o tempo de condução do ensaio foi prolongado para 91 dias, além da temperatura da incubadora ser ajustada para $22 \pm 1,5$ °C. A umidade dos solos foi ajustada para 60% da capacidade de retenção de água (CRA).

Utilizou-se 500 g de solo seco dos diferentes sistemas de uso e de SAT em recipientes de plástico com capacidade de 1 L, formando uma lâmina de solo de no mínimo 6 cm de altura. Para cada unidade experimental, adicionou-se esterco equino seco (6 g) e em seguida dez minhocas adultas (cliteladas) de *P. excavatus* com peso entre 200 e 400 mg. Para *P. corethrurus*, adicionaram-se sete minhocas adultas (cliteladas) e três sub-adultas (sem clitelo completamente desenvolvido) com peso similar às adultas (entre 500 a 700 mg), já que não foram encontradas minhocas adultas em número suficiente no local de coleta. O esterco usado para alimentar as minhocas ao longo do ensaio apresentava a seguinte composição química: 30,6 g kg⁻¹ C; 2,5 g kg N; 15,8 g kg⁻¹ P; 21,6 g kg⁻¹ Ca; 9,4 g Kg⁻¹ Mg e 48,2 mg Kg⁻¹ Cu. Os recipientes foram fechados com tampas contendo pequenos furos que permitiam trocas gasosas e a entrada de luz, mas de modo a evitar a fuga das minhocas.

Por se tratarem de ensaios de longa duração (entre 8 e 13 semanas), semanalmente a umidade dos substratos (60% da CRA), e quantidade de alimento (esterco de equino) foram ajustadas conforme o consumo pela espécie, permitindo às minhocas um ambiente ideal, com alimento disponível e umidade necessárias para seu crescimento e reprodução.

Para ensaios com *P. excavatus*, os animais foram retirados manualmente após 28 dias do início do experimento, e submetidos a avaliações de alterações morfológicas (lesões, alterações no clitelo), letalidade, peso e deformidades, e comportamentais (lentidão). As minhocas juvenis e casulos encontrados permaneceram nos recipientes até a finalização do ensaio. Para as minhocas *P. corethrurus*, as mesmas foram retiradas e avaliadas somente no final do ensaio. Portanto, após 56 (*P. excavatus*) e 91 dias (*P. corethrurus*) do início do ensaio, realizou-se a contagem do número de juvenis e casulos gerados, avaliando os efeitos dos solos e do SAT na reprodução. Nesta etapa, os recipientes-teste sem as tampas foram colocados em banho-maria à temperatura de 55 °C a 65 °C, por um período de 20 a 30 minutos (ISO, 2012). Pelo calor produzido dentro do recipiente, os juvenis sobem até a superfície do solo, facilitando a separação e contagem manual. Posteriormente, o solo foi colocado em bandejas para realização da retirada de todos os juvenis e casulos que porventura permaneceram no meio.

Os ensaios de reprodução são considerados válidos quando atingem os critérios da norma ISO 11268-2 (2012), um número de indivíduos juvenis de *P. excavatus* ≥ 30 , coeficiente de variação inferior a 30% e mortalidade de minhocas adultas ≤ 10 indivíduos, estabelecidos para solo artificial (SAT), padrão usado nos ensaios ecotoxicológicos com minhocas (Niva & Brown, 2019). Para *P. corethrurus*, foram feitas cinco réplicas de SAT, e três réplicas para *P. excavatus*, contendo as mesmas quantidades de solo e animais inoculados, e alimentação suplementar, conforme necessidade.

2.4.3 Análises estatísticas

A biomassa e reprodução das minhocas, bem como os atributos químicos do solo analisados, foram comparados entre os sistemas de uso e manejo do solo (PD, PC e MN), para determinar diferenças significativas existentes. Foi realizada a análise de variância (ANOVA), cujos pressupostos de normalidade e

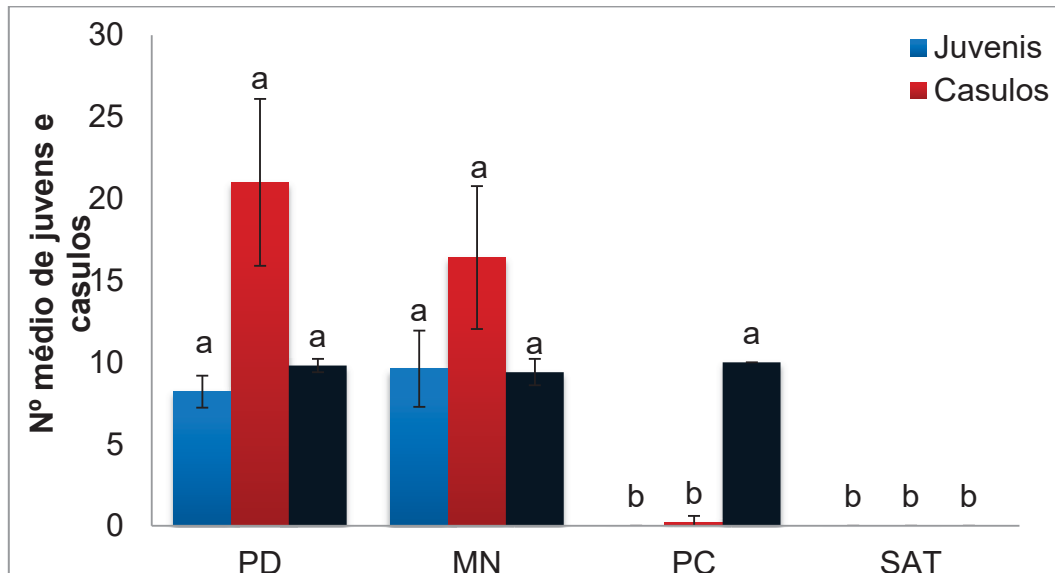
homogeneidade de variâncias dos dados foram avaliados utilizando testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. Quando a ANOVA foi significativa, a diferença entre as médias foi obtida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para os dados que não apresentaram distribuição normal, foi usada a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis e, quando esta foi significativa, foi realizado o teste de Dunn ($p < 0,05$). A rejeição da hipótese nula da ANOVA indica a existência de diferenças significativas entre os tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote *easyanova* (Arnhold, 2013) no programa R (R core team, 2024).

2.5 RESULTADOS

2.5.1 Sobrevivência e reprodução de *P. corethrurus*

Ao final do ensaio (91 dias), o número médio de minhocas encontradas em cada tratamento não diferiu entre os sistemas PD, PC e MN, havendo mortalidade de apenas três indivíduos em MN e um em PD (Figura 1). Entretanto, no SAT todos os animais inoculados morreram, sendo a sobrevivência dos adultos significativamente diferentes dos demais tratamentos. Já o número de juvenis e casulos foi significativamente maior em PD e MN, indicando melhor taxa de reprodução nesses sistemas que no PC e SAT.

Figura 1. Sobrevivência (número médio de indivíduos adultos encontrados) e reprodução (número médio de casulos e juvenis) de *Pontoscolex corethrurus* ao final do ensaio de 91 dias no solo artificial tropical (SAT), mata nativa (MN), plantio direto (PD), e plantio convencional (PC).

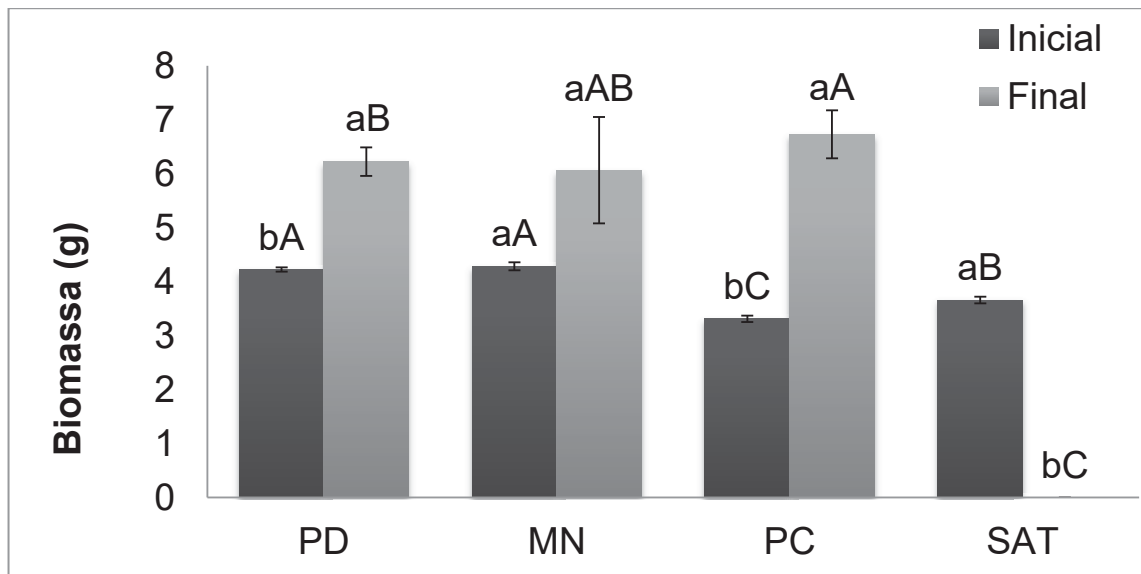


Fonte: O autor (2025)

SAT: solo artificial tropical, MN: mata nativa, PD: plantio direto, PC: plantio convencional. Letras comparam cada uma das médias (n=5) das variáveis nos diferentes tratamentos, de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey $p < 0,05$.

Quanto à biomassa total (Figura 2), as minhocas estavam ligeiramente mais pesadas em solos de PC (6,73 g) que PD (6,22 g), apesar de terem tido menor biomassa média no início do ensaio (3,31 g e 4,22 g, respectivamente). A biomassa fresca das minhocas foi semelhante em PC e MN aos 91 dias, mas todos os tratamentos tiveram maior biomassa que no SAT, devido à mortalidade das minhocas nesse tratamento. Comparando com a biomassa inicial, PC e PD tiveram aumento significativo na massa média das minhocas, enquanto no SAT houve perda total. Apesar disso, não foram observadas alterações morfológicas nas minhocas em nenhum dos solos avaliados.

Figura 2. Biomassa total (g) das minhocas *Pontoscolex corethrurus* ao início e ao final do ensaio de reprodução em diferentes sistemas de uso do solo, mata nativa (MN), plantio direto (PD), plantio convencional (PC), solo artificial tropical (SAT).



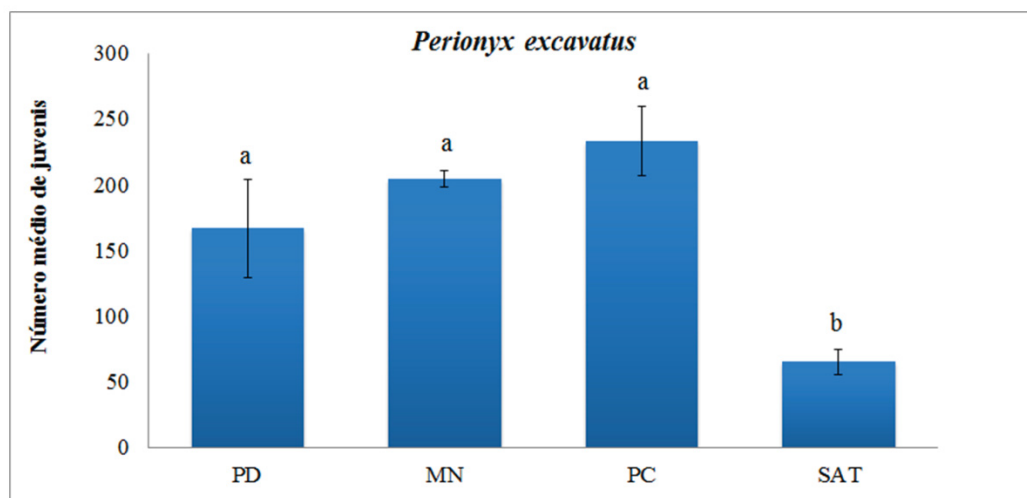
Fonte: O autor (2025)

SAT: solo artificial tropical, MN: mata nativa, PD: plantio direto, PC: plantio convencional. Letras comparam cada uma das médias (n=5) das variáveis nos diferentes tratamentos, letras minúsculas distintas comparam diferenças entre os períodos e letras maiúsculas distintas comparam diferenças entre os tratamentos em cada período teste de Tukey $p < 0,05$.

2.5.2 Sobrevivência e reprodução de *P. excavatus*

Os ensaios foram validados conforme critérios da ISO 11268 – 2 (ISO, 2012) para *E. andrei/fetida* usando o SAT, com um número de indivíduos juvenis de *P. excavatus* ≥ 30 , coeficiente de variação inferior a 30% e mortalidade de minhocas adultas ≤ 10 indivíduos em 28 dias. Não houve mortalidade de minhocas dessa espécie em nenhum tratamento aos 28 dias.

Figura 3. Reprodução (número médio de juvenis) de *Perionyx excavatus* no final do ensaio de 56 dias, em cada tratamento: solo artificial tropical (SAT), mata nativa (MN), plantio direto (PD), plantio convencional (PC).

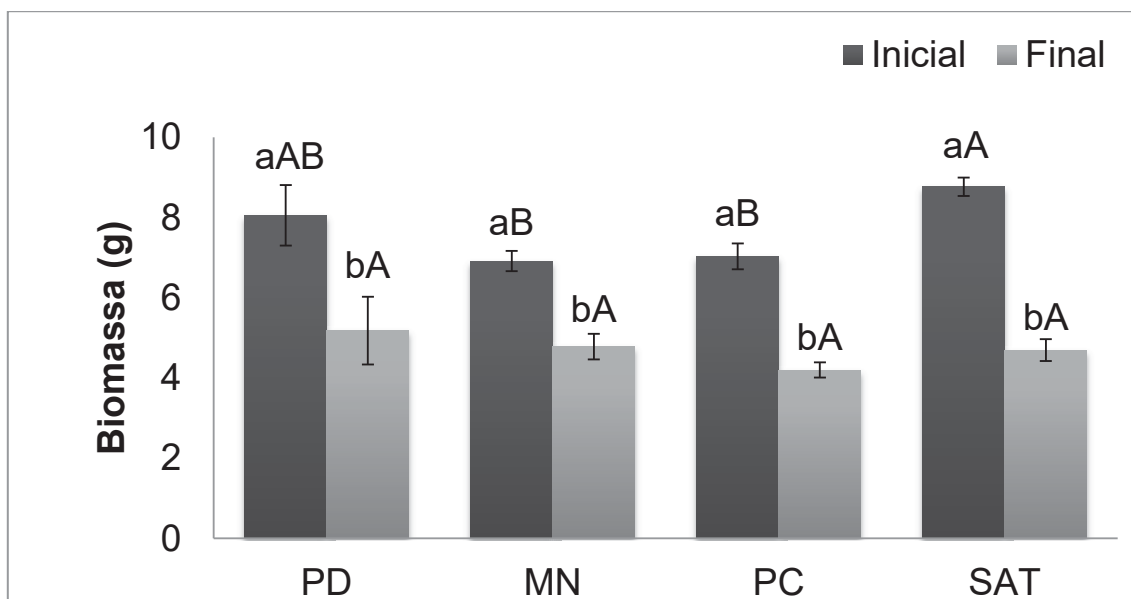


Fonte: O autor (2025)

SAT: solo artificial tropical, MN: mata nativa, PD: plantio direto, PC: plantio convencional. Letras comparam cada uma das médias ($n=3$) das variáveis nos diferentes tratamentos, de letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey $p<0,05$.

Nos solos de PD, MN e PC, houve alta reprodução de *P. excavatus* (Figura 3), produzindo entre 167 ± 37 , 204 ± 6 e 233 ± 26 juvenis após 56 dias, respectivamente, valores significativamente maiores que no SAT (66 ± 9 juvenis). Não foram observadas alterações morfológicas nas minhocas em nenhum dos solos. Aos 28 dias houve diminuição significativa da biomassa média das minhocas em todos os tratamentos comparada com a massa inicialmente apresentada. Contudo, a biomassa final (Figura 4) não foi diferente em nenhum dos solos, apesar de haver sido significativamente menor em PC e MN que no SAT, ao início do ensaio.

Figura 4. Biomassa total das minhocas adultas inoculadas e aos 28 dias do ensaio de reprodução com *Perionyx excavatus* em diferentes sistemas de uso do solo, mata nativa (MN), plantio direto (PD), plantio convencional (PC).



Fonte: O autor (2025)

Legenda: SAT: solo artificial tropical, MN: mata nativa, PD: plantio direto, PC: plantio convencional. Letras comparam cada uma das médias ($n=3$) das variáveis nos diferentes tratamentos, letras minúsculas distintas comparam diferenças entre os períodos e letras maiúsculas distintas comparam diferenças entre os tratamentos em cada período teste de Tukey $p<0,05$.

2.6 DISCUSSÃO

2.6.1 Efeito do sistema de uso e manejo do solo

A redução na intensidade do uso da terra, ou seja, menor perturbação antrópica, pode beneficiar a comunidade biótica em solos agrícolas, incluindo as minhocas (Peres et al., 2006; Gardi et al., 2009; Pauli et al., 2011; Spurgeon et al., 2013). Os solos da agricultura convencional estão sujeitos a uma combinação de perturbações físicas como o preparo do solo, e químicas como o uso de fertilizantes minerais e agrotóxicos (Spurgeon et al., 2013). Já as práticas de manejo conservacionista como o plantio direto, favorecem a biota edáfica, particularmente as populações de minhocas (Van Capelle et al., 2012; Bartz et al., 2013; Bartz et al., 2014; Santos et al., 2018b; Demetrio et al., 2020), devido à menor perturbação do solo, permanência de resíduos culturais na superfície do solo, maiores teores de C

no solo, e melhor conservação da umidade do solo (Lavelle et al., 2001; Brown et al., 2003; Bartz et al., 2013; Bartz et al., 2014).

No presente ensaio, após 91 dias, observou-se a maior taxa de reprodução de *P. corethrurus* no solo do sistema PD e MN, provavelmente devido aos maiores teores de C desses sistemas comparados com o PC (Tabela 1). Isso aconteceu, apesar do fornecimento semanal de esterco de equino, como alimento para as minhocas, e da maior biomassa média (individual) das minhocas no PC que PD. Esses resultados ressaltam as boas condições para reprodução em MN e PD, mas não em PC. A maior perda de biomassa no PD pode estar associada à alta produção de casulos. O maior pH, teor de argila e Ca, e menor teor de areia e CE podem ser alguns fatores importantes para um maior ganho de biomassa, apesar do menor teor de C no PC que no PD. Maiores teores de C, N e P, e pH menos ácido do solo estão frequentemente correlacionados com maiores populações e maior ganho de peso das minhocas (Lavelle et al., 1987; Marichal et al., 2012).

Portanto, considerando as hipóteses, não se confirmou maior qualidade da MN em relação aos demais tratamentos para *P. excavatus*, já que não houve diferenças entre os solos enquanto à reprodução dessa espécie. Contudo, confirmou-se a menor qualidade do PC para a reprodução de *P. corethrurus* (Figura 1). Em longo prazo, isso poderia ajudar a explicar a menor presença dessa espécie (e de outras espécies edáficas) em sistemas convencionais de produção agrícola, algo já observado na literatura (Barros et al., 2004; Buch et al., 2013; Diallo et al., 2023; Marichal et al., 2010; Ortiz-Ceballos et al., 2019; Pelosi et al., 2015).

No SAT observou-se alto valor de condutividade elétrica (CE $1,18 \text{ mS cm}^{-1}$), devido ao pó da fibra de coco que possuía CE entre $1,05$ e $1,47 \text{ mS cm}^{-1}$. Ferreira (2020) também relatou alta mortalidade de *P. corethrurus* em solos com CE a partir de $1,2 \text{ mS cm}^{-1}$, enquanto Owojori et al. (2008), encontraram doses letais (LD50) para *E. fetida* e *Aporrectodea caliginosa* em condutividades mais baixas, entre $0,75$ e $1,15 \text{ mS cm}^{-1}$, respectivamente. Contudo, em relação à *P. excavatus* e outras minhocas, faltam dados sobre os valores de condutividade tolerável. Existem apenas estudos mostrando relações entre a condutividade elétrica e a abundância de minhocas em situações de campo (Lardo et al., 2015; Schirrmann et al., 2016). Nesse ensaio, a alta CE não afetou a sobrevivência de *P. excavatus*, mas reduziu significativamente sua reprodução. Oliveira (2019) também encontrou baixo número

de juvenis (de 48 e 73 indivíduos) em dois ensaios com solos artificiais, corroborando com os resultados encontrados em nosso experimento (66 juvenis).

2.6.2 Potencial de uso das espécies na avaliação da qualidade do solo

A espécie *Perionyx excavatus* (Perrier, 1872), popularmente conhecida como “violeta do himalaia”, por ser provavelmente originária da região dos Himalaias (Gates, 1972), pertence à família Megascolecidae, e é comumente utilizada em vermicompostagem (Blakemore, 2006; Edwards et al., 1998) na região tropical. Pode ser encontrada na camada superior do solo (0-15 cm), em temperaturas que variam entre 20 °C e 28 °C e pH de 6,4-7,4 (Bhattacharjee e Chaudhuri, 2002), porém é conhecida apenas de minhocários no Brasil (Schiedeck et al., 2019). É uma espécie ideal para condições tropicais, resistindo intervalos de temperatura maiores que as espécies padrão *E. fetida* e *E. andrei* (Schiedeck et al., 2019).

O ciclo de vida e a biologia de *P. excavatus* têm sido amplamente estudados (Reinecke e Hallatt, 1989; Hallatt et al., 1990; Edwards et al., 1998; Bhattacharjee e Chaudhuri, 2002; Chaudhuri e Bhattacharjee, 2002; Joshi e Dabral, 2008), e diversos autores testaram os efeitos de contaminantes sobre a espécie, em ensaios de fuga, letalidade e reprodução (Neuhauser et al., 1986; De Silva & Van Gestel, 2009; Das Gupta et al., 2010; 2012; Mangala et al., 2009; Sanyal et al., 2015; Wang et al., 2018; Ng et al., 2019; Narayanan et al., 2022; Elango et al., 2023; Oliveira et al. 2024). Possui um ciclo de vida entre 40 e 60 dias, dependendo da temperatura. (Schiedeck et al., 2019). Os casulos eclodem em 18 dias, e há entre 2 e 2,7 indivíduos em cada casulo (Schiedeck et al. 2019). Portanto, nas condições do atual estudo (24 °C), esperava-se um alto número de juvenis (> 200) após 56 dias, o que foi confirmado em MN e PC. Porém, o pequeno tamanho dos casulos, e a dificuldade de separá-los dos solos e SAT impediram sua quantificação nesse ensaio.

A alta sobrevivência e reprodução dessa espécie nos três solos naturais, é um fator interessante para considera-la como de rotina na avaliação do impacto de contaminantes em solos tropicais/subtropicais, assim como proposto para *E. fetida/andrei* nos protocolos padrão da ISO (2012). Como é uma espécie fácil de cultivar em laboratório, poderia, eventualmente, servir como complementação para as espécies padrão. Para ensaios ecotoxicológicos usando solos naturais, *P.*

excavatus parece ter alto potencial, e sua inclusão nas normas padrão já vem sendo discutida na ISO (Stephan Jansch, comunicação pessoal, 2024). Contudo, o pequeno tamanho dos casulos e sua cor críptica em relação aos organismos da espécie *E. andrei* é um fator a ser considerado. Não demonstrando diferença entre os solos, em contraste com *P. corethrurus*, evidenciou importante efeito negativo do sistema de manejo do solo (PC) sobre a reprodução, em relação ao PD e MN. Portanto, para os ensaios sem contaminantes, vislumbrando avaliar a função habitat do solo, a minhoca mansa parece ser melhor escolha. Isso foi apesar do baixo número de casulos produzido por essa espécie, comparado com o número de juvenis de *P. excavatus*, gerado em ordem de grandeza cerca de 10 vezes maior. Essa diferença se deve ao fato de *P. excavatus* ser uma espécie prolífica, que deposita >7 casulos semana^{-1} indivíduo^{-1} (Schiedeck et al., 2019).

O alto valor de CE do SAT teve efeito negativo importante na biomassa e reprodução de *P. corethrurus*. Além disso, a reprodução e o fornecimento de apenas um tipo de alimento também podem causar uma perda no peso dos indivíduos (Suthar, 2007; Chaudhuri e Bhattacharjee, 2002). Os casulos de *P. corethrurus* são grandes e facilmente visíveis (Buch et al., 2011). O longo do ciclo de vida desta espécie e a menor temperatura do ensaio utilizada ($22 \pm 1,5$ °C), podem também ter influenciado na taxa de reprodução (Buch et al. 2013; 2017), visto que em temperaturas mais altas (24-27 °C), a reprodução e o crescimento dessa espécie são maiores (Lavelle et al., 1987; Zhang et al., 2008; Schiedeck et al., 2019).

Os ensaios agudos e crônicos com minhocas nativas ainda não estão padronizados, principalmente pela dificuldade de obter um número suficiente de casulos, e o maior tempo necessário para executar os ensaios com essas espécies. Mesmo assim, Buch et al. (2017) propuseram o uso de *P. corethrurus*, e nesse estudo se confirma a sua utilidade para ensaios de função hábitat. Diferenças entre os tratamentos foram facilmente visualizados, mas cuidados são necessários no uso e preparo do SAT para evitar alta CE e mortalidade das minhocas no tratamento controle.

As minhocas desempenham um papel crucial na melhoria da qualidade do solo e no funcionamento dos ecossistemas terrestres. O efeito das minhocas depende tanto das espécies presentes quanto das condições do solo (Clause et al., 2014; Hallam, 2018; Hedde et al., 2013). Na região tropical e subtropical, a espécie *P. corethrurus* (Müller, 1857) é amplamente distribuída em áreas perturbadas como

lavouras, pastagens, pomares e florestas (Lavelle et al., 1987; Brown et al., 2006b), onde exerce importantes efeitos sobre a qualidade do solo (Brown et al. 1999). Essa espécie partenogenética é endogeica e geófaga, ou seja, é encontrada nas camadas superficiais do solo e ingere solo como alimento. Possui um ciclo de vida entre 90 e 120 dias, dependendo da temperatura, e produz casulos com apenas um indivíduo (Schiedeck et al., 2019). Sua abundância e relativa facilidade de coleta nos solos da região tropical tornam esta espécie particularmente útil para estudos avaliando efeitos colaterais não-alvo de vários contaminantes no solo, incluindo agrotóxicos e metais. Portanto, é uma boa candidata para testes ecotoxicológicos relevantes às condições encontradas em campos agrícolas na região tropical, e recomendamos maior frequência de uso desta espécie como *proxy* das espécies nativas endogêicas que são as mais frequentes nos agroecossistemas neotropicais (Fragoso et al., 1997).

2.7 CONCLUSÕES

Nos ensaios de reprodução, ambas espécies mostraram um bom desenvolvimento nos diferentes sistemas de uso do solo, sendo a alta condutividade elétrica o principal fator limitante para maior reprodução e para a mortalidade de *P. corethrurus*. Confirmamos aqui a boa adaptabilidade da espécie *P. excavatus* em ensaios crônicos e agudo, especialmente com fins de comparação com as espécies padrão, e avaliação em solos naturais.

Para futuros ensaios de função habitat, em solos naturais contaminados ou não artificialmente, recomendamos o uso da espécie *P. corethrurus*, visando maior relevância dos resultados para representar as minhocas nativas nos solos brasileiros. Além disso, para melhor acompanhamento do ensaio, recomenda-se avaliação do peso e comportamento/morfologia das minhocas adultas, e quantificação de casulos a cada duas semanas.

2.8 REFERÊNCIAS

Anthony, M., Bender, S., & Van Der Heijden, M. (2023) Enumerating soil biodiversity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2304663120>.

- Arnhold, E. (2013). Pacote em ambiente R para análise de variância e análises complementares. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 50(6), 488-492. doi:10.11606/issn.1678-4456.v50i6p488-492.
- Bach, E., Ramirez, K., Fraser, T., & Wall, D. (2020) Soil Biodiversity Integrates Solutions for a Sustainable Future. *Sustainability*, 12, 2662. <https://doi.org/10.3390/su12072662>.
- Barros, E., Grimaldi, M., Sarrazin, M., Chauvel, A., Mitja, D., Desjardins, T., & Lavelle, P. (2004). Soil physical degradation and changes in macrofaunal communities in Central Amazon. *Applied Soil Ecology*, 26(2), 157-168.
- Bartz, M. L. C., Brown, G. G., da Rosa, M. G., Klauberg Filho, O., James, S. W., Decaëns, T., & Baretta, D. (2014) Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil. *Applied Soil Ecology*, 83, 59-70.
- Bartz, M. L. C., Pasini, A., & Brown, G. G. (2013) Earthworms as soil quality indicators in Brazilian no-tillage systems. *Applied Soil Ecology*, 69, 39-48.
- Bhattacharjee, G., & Chaudhuri, P. S. (2002) Cocoon production, morphology, hatching pattern and fecundity in seven tropical earthworm species—a laboratory-based investigation. *Journal of biosciences*, 27(3), 283-294.
- Blakemore, R. J., Ito, M. T., & Kaneko, N. (2006) Alien earthworms in the Asia/Pacific region with a checklist of species and the first records of *Eukerria saltensis* (Oligochaeta: Ocnerodrilidae) and *Eiseniella tetraedra* (Lumbricidae) from Japan, and *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae) from Okinawa. *Assessment and control of biological invasion risks*, 173-181.
- Boyucos, G. J. (1927) The hydrometer as a new method for the mechanical analysis of soils. *Soil Science*, v. 23, n. 5, p. 343-354.
- Briones MJL, Schmidt O (2017) Conventional tillage decreases the abundance and biomass of earthworms and alters their community structure in a global meta-analysis. *Glob Change Biol* 23(10):4396–4419
- Brown, G. G., Benito, N. P., Pasini, A., Sautter, K. D., de F Guimarães, M., & Torres, E. (2003) No-tillage greatly increases earthworm populations in Paraná state, Brazil. *Pedobiologia*, 47(5-6), 764-771.
- Brown, G.G.; Domínguez, J. (2010) Uso das minhocas como bioindicadoras ambientais: princípios e práticas, *Acta Zoológica Mexicana: Nueva Série*, v. 26, p. 1–18.
- Brown, G. G., James, S. W., Pasini, A., Nunes, D. H., Benito, N. P., Martins, P. T., & Sautter, K. D. (2006b) Exotic, peregrine, and invasive earthworms in Brazil: diversity, distribution, and effects on soils and plants. *Caribbean Journal of Science*, 42(3), 339.
- Brown, G. G., Pashanasi, B., Villenave, C., Patron, J. C., Senapati, B. K., Giri, S., Barois, I., Lavelle, P.; Blanchart, E.; Blakemore, R. J.; Spain, A. V., Boyer, J. (1999). Effects of earthworms on plant production in the tropics. Earthworm management in tropical agroecosystems. In: Lavelle, P.; Brussaard, L.; Hendrix, P. F. (Ed.). *Earthworm management in tropical agroecosystems*. Wallingford: CAB International, 5, 87-147.
- Brown, G. G., Römbke, J., Höfer, H., Verhaagh, M., Sautter, K. D., & Santana, D.D Q. (2006a) Biodiversity and function of soil animals in Brazilian agroforestry systems. *Sistemas Agroflorestais: Bases Científicas para o desenvolvimento sustentável*. Ed.: Gama-Rodrigues, A.C., Barros, N.F., Gama-Rodrigues, E.F., Freitas, M.S.M., Viana, A.P, Jasmin, J.M., Marciano, C.R., Carneiro, J.G.A. UENF, Campos dos Goytacazes, 217-242.

- Brussaard, L., De Ruiter, P.C., Brown, G.G. (2007) Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v.121, p.233–244. doi:10.1016/j.agee.2006.12.013
- Buch AC, Brown GG, Fernandes CME, Lourençato LF, Silva-filho EV. (2017) Ecotoxicology of mercury in tropical forest soils: Impact on earthworms. *Science of the Total Environment* 589: 222–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.150>
- Buch, A. C., Brown, G. G., Niva, C. C., Sautter, K. D., & Lourençato, L. F. (2011) Life cycle of *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) in tropical artificial soil. *Pedobiologia*, 54, S19-S25.
- Buch, A. C., Brown, G. G., Niva, C. C., Sautter, K. D., & Sousa, J. P. (2013) Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). *Applied soil ecology*, 69, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.12.011>
- Bünemann, E. K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R. E., De Deyn, G., De Goede, R. de; Flesskens, L., Geissen, V., Kuyper, T.W., Mäder, P., Pulleman, M., Sukkel, W., Groenigen, J.W. van., Brussaard, L. (2018) Soil quality – a critical review. *Soil Biology and Biochemistry*, v.120, p.105-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>.
- Chaudhuri, P. S., & Bhattacharjee, G. (2002) Capacity of various experimental diets to support biomass and reproduction of *Perionyx excavatus*. *Bioresource technology*, 82(2), 147-150.
- Chelinho, S., Domene, X., Campana, P., Natal-da-Luz, T., Scheffczyk, A., Römbke, J., Andrés, P., & Sousa, J. P. (2011) Improving ecological risk assessment in the Mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species. *Environmental toxicology and chemistry*, 30(5), 1050–1058. <https://doi.org/10.1002/etc.480>
- Clause, J., Barot, S., Richard, B., Decaëns, T., & Forey, E. (2014) The interactions between soil type and earthworm species determine the properties of earthworm casts. *Applied Soil Ecology*, 83, 149-158.
- Das Gupta, R., Chakravorty, P. P., & Kaviraj, A. (2010). Studies on relative toxicities of six insecticides on epigeic earthworm, *Perionyx excavatus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 85, 83-86.
- Das Gupta, R., Chakravorty, P. P., & Kaviraj, A. (2012). Effects of carbaryl, chlorpyrifos and endosulfan on growth, reproduction and respiration of tropical epigeic earthworm, *Perionyx excavatus* (Perrier). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(2), 99-103.
- Decaëns, T., Jiménez, J. J., Gioia, C., Measey, G. J., & Lavelle, P. (2006) The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42, S23-S38.
- Demetrio, W. C., Ribeiro, R. H., Nadolny, H., Bartz, M. L., & Brown, G. G. (2020) Earthworms in Brazilian no-tillage agriculture: Current status and future challenges. *European Journal of Soil Science*, 71(6), 988-1005.
- De Oliveira, D. A., Freitas, T. R., Rosa, V. M. D., Oliveira Filho, L. C. I., da Veiga, M., Campos, M. L., Miquelluti, D. J., Klauberg-Filho, O. (2024). Prevention values for copper (low tier approach) in subtropical acidic soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(51), 60895-60904. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35271-w>

- De Silva, P. M. C., & van Gestel, C. A. (2009) Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. *Chemosphere*, 77(11), 1609-1613.
- De Silva, P. M. C., Pathiratne, A., & van Gestel, C. A. (2010) Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. *Applied Soil Ecology*, 44(1), 56-60.
- De Silva, P. M. C., Pathiratne, A., & van Gestel, C. A. (2009). Influence of temperature and soil type on the toxicity of three pesticides to *Eisenia andrei*. *Chemosphere*, 76(10), 1410-1415.
- Edwards, C., Dominguez, J. & Neuhauser, E. (1998) Growth and reproduction of *Perionyx excavatus* (Perr.) (Megascolecidae) as factors in organic waste management. *Biology and Fertility of Soils* 27, 155–161. <https://doi.org/10.1007/s003740050414>
- Eisenhauer, N., Bonn, A., & A. Guerra, C. (2019). Recognizing the quiet extinction of invertebrates. *Nature communications*, 10(1), 50.
- Elango, D., Kayalvizhi, N., & Jayanthi, P. (2023) Effects of a Neonicotinoid on Indigenous Earthworm *Perionyx excavatus* Biochemical and Histopathological Alterations. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 110(5), 1-8.
- FAO, ITPS, GSBI, SCBD, & EC (2020): State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities, Report 2020. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>.
- Ferreira, T. (2020) Relação entre as minhocas *Pontoscolex corethrurus* e a fertilidade do solo: o caso das terras pretas de índio e seus componentes (Biochar, matéria orgânica, cerâmica, Ca E P). Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - Curitiba.
- Fragoso, C., Brown, G. G., Patrón, J. C., Blanchart, E., Lavelle, P., Pashanasi, B., Senapati, B. K., Kumar, T. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms. *Applied soil ecology*, 6(1), 17-35.
- Förster, B., Garcia, M., Höfer, H., Morgan, E., & Römcke, J. (2009) Tropical terrestrial model ecosystems for evaluation of soil fauna and leaf litter quality effects on litter consumption, soil microbial biomass and plant growth. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 1063-1071.
- Garcia, M. (2004) Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions (Vol. 19). Cuvillier Verlag.
- Garcia, M.; Brito, M.; Garcia, T.; Pinheiro, S.; Mestrinho, C.; Römcke, J. (2008) Minhocas nativas como indicadoras da contaminação do solo. In: Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, 10., 2008, Bento Gonçalves/RS. Resumos. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia, 2008. p. 84.
- García-Pérez, J. A., Alarcón, E., Hernandez, Y., & Hernandez, C. (2016) Impact of litter contaminated with glyphosate-based herbicide on the performance of *Pontoscolex corethrurus*, soil phosphatase activities and soil pH. *Applied Soil Ecology*, 104, 31-41.
- García-Perez, J. A., Alarcon-Gutierrez, E., & Diaz-Fleischer, F. (2020) Interactive effect of glyphosate-based herbicides and organic soil layer thickness on growth and reproduction of the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857). *Applied Soil Ecology*, 155, 103648.
- Gardi, C., Montanarella, L., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Jolivet, C., Mulder C, Ranjard L, Römcke J, Rutgers M, Menta, C. (2009) Soil biodiversity

- monitoring in Europe: ongoing activities and challenges. *European Journal of Soil Science*, 60(5), 807-819.
- Gates, G. E. (1972) Burmese earthworms: an introduction to the systematics and biology of megadrile oligochaetes with special reference to Southeast Asia. *Transactions of the American philosophical Society*, 62(7), 1-326.
- Gaupp-Berghausen, M., Hofer, M., Rewald, B., & Zaller, J. G. (2015) Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific reports*, 5(1), 12886.
- Hallam, J. (2018) Soil hydraulic function: Earthworm-plant root interactions (Doctoral dissertation, University of York). 305p.
- Hallatt, L., Reinecke, A. J., & Viljoen, S. A. (1990) Life cycle of the oriental compost worm *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). *African Zoology*, 25(1), 41-45.
- Hedde, M., Bureau, F., Delporte, P., Cécillon, L., & Decaens, T. (2013) The effects of earthworm species on soil behaviour depend on land use. *Soil Biology and Biochemistry*, 65, 264-273.
- IBAMA. (2009). Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxico e afins. Brasília, DF, Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/avaliacao/2017/2017-07-25-manual_de_procedimento_agrotoxicos_ibama_2009-11.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2025.
- ISO. (2012) International Organization for Standardization. ISO 11268-2: Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 2: Determination of effects on reproduction to *Eisenia fetida* / *Eisenia andrei*. Geneve.
- James, S. W.; Bartz, M. L. C.; Stanton, D. W. G.; Conrado, A. C.; Dupont, L.; Taheri, S.; Silva, E.; Cunha, L.; Brown, G. G. (2019). A neotype for *Pontoscolex corethrurus* (Clitellata). *Zootaxa*, v. 4545, n. 1.
- Joshi, N., & Dabral, M. (2008) Life cycle of earthworms *Drawida nepalensis*, *Metaphire houlleti* and *Perionyx excavatus* under laboratory controlled conditions. *Life Science Journal*, 5(4), 83-86.
- Knäpper, U., & Freia, C. (1972). Dominanzverhältnisse der verschiedenen arten der gattung *Pheretima* in kulturböden von Rio Grande do Sul. *Pedobiologia*, 12(1), 23-25.
- Kuperman, R. G., Checkai, R. T., Garcia, M. V. B., Römbke, J., Stephenson, G. L., & Sousa, J. P. (2009) State of the science and the way forward for the ecotoxicological assessment of contaminated land. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 44, 811-824.
- Lang, C.R., Moraes, A., Dominschek, R. et al. (2018). Sistemas integrados de produção agropecuária na promoção da intensificação sustentável. *Boletim Técnico do Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2018.
- Langenbach, T., Inácio, M. V. D. S., Aquino, A. M. D., & Brunninger, B. (2002) Influência da minhoca *Pontoscolex corethrurus* na distribuição do acaricida dicofol em um Argissolo. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 37, 1663-1668.
- Lardo, E., Palese, A., Arous, A., Xiloyannis, C. (2015) Apparent Electrical Conductivity as a Tool for earthworm parameter evaluation in a comercial orchard. *Acta Horticulturae*, 1084, 479-484.
- Lavelle, P., Barois, I., Cruz, I., Fragoso, C., Hernandez, A., Pineda, A., & Rangel, P. (1987) Adaptive strategies of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta), a peregrine geophagous earthworm of the humid tropics. *Biology and Fertility of Soils*, 5, 188-194. <https://doi.org/10.1007/BF00256899>

- Lavelle, P., Barros, E., Blanchart, E., Brown, G., Desjardins, T., Mariani, L., & Rossi, J. P. (2001) SOM Management in the tropics: Why feeding the soil macrofauna? *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v.61, p.53 - 61.
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P. & Rossi, J.P. (2006) Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, v. 42, p. S3–S15.
- Lavelle, P.; Mathieu, J.; Spain, A.; brown, G.G.; Fragoso, C.; Lapied, E.; De Aquino, A.; Barois, I.; Barrios, E.; Barros, M.E.; Bedano, J.C.; Blanchart, E.; Caulfield, M.; Chagueza, Y.; Dai, J.; Decaëns, T.; Dominguez, A.; Dominguez, Y.; Feijoo, A.; Folgarait, P.; Fonte, S.J.; Gorosito, N; Huerta, E.; Jimenez, J.J.; Kelly, C.; Loranger, G.; Marchão, R.; Marichal, R.; Praxedes, C.; Rodriguez, L.; Rousseau, G.; Rousseau, L.; Ruiz, N.; Sanabria, C.; Suarez, J.C.; Tondoh, J.E.; De Valença, A.; Vanek, S.J.; Vasquez, J.; Velasquez, E.; Webster, E.; Zhang, C. (2022) Soil macroinvertebrate communities: A world-wide assessment. *Global Ecology and Biogeography*, v.31, p.1261-1276.
- Mangala, P., Pathiratne, A., Cornelis, A. M., Gestela, V., & de Silva, C. S. (2009) Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. *Pesticide Effects on Earthworms: A Tropical Perspective*. Amsterdam. 119p.
- Marichal, R., Martinez, A. F., Praxedes, C., Ruiz, D., Carvajal, A. F., Oszwald, J., ... & Lavelle, P. (2010). Invasion of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta) in landscapes of the Amazonian deforestation arc. *Applied Soil Ecology*, 46(3), 443-449.
- Marshall, C. B., & Lynch, D. H. (2020) Soil microbial and macrofauna dynamics under different green manure termination methods. *Appl Soil Ecol* 148:103505
- Mestrinho, C C. (2009) Toxicidade aguda e rejeição ao fungicida oxícloreto de cobre para *Eisenia fetida* e *Pontoscolex corethrurus* (oligochaeta). 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Narayanan, M., Murugan, J. M., Kandasamy, G., Kandasamy, S., Nasif, O., Rajendran, M., & Pugazhendhi, A. (2022) The biotransformation potential of *Bacillus cereus* on β -cypermethrin to protect the earthworm (*Perionyx excavatus*) on insecticide-contaminated soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 68(7), 944-955
- Neuhauser, E. F., Durkin, P. R., Malecki, M. R., & Anatra, M. (1986) Comparative toxicity of ten organic chemicals to four earthworm species. *Comparative biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology*, 83(1), 197-200.
- Niemeyer, J.C., Cardoso, E.J.B.N., Nunes, M.E.T., Lopes, P.R.L., Martines, A.M., de Andréa, M.M., Brown, G.G., Niva, C.C. (2019). Preparo do substrato teste. In: *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Niva, C.C.; Brown, G.G. (Eds.), Embrapa, Brasília, p. 142-151.
- Niva, C.C, Brown, G.G. (2019) *Ecotoxicologia Terrestre. Métodos e Aplicações dos Ensaio com Oligoquetas*. Embrapa, Brasília. 258 p.
- Ng, B., Chanabun, R., & Panha, S. (2019) Biological and physiological responses of *Perionyx excavatus* to abamectin. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 28309-28318.
- OECD. (2015) Organization for Economic Co-Operation and Development. Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/andrei*). Paris: OECD. Guidelines for testing of chemicals, 222. p. 19.

- Oliveira, D. A. (2019) Valores orientadores de prevenção para cobre e zinco em solos do estado de Santa Catarina (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages).
- Ortíz-Ceballos, A. I., Ortiz-Gamino, D., Andrade-Torres, A., Pérez-Rodríguez, P., & López-Ortega, M. (2019). *Pontoscolex corethrurus*: A homeless invasive tropical earthworm?. Plos one, 14(9), e0222337.
- Owojori, O. J., Reinecke, A. J., & Rozanov, A. B. (2008) Effects of salinity on partitioning, uptake and toxicity of zinc in the earthworm *Eisenia fetida*. Soil Biology and Biochemistry, 40(9), 2385-2393.
- Pauli N, Barrios E, Conacher AJ, Oberthür T (2011) Soil macrofauna in agricultural landscapes dominated by the Quesungual Slash-and-Mulch Agroforestry System, western Honduras. Appl Soil Ecol 47(2):119–132.
- Pelosi, C., Bertrand, M., Thénard, J., & Mougin, C. (2015). Earthworms in a 15 years agricultural trial. Applied Soil Ecology, 88, 1-8. <https://doi.org/10.1016/J.APSSOIL.2014.12.004>
- Peres, G., Cluzeau, D. A. N. I. E. L., Ferrand, C. A. M. I. L. L. E., & Peron, D. E. N. I. S. (2006) Earthworms used as indicators of agricultural managements. BIO-BIO Project. Biodiversity-Bioindication to evaluate soil health. RM Cenci and F. Sena (Eds), EUR, 22245, 107-115.
- R Core Team. (2024) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Reinecke, A. J., & Hallatt, L. (1989) Growth and cocoon production of *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). Biology and fertility of soils, 8, 303-306.
- Richards, L. A. (1954) Diagnostico y reabilitacion de suelos salinos y sodicos. Ed. Limusa. México, 172p.
- Römbke, J., Jänsch, S., Junker, T., Pohl, B., Scheffczyk, A., & Schallnaß, H. J. (2006). Improvement of the applicability of ecotoxicological tests with earthworms. springtails. and plants for the assessment of metals in natural soils. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal. 25(3). 776-787.
- Santos, A., Gorte, T., Demetrio, W. C., Ferreira, T., Nadolny, H., Cardoso, G. B., Tonetti C., Ralisch R., Nunes AP., Coqueiro ACP., Leandro HCL., Wandscheer CAR., Bortoluzzi J., Brown GG & Bartz, M. L. (2018b) Earthworm species in no-tillage agroecosystems and native Atlantic forests in Western Paraná, Brazil. Zootaxa, 4496(1), 517-534.
- Santos, HG dos, Jacomine, PKT, Anjos, LHCdos, Oliveira, VA, Lumbreras, JF, Coelho, MR, Almeida, JA, Filho, JCA, Oliveira, JB, Cunha, TJF. (2018a) Sistema Brasileiro de Classificação de Solos – 5. ed. Embrapa, Brasília. 356 p.
- Sanyal, S., Dasgupta, R., Kaviraj, A., & Chakravorty, P. P. (2015) Comparative toxicity studies of four pesticides on the epigeic earthworm *Perionyx excavatus* in two different soil media. EM International, 34(1), 47-51.
- Schiedeck, G., Pasini, A., Alves, P.R.L., Niva, C.C., Cantelli, K., Buch, A.C., Brown, G.G., Martin, J.D. (2019). Criação e manutenção dos organismos. In: Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. Niva, C.C.; Brown, G.G. (Eds.), Embrapa, Brasília, p. 81-132.
- Schirrmann, M., Joschko, M., Gebbers, R., Kramer, E., Zorner, M., Baarkusky, D., Timmer, J. (2016) Proximal Soil Sensing – A Contribution for Species Habitat Distribution Modelling of Earthworms in Agricultural Soils? PlosOne, 11, e0158271

- Singh J, Cameron E, Reitz T, Schädler M, Eisenhauer N (2020) Grassland management effects on earthworm communities under ambient and future climatic conditions. *Euro J Soil Sci* 72(1):343–355
- Spurgeon, D. J., Keith, A. M., Schmidt, O., Lammertsma, D. R., & Faber, J. H. (2013) Land-use and land-management change: relationships with earthworm and fungi communities and soil structural properties. *BMC ecology*, 13, 1-13.
- Suthar, S. (2007) Nutrient changes and biodynamics of epigeic earthworm *Perionyx excavatus* (Perrier) during recycling of some agriculture wastes. *Bioresource Technology*, 98(8), 1608-1614.
- Taheri, S., James, S., Roy, V., Decaëns, T., Williams, B. W., Anderson, F., Rougerie, R.; Chang, C.-H.; Brown, G. G.; Cunha, L.; Stanton, D. W. G.; Da Silva, E.; Chen, J.-H.; Lemmon, A. R.; Moriarty Lemmon, E.; Bartz, M.; Baretta, D.; Barois, I.; Lapied, E.; Coulis, M.; Dupont, L. (2018). Complex taxonomy of the 'brush tail' peregrine earthworm *Pontoscolex corethrurus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 124, 60-70. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.02.021.
- Van Capelle, C., Schrader, S., & Brunotte, J. (2012) Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota—A review with a focus on German data. *European Journal of Soil Biology*, 50, 165-181.
- Van Der Ent, A., & Lambers, H. (2016) Plant-soil interactions in global biodiversity hotspots. *Plant and Soil*, 403, 1 - 5. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2919-9>.
- Vezzani FM, Mielniczuk J. (2011) *O Solo como Sistema*. Curitiba. 104 p.
- Wall, D., Nielsen, U., & Six, J. (2015) Soil biodiversity and human health. *Nature*, 528, 69-76. <https://doi.org/10.1038/nature15744>.
- Wang, L., Huang, X., Laserna, A. K. C., & Li, S. F. Y. (2018) Untargeted metabolomics reveals transformation pathways and metabolic response of the earthworm *Perionyx excavatus* after exposure to triphenyl phosphate. *Scientific Reports*, 8(1), 16440.
- WRB - World Reference Base for Soil Resource. (2015). International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Rome: FAO, 2015. 192 p. (World Soil Resources Reports, 106). Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i3794en/i3794en.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2024.
- Xie T, Wang M, Chen W, Uwizeyimana H (2018) Impacts of urbanization and landscape patterns on the earthworm communities in residential areas in Beijing. *Sci Total Environ* 626:1261–1269
- Zhang, H., Yang, X. D., Du, J., & Wu, Y. X. (2008) Influence of soil temperature and moisture on the cocoon production and hatching of the exotic earthworm *Pontoscolex corethrurus*.

3 ARTIGO II: RESIDUAIS DE AGROTÓXICOS E REPRODUÇÃO DE MINHOCAS: EM SOLOS AGRÍCOLAS E VEGETAÇÃO NATIVA DO CERRADO E MATA ATLÂNTICA

3.1 RESUMO

O processo de intensificação da produção agrícola tem sido acompanhado de crescente uso de agrotóxicos. Porém, alguns agrotóxicos podem provocar alterações nas populações e na atividade dos animais edáficos, mas pouco se sabe do potencial ecotoxicológico da mistura de resíduos de diversos agrotóxicos presentes nos solos das lavouras brasileiras. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes espécies de minhocas como bioindicadoras da qualidade do solo, através de ensaios ecotoxicológicos padronizados. Os solos foram provenientes de áreas de vegetação nativa e sistemas agrícolas no bioma Cerrado e Mata Atlântica, e tinham condições químicas e físicas diferentes, incluindo níveis diferentes de resíduos de agrotóxicos. Avaliou-se a reprodução e a sobrevivência das minhocas em três sistemas de uso e manejo do solo, visando testar as hipóteses de que 1) a reprodução das minhocas seria afetada pelos níveis residuais dos agrotóxicos nos solos, e 2) que a espécie endogeica seria mais sensível que as epigeicas. Ademais, que os três sistemas de uso do solo teriam residuais de agrotóxicos e, que seus níveis estariam relacionados com os teores de argila e matéria orgânica do solo, e a qualidade de suas frações. Os níveis residuais dos agrotóxicos no solo estiveram relacionados com os atributos químicos e com a granulometria do solo, mas não foram iguais para todos os agrotóxicos avaliados. Além disso, observou-se relação positiva e negativa entre diferentes agrotóxicos e a reprodução e sobrevivência das minhocas. Em particular, a reprodução de *P. corethrurus* esteve relacionada positivamente com os residuais de três agrotóxicos (atrazina, clomazone e clorpirifós) e o glifosato esteve negativamente associado à reprodução de todas as minhocas. *P. excavatus* mostraram uma boa reprodução nos solos estudados, gerando mais juvenis em comparação a espécie padrão *E. andrei*, comprovando seu potencial de uso como espécie alternativa em condições tropicais. Inclusive, deve-se explorar a possibilidade de reduzir a duração do ensaio de 56 dias para um tempo menor (possivelmente 42 dias), considerando o grande número de juvenis gerados. Não obstante, formas mais eficazes de quantificar os casulos dessa espécie são necessárias.

Palavras-chave: Herbicida 1. Ecotoxicologia do solo 2. Inseticida 3. Fungicida 4. Solos naturais 5.

3.2 ABSTRACT

The process of agricultural production intensification has been accompanied by an increasing use of pesticides. However, some pesticides can cause alterations in the populations and activity of edaphic organisms, and little is known about the ecotoxicological potential of pesticide residue mixtures present in the soils of Brazilian farmlands. Thus, the aim of this study was to evaluate different earthworm

species as bioindicators of soil quality through standardized ecotoxicological assays. The soils were sourced from native vegetation areas and agricultural systems in the Cerrado and Atlantic Forest biomes, and exhibited varying chemical and physical conditions, including different levels of pesticide residues. Earthworm reproduction and metabolism were assessed across three soil management systems, testing the hypothesis that reproduction would be affected by the residual pesticide levels in the soils, and that the endogeic species would be more sensitive than the epigeic species. Additionally, it was hypothesized that all three land use systems would contain pesticide residues, and that these levels would correlate with soil clay content, organic matter, and the quality of their fractions. Residual pesticide levels in the soils were related to the chemical attributes and particle size distribution of the soil, but they were not uniform across all the pesticides evaluated. Moreover, both positive and negative relationships were observed between different pesticides and the reproduction and survival of the earthworms. In particular, reproduction *P. corethrurus* was positively associated with the residues of three pesticides, and glyphosate was negatively correlated with the reproduction of all earthworm species. *P. excavatus* exhibited good reproduction in the studied soils, producing more juveniles compared to the standard species *E. andrei*, confirming its potential as a substitute for the standard species under tropical conditions. Furthermore, the possibility of reducing the test duration from 56 days to a shorter period (possibly 42 days) should be explored, given the high reproductive output of this species and the large number of juveniles produced. Nonetheless, more effective methods for quantifying the cocoons of this species are required.

Keywords: Herbicide 1. Terrestrial ecotoxicology 2. Insecticide 3. Fungicide 4. Natural soils 5.

3.3 INTRODUÇÃO

A produção agrícola e florestal do Brasil atualmente cobre aproximadamente 29% e 1,2% da superfície do país, respectivamente (Embrapa, 2022), contribuindo para o desenvolvimento econômico do país, além de empregar 28,2 milhões de pessoas (Barros et al., 2024). Contudo, para manter a alta produção especialmente de *comodities* para o mercado externo, utilizam-se grandes quantidades de herbicidas (para o controle de plantas invasoras), fungicidas (controle de doenças) e inseticidas (controle de pragas), fazendo com que o Brasil seja o maior consumidor de agrotóxicos no mundo desde 2019 (IBAMA, 2021). Dessa forma, resíduos de agrotóxicos no solo têm sido encontrados em diferentes condições de uso, incluindo áreas de plantio direto consolidado e fragmentos de floresta atlântica nativa adjacente (Da Silva et al., 2021).

Avaliar os riscos do uso de agrotóxicos faz parte do desenvolvimento de uma agricultura sustentável, e todos os novos agrotóxicos precisam passar por uma

série de avaliações em laboratório, visando estimar os potenciais efeitos não-alvo no ambiente (IBAMA, 2009). Contudo, tem-se observado importantes diferenças nos resultados dos impactos de agrotóxicos em solos tropicais comparado aos solos de clima temperado, dependendo de fatores como a natureza do agrotóxico, a temperatura, o tipo de solo, e os pontos finais medidos e suas interações, resultando em sensibilidades diferentes dos organismos edáficos. Além disso, os solos da região tropical são habitados por uma imensa diversidade de espécies, o que dificulta a previsão dos efeitos ecotoxicológicos de agrotóxicos em campo (De Silva et al., 2010; Briones & Schmidt, 2017; Ikeda et al., 2020). Finalmente, os solos de áreas agrícolas possuem resíduos de várias substâncias aplicadas ao longo do tempo (Chiaia-Hernandez et al., 2017; Da Silva et al., 2021; Fernandes et al., 2020; Sánchez-del Cid et al., 2025; Silva et al., 2019), algo que vem preocupando a avaliação de impacto dos contaminantes na rede trófica, já que os estudos em laboratório até o momento têm focado apenas em substâncias isoladas (Carneiro et al., 2015; Chiaia-Hernandez et al., 2017; Fernandes et al., 2020)

Para diretrizes da avaliação de risco ambiental de produtos contaminantes (fitofarmacêuticos, agrotóxicos, metais) em organismos não alvo, testes laboratoriais padronizados são realizados visando determinar doses seguras de aplicação do uso do produto para o meio ambiente (Schäfer et al., 2019). A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) emitiu em 2017 um parecer científico abordando o estado da arte sobre a avaliação dos riscos de alguns produtos para os organismos presentes no solo, preconizando o uso de solo natural padronizado (em vez de solo artificial), para gerar cenários mais próximos e realistas na avaliação de exposição (Aderjan et al., 2023).

Buscando encontrar solos naturais referência na Europa, os trabalhos realizados inicialmente (Bussian et al., 2005; Tiberg, 1998) não foram suficientes para representar a diversidade dos solos europeus. Logo, Römcke e Amorim (2004) propuseram a padronização do solo natural a ser utilizado, baseado em algumas propriedades físicas e químicas (textura, pH, matéria orgânica e relação C/N) generalizáveis aos Euro-solos (solos representativos) utilizados anteriormente. No Brasil, a resolução do CONAMA (2009) sugere o uso de quatro solos naturais para a avaliação do risco ambiental de agrotóxicos: Latossolo vermelho, Latossolo amarelo, Argissolo e Gleissolo. Porém, não há um solo de uma região ou localidade em particular que esteja sendo usado como padrão para os ensaios ecotoxicológicos e

ainda não foi realizada uma varredura mais ampla em diferentes solos, usando as mesmas espécies ou substâncias indicadoras no país.

A pesquisa em ecotoxicologia do solo no Brasil tem aumentado nos últimos anos, devido à maior preocupação sobre as questões ambientais (Niva et al., 2016; Niemeyer et al., 2017; Daam et al., 2019). Do total de publicações dos ensaios ecotoxicológicos terrestres em solos tropicais em nível mundial, aqueles no Brasil e na Índia representaram 55% (Daam et al., 2019). Os ensaios ecotoxicológicos são baseados em normas padronizadas, e cada vez mais vem sendo utilizados como uma importante ferramenta de avaliação do impacto de contaminantes sobre organismos do solo (Niva et al., 2016; Daam et al., 2019; Sisinno et al., 2019). Todos os agrotóxicos precisam passar por um processo de licenciamento e aprovação para uso, que inclui a avaliação ecotoxicológica, incluindo ensaios em animais vertebrados e invertebrados. A avaliação de riscos investiga os impactos potenciais dos produtos químicos em organismos não-alvo.

Um dos testes ecotoxicológicos terrestres mais utilizados é o ensaio de reprodução de minhocas das espécies *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei* (Annelida: Oligochaeta) em solo artificial (EFSA, 2017). As minhocas são comumente encontradas em uma ampla variedade de solos em todo o mundo (Amossé et al., 2018). Estima-se que no mundo existam mais de 30,000 espécies (Decaëns et al., 2024), sendo mais de 1,400 no Brasil (Brown & James, 2007). Estes organismos desempenham papéis ecológicos fundamentais no solo, contribuindo na fragmentação da serapilheira e decomposição da matéria orgânica (Marinissen & Didden, 1997; Edwards, 2004), e para sua estruturação, através da produção de grande quantidade de coprólitos e túneis, particularmente na região tropical (Lavelle, 1988). Assim, são organismos considerados e reconhecidos como indicadores da qualidade do solo, incluindo de seu nível de contaminação por metais, e do impacto de agrotóxicos usados na produção agropecuária e florestal (Paoletti, 1999; Pelosi & Römcke, 2016).

Contudo, as espécies usadas nos ensaios ecotoxicológicos padronizados não ocorrem naturalmente em solos da região tropical, onde os agrotóxicos são aplicados. Para ter respostas mais realistas, é necessário avaliar espécies nativas à região, e que habitam o solo das áreas onde se aplicam agrotóxicos (Chelinho et al., 2011; 2014; Clasen et al., 2023; Niemeyer et al., 2017; Daam et al., 2019). Com isso, duas espécies de minhocas tropicais estão sendo recomendadas para os ensaios

ecotoxicológicos (*Pontoscolex corethrurus* e *Perionyx excavatus*), embora o uso destas espécies seja ainda muito recente, havendo um banco de dados de toxicidade de agrotóxicos ainda escasso (Buch et al., 2011; Buch et al., 2013; Daam et al., 2019; De Silva et al., 2010; Niva et al., 2016; Niva & Brown, 2019).

Muitos ensaios laboratoriais com agrotóxicos vêm sendo realizados com solo artificial, composto por areia (70 a 75%), caulim (20 a 25%) e pó de fibra de casca de coco (5 a 10%) (Niva & Brown, 2019). No entanto, este substrato artificial não representa a diversidade dos solos naturais, nem dos solos aráveis os quais habitualmente recebem os contaminantes/poluentes como agrotóxicos, fármacos ou metais (Aderjan et al., 2023). O conteúdo de carbono orgânico nos solos é positivamente correlacionado com o potencial de sorção de agrotóxicos, principalmente pela área superficial específica e a diversidade de grupos funcionais (Alleto, 2010; Dick et al., 2010). Geralmente, quando no solo há maiores quantidades de MOS, maior é a sorção no solo e menor a mobilidade para cursos hídricos dos agrotóxicos (Briceño et al., 2007). A biodisponibilidade química no solo artificial pode contrastar com a biodisponibilidade em solos naturais e produzir parâmetros de referência ecotoxicológicos não representativos das condições de exposição das espécies no campo, afetando a toxicidade para os organismos (Römbke et al., 2007a; Aderjan et al., 2023). Portanto, deve-se priorizar o uso do solo natural, uma vez que as minhocas podem se reproduzir melhor nesse substrato (Leitão, 2013), e visando obter resultados ecologicamente mais relevantes.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes espécies de minhocas como bioindicadoras da qualidade do solo, através de ensaios ecotoxicológicos padronizados. Os solos foram provenientes de áreas de vegetação nativa e sistemas agrícolas no bioma Cerrado e Mata Atlântica, e tinham condições químicas e físicas diferentes, incluindo níveis diferentes de resíduos de agrotóxicos. Avaliou-se a reprodução e a sobrevivência das minhocas em três sistemas de uso e manejo do solo, visando testar a hipótese de que sua reprodução é afetada pelos níveis residuais dos agrotóxicos nos solos, e que a espécie endogeica seria mais sensível que as epigeicas. Ademais, que os três sistemas de uso do solo teriam residuais de agrotóxicos e, que seus níveis estariam relacionados com os teores de argila e matéria orgânica do solo, e a qualidade de suas frações.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa realizada para esse trabalho esteve ligada ao projeto “Sistema Plantio Direto: Base para agricultura sustentável”, financiado pela União Européia, e coordenado pela Federação Brasileira do Sistema Plantio Direto.

3.4.1 Solos naturais e solo controle

As coletas foram realizadas em seis áreas, sendo três fazendas em dois biomas brasileiros (Mata Atlântica e Cerrado). Em cada local, foram avaliados três sistemas de uso e manejo do solo (SUS): 1) plantio direto consolidado (SPD) com >20 anos; 2) área mal manejada (AMM), com preparo convencional e/ou sem utilização de práticas conservacionistas; 3) vegetação nativa (VN), como floresta atlântica, Cerrado ou Cerradão (TABELA 3). Em cada uma das parcelas foi coletado solo em três pontos, nos quais foram avaliados os atributos químicos, mineralogia, frações da matéria orgânica do solo, e residuais de agrotóxicos, totalizando 54 amostras (2 biomas x 3 fazendas x 3 sistemas x 3 repetições). Para os ensaios com oligoquetas, foi obtida uma amostra composta por parcela para a medição do residual de agrotóxicos e ensaio ecotoxicológico, totalizando 18 amostras para cada uma das três espécies de oligoquetas (2 biomas x 3 fazendas x 3 sistemas). A localização dos locais de amostragem se encontra na Tabela 2, e os pontos usados para as amostras compostas estão especificados em Dudas (2024). Os pontos estavam localizados a 50 m de distância uns dos outros, e o primeiro ponto dentro da área sempre esteve localizado a pelo menos 50 m da borda do talhão, para evitar o efeito de borda. Em geral, nas florestas, o transeto foi feito para dentro de cada fragmento, visando evitar efeitos de borda.

Tabela 3. Características dos locais objetos de estudo, incluindo estados, cidade, coordenadas geográficas, bioma e sistema de uso do solo.

Bioma e sistema	Município, Estado, Latitude, Longitude, altitude	Descrição da área e tamanho aproximado
Mata Atlântica VN	Mangueirinha, PR, 26.05108°S,	Fragmento de floresta ombrófila mista de 20 ha

SPD	52.235847°W, 966 m Mangueirinha, PR, 26.051079°S, 52.237655°W, 981 m	Culturas anuais - 27 anos de SPD, com palha e mix de culturas de cobertura na época de amostragem. 15 ha.
AMM	Mangueirinha, PR, 26.049991°S, 52.25608°W, 966 m	Culturas anuais - sucessão de culturas (soja, milho e trigo) com preparo do solo, com trigo plantado na amostragem. 33 ha
VN	Carambeí, PR, 25.030129°S, 50.189709°W, 921 m	Fragmento de Floresta Estacional Semidecidual. 43 ha
SPD	Carambeí, PR, 24.998144°S, 50.137432°W, 953 m	Culturas anuais - 46 anos de plantio direto sem cobertura de solo, milho plantado para silagem na amostragem. 100 ha
AMM	Carambeí, PR, 24.989568°S, 50.146001°W, 906 m	Culturas anuais - sob plantio direto com cultivo frequente e sucessão de culturas, com soja plantada na amostragem. 15 ha
VN	Panambi, RS, 28.375519°S, 53.445185°W, 494 m	Fragmento de floresta de 23,8 ha
SPD	Panambi, RS, 28.348351°S, 53.41567°W, 514 m	Culturas anuais - 28 anos de SPD, com palha e aveia na época de amostragem. 128 ha
AMM	Panambi, RS, 28.371324°S, 53.418971°W, 494 m	Culturas anuais - sob plantio direto com sucessão de culturas (soja e trigo ou aveia) e trigo plantado na amostragem. 37 ha
Cerrado		
VN	Lucas do Rio Verde, MT, 13.371176°S, 56.161247°W, 403 m	Fragmento tipo Cerrado sensu-stricto de 181 ha
SPD	Lucas do Rio Verde, MT, 13.273261°S, 56.087176°W, 429 m	Culturas anuais - 27 anos de SPD, com palha e plantação de aveia. 111 ha
AMM	Lucas do Rio Verde, MT, 13.281358°S, 56.092964°W, 442 m	Solo descoberto com pasto recentemente semeado (<i>Paspalum notatum</i>). 1 ha
VN	Conquista, MG, 19.852722°S, 47.675057°W, 743 m	Fragmento florestal tipo Cerradão de 18 ha
SPD	Conquista, MG, 19.854886°S, 47.675168°W, 757 m	Culturas anuais - 20 anos de SPD com solo parcialmente coberto com palha e soja plantada na amostragem. 23 ha
AMM	Conquista, MG, 19.856911°S, 47.672457°W, 722 m	Culturas anuais - sem plantio direto, mas com plantio frequente e sucessão de culturas (soja

VN	Formosa do Rio Preto, BA, 10.416057°S, 45.543317°W, 800 m	e milho); soja recém-plantada na amostragem. 30 ha Fragmento de Cerrado sensu-stricto de 285 ha
SPD	Formosa do Rio Preto, BA, 10.375206°S, 45.534562°W, 807 m	Culturas anuais - 20 anos de SPD, com palha e milho plantados na amostragem. 277 ha
AMM	Formosa do Rio Preto, BA, 10.428958°S, 45.60349°W, 812 m	Culturas anuais, sob plantio direto e com aração frequente e sucessão de culturas, com quase nenhuma cobertura do solo e em pousio na amostragem. 508 ha

Fonte: o Autor (2025).

Legenda: Os sistemas de uso: VN=Vegetação Nativa; SPD=Sistema Plantio Direto; AMM=Área Mal Manejada. Os estados, PR: Paraná; RS: Rio Grande do Sul; MT: Mato Grosso; MG: Minas Gerais; BA: Bahia.

É importante destacar que nos solos utilizados, a umidade dos solos foi ajustada a 50% da capacidade de retenção de água (CRA). Para minhocas a umidade é fixada entre 40 e 60% da CRA (ISO, 2012). O solo utilizado também passou por ciclos de desfaunagem.

Para validação dos ensaios, foi utilizado o solo artificial tropical (SAT), solo padrão utilizado em ensaios ecotoxicológicos com minhocas (Niva & Brown, 2019). Usou-se a relação de 75% areia fina (<0,05 mm), 20% caulim e 5% de pó da fibra da casca de coco (Niemeyer et al., 2019a). A fibra de coco foi adquirida da empresa Amafibra (Ananindeua-PA), o caulim da Labsinth, e a areia fina de um provedor local em Curitiba-PR.

3.4.2 Minhocas

Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados com três espécies de minhocas: *P. corethrurus*, *P. excavatus* e *E. andrei*. Os organismos da espécie *P. corethrurus* foicoletada na área experimental da Embrapa florestas, localizada no município de Colombo – Paraná, e representam a mesma linhagem (L1) do neótipo da espécie (James et al., 2019; Taheri et al., 2018). Os indivíduos da espécie *E. andrei* foram coletados em uma composteira livre de contaminantes na cidade de Curitiba, PR. Os organismos da espécie *P. excavatus* foram adquiridos da empresa

Minhobox (Juiz de Fora, MG), com certificação de qualidade para ensaios exotoxicológicos.

3.4.2.1 Ensaios de reprodução

Para condução dos ensaios de ecotoxicidade crônica (reprodução) seguiram a norma ISO 11268-2 (ISO, 2012). As normas foram adaptadas em relação à temperatura para todas as espécies (para mantê-las todas na mesma temperatura; $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, em incubadora). Para *P. corethrurus* usou-se um tempo maior de duração do ensaio (91 dias), por ter ciclo de vida mais longo (Buch et al. 2017). Para as outras espécies, usou-se a duração padrão da norma ISO (56 dias). Utilizaram-se minhocas adultas (cliteladas) com peso mínimo entre 200 e 400 mg para *E. andrei* e *P. excavatus*, e entre 400 a 600 mg para *P. corethrurus*, com pesos variando em média $< 100\text{ mg}$, sendo introduzidos 10 exemplares em cada um de cinco recipientes-teste (réplicas) para cada área. Antes de introduzir as minhocas no solo, uma quantidade maior do que a necessária para os ensaios foi separada e as minhocas permaneceram 24 horas em papel filtro umedecido, para purgar o conteúdo intestinal evitando interferências nos ensaios.

Foram usados recipientes redondos de plástico transparente, com tampa e capacidade de 1 L, e diâmetro de cerca de 200 cm^2 , o que permitiu uma profundidade de no mínimo 6 cm de solo (Figura 5A). Em cada réplica, foram adicionados 500 g de solo (peso seco) de cada uma das 18 áreas avaliadas. As tampas dos recipientes continham furos pequenos, que evitavam as fugas das minhocas, mas permitiam trocas gasosas. Por se tratarem de ensaios de longa duração, semanalmente foi reposta a umidade dos substratos (50% da CRA), e fornecido alimento (esterco de equino) (8 g massa seca), permitindo as minhocas crescerem e se reproduzirem.

As avaliações de sobrevivência e biomassa dos indivíduos adultos ocorreram aos 14 e 28 dias para *E. andrei* e *P. excavatus*, sendo os adultos retirados aos 28 dias após o início do ensaio. Para *P. corethrurus*, as avaliações ocorreram aos 14, 28, 42, 56, 84 e 91 dias após o início do ensaio, e os adultos foram retirados apenas ao final do ensaio (91 dias). Além da sobrevivência e biomassa, alterações morfológicas e comportamentais, como deformidades, foram avaliadas. As minhocas juvenis permaneceram nos recipientes, para continuação do

ensaio, até sua finalização aos 56 dias para *E. andrei* e *P. excavatus*, e 91 dias para *P. corethrurus*.

Após 56 e 91 dias do início do ensaio foi realizada a contagem do número de juvenis gerados para avaliar os efeitos causados na reprodução. Nesta etapa, os recipientes-testes, sem as tampas, foram colocados em banho-maria à temperatura de 55 °C a 65 °C, por um período de 20 a 30 minutos (ISO, 2012). Pelo calor produzido dentro do substrato, os juvenis subiram até a superfície do solo, facilitando a separação e contagem manual.

3.4.2.2 Ensaio de fuga/preferência

O ensaio foi realizado baseado na Norma NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011), mas com uma adaptação em relação à divisória do recipiente-teste, baseada no trabalho de Stephenson et al. (1998). Usaram-se recipientes-teste de plástico retangulares de 1 L, o que possibilitou adicionar cerca de 5 a 6 cm de solo. As tampas eram transparentes com furos para permitir trocas gasosas e o acesso à luz. Os recipientes foram divididos em quatro seções (Figura 5B), possibilitando assim a comparação entre todos os SUS (SPD, AMM, VN) de cada fazenda e o solo padrão (SAT), sendo cinco replicatas para cada fazenda.

Utilizou-se apenas a espécie *E. andrei*, inoculando 10 indivíduos adultos clitelados com peso individual entre 300 e 600 mg. As minhocas foram purgadas por 24 horas em papel de filtro umedecido, antes de usar no ensaio. A divisória utilizada para separar as seções do recipiente-teste foi colocada antes e durante a montagem do ensaio, sendo as dez minhocas adultas colocadas uma a uma no centro, e a divisória colocada novamente no momento da leitura (48 h depois), quando as seções foram novamente separadas e o número de minhocas em cada seção registrado. As minhocas seccionadas devido à inserção do divisor foram contadas como 0,5, independentemente do comprimento do restante do corpo (Niemeyer et al., 2019b).

Figura 5. Recipientes teste completo para ensaio de reprodução (A). Recipientes teste completo para ensaio de preferência (B).



Fonte: O autor (2025).

3.4.3 Análise química e granulométrica

Após a coleta em campo, as amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas, passadas em peneira de 2 mm e armazenadas em freezer (-20 °C) até a realização das análises químicas e granulométrica. As amostras foram coletadas na profundidade 0-10 cm, e para as análises químicas, 300 g de solo foram utilizados para determinar os teores dos nutrientes. O solo foi analisado seguindo métodos padrões do IAC (2001), no laboratório do IBRA Megalab em Sumaré, SP. Para a granulometria, foi realizado o preparo da solução dispersante, e para cada litro da solução foram diluídos 10 g de hexametáfosfato de sódio e 4 g de hidróxido de sódio. Pesaram-se 40 g de solo, e cada amostra foi colocada em frasco de vidro com tampa, onde foram acrescentadas 200 mL de solução, permanecendo em agitação por 16 h em agitador de mesa horizontal. A granulometria foi determinada pelo método do densímetro, sendo o valor de silte a diferença da leitura, e a areia pesada em balança de precisão (Gee & Or, 2002). As características químicas e granulometria dos solos avaliados se encontram na Tabela 4.

Tabela 4. Caracterização química e granulométrica dos solos dos diferentes sistemas de uso do solo.

Local/Fazenda		SUS	Argila				pH	CaCl ² mg/dm ³				K	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC pH 7,0	C	N
			g Kg	Silte	Areia	g Kg		P	mg/dm ³										
Mangueirinha, PR	Fazenda 1	VN	60	32,5	7,5	5,1	2,7	0,41	5,7	2,1	0,1	8,5	16,81	49,8	4,1				
		SPD	62,5	32,5	5,0	6,0	6,9	0,39	10,3	5,2	0	3	19,04	39,6	3,1				
		AMM	52,5	41	6,5	5,4	3	0,35	8,8	3,4	0	6,9	19,47	64	4,4				
Carambeí, PR	Fazenda 2	VN	23,75	41,75	34,5	4,2	4,4	0,35	2,7	1,8	0,7	9,9	15,49	35,4	3,4				
		SPD	35	26,25	38,75	5,6	10	0,43	7,1	3,1	0	3,8	14,49	38,6	3,3				
		AMM	20	10,75	69,25	5,3	3,5	0,23	2,2	1,2	0	2,1	5,76	7,7	0,6				
Panambi, RS	Fazenda 3	VN	47,5	28	24,5	4,5	2,5	0,43	3,7	2,4	0,2	8,2	14,95	28,5	2,7				
		SPD	42,5	23,5	34	5,1	14,3	0,38	5,8	2,2	0	4,8	13,21	19,9	1,5				
		AMM	50	27	23	5,1	3,2	0,25	4,6	2,7	0	5,3	12,87	20,4	1,7				
Lucas do Rio Verde, MT	Fazenda 4	VN	25	13	62	4,6	0,4	0,03	0,3	0,1	0,2	3,3	3,74	12	0,9				
		SPD	40	36	24	5,7	5,2	0,45	3,5	1,7	0	2,2	7,87	27,6	1,9				
		AMM	52,5	29,75	17,75	4,9	2	0,44	2,7	1,3	0	5,2	9,66	35	2,4				
Conquista, MG	Fazenda 5	VN	40	46,75	13,25	5,5	1,8	0,55	13,6	4,1	0	4,3	22,58	41,3	3,4				
		SPD	41,25	39,5	19,25	5,7	2,4	0,12	5,8	1,7	0	2,6	10,25	27,9	1,9				
		AMM	45	38,5	16,5	5,6	8,8	0,44	4,9	1,4	0	3,5	10,29	25,4	1,8				
Formosa do Rio Preto, BA	Fazenda 6	VN	35	15	50	3,8	0,7	0,04	0,4	0,2	0,9	8,8	9,5	25	1,4				
		SPD	30	12,25	57,75	6,5	17,9	0,13	6,5	1	0	1,2	8,86	23,3	1,6				
		AMM	30	8,25	61,75	4,9	17,7	0,1	2,3	0,7	0	4	7,12	25,9	1,7				
		SAT	180	45	775	6,24	8,8	1,11	1,9	0,93	0,01	2,8	6,74	11,1	0				

Fonte: o Autor (2025).

Sistema de Uso do Solo (SUS). VN: vegetação nativa, SPD: Sistema Plantio Direto, AMM: Área mal manejada, SAT: Solo Artificial Tropical. C: carbono, N: nitrogênio, P: fósforo, Al: alumínio, H+Al: acidez total, K: potássio, Ca: cálcio, Mg: magnésio, CTC: capacidade de troca catiônica.

3.4.4 Mineralogia

Nesse estudo, apenas os minerais da fração argila foram analisados. Para isso, as amostras foram dispersas em agitação mecânica por 4 h, a fração areia foi retida em peneira (53 μm) e a fração silte e argila separadas por sedimentação, sendo a argila coletada por sifonamento, segundo a Lei de Stokes (Gee e Bauder, 1986). A seguir, a fração argila passou pelo tratamento de oxidação dos compostos orgânicos, utilizando a fração do solo coletado, com H_2O_2 (30 % v/v) em banho-maria a 70 °C.

As amostras foram irradiadas no difratômetro (Bruker D2 Phaser) no intervalo de 5 a 50° 2 θ , com velocidade de varredura de 2° 2 θ min⁻¹. Após todas as leituras em DRX, os arquivos de dados foram extraídos e convertidos para serem tratados em excel, visando gerar figuras de cada local e sistema de uso do solo.

3.4.5 Fracionamento físico da matéria orgânica

Antes do fracionamento, as amostras foram submetidas a testes de número de esferas e densidade energética, devido à variabilidade dos solos de diferentes locais. As amostras de solo foram submetidas ao fracionamento físico granulométrico (Christensen, 1992). A etapa de dispersão foi realizada por agitação com esferas e sonicação (ajustadas para cada solo), e a separação das frações físicas foi realizada por peneiramento e sedimentação gravitacional (Figura 6).

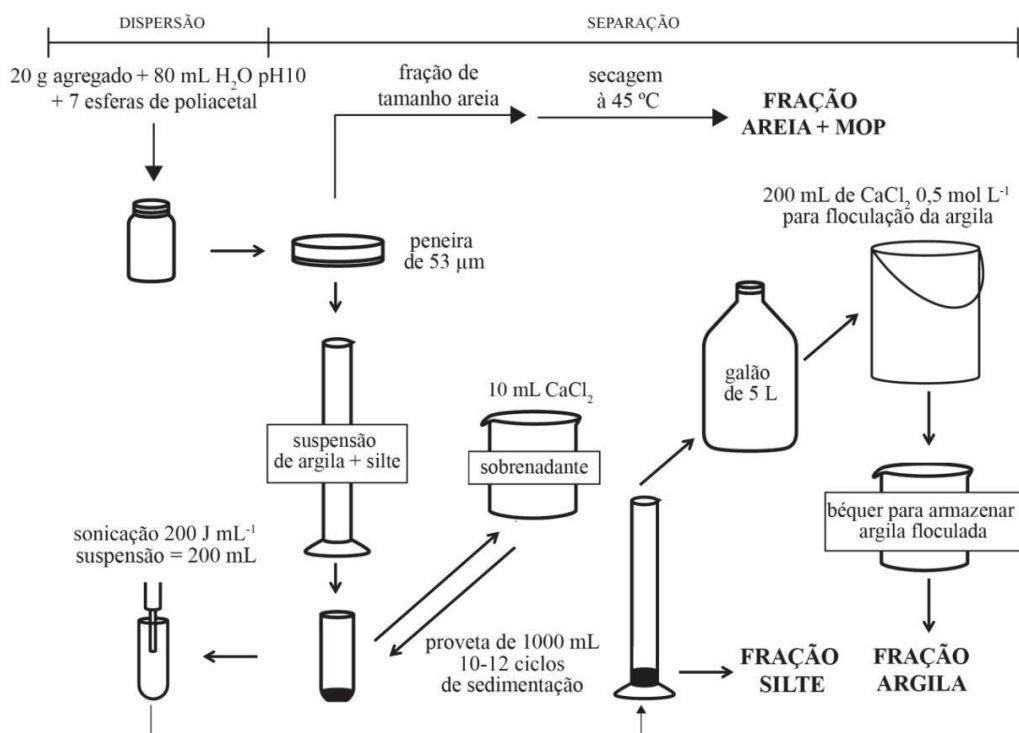
Na primeira etapa do fracionamento utilizou-se um frasco de vidro com tampa, onde foram colocados 20 g de solo e 80 mL de água deionizada com a quantidade de esferas adequadas a cada solo. Conforme ensaio prévio, as amostras foram agitadas por um período de 16 h em mesa agitadora. Após esse período, a solução foi vertida em peneira de malha de 53 μm para recuperar a fração areia mais matéria orgânica particulada (areia-MOP), sendo o material retido na peneira lavado em provetas de 1 L com jato brando de água, e seco em estufa a 45 °C. A suspensão que passou pela peneira foi centrifugada para concentrar os sólidos. Após essa concentração, os tubos de vidro com volume de solo conhecido foram sonicados, ajustando cada solo de 213 a 1470 J mL⁻¹, conforme a necessidade. Após a sonicação, a suspensão foi transferida para uma proveta de 1000 mL sendo realizados 10 ciclos de sedimentação gravitacional para a separação das partículas

de silte e argila, com o tempo de sedimentação calculado a partir da Lei de Stokes para então sifonar a argila da amostra (Christensen, 1992).

A suspensão com argila sifonada a cada ciclo de sedimentação foi transferida para potes com tampa, e quando finalizados os ciclos, o conteúdo total foi submetido à floculação com 200 mL de CaCl_2 0.5 mol L^{-1} . Após 24 h de repouso, o sobrenadante límpido foi descartado, e a fração argila sedimentada no fundo seguiu para liofilização, onde permaneceu por 3-4 dias.

Já a fração de tamanho silte, que permaneceu sedimentada no fundo da proveta após o último ciclo de sedimentação foi transferida para um recipiente e seco em estufa a 45°C . Ao final do fracionamento físico granulométrico foram então obtidas as frações areia-MOP ($>53\ \mu\text{m}$), silte ($53\text{-}2\ \mu\text{m}$) e argila ($<2\ \mu\text{m}$). As três frações físicas granulométricas foram moídas até passar em peneira de $200\ \mu\text{m}$ para determinação dos teores de C e N no analisador Elementar vario Pyro Cube.

Figura 6. Esquema de fracionamento físico granulométrico de amostras para determinar a matéria orgânica do solo.



FONTE: Adaptado de Ramalho (2016 e 2020).

3.4.6 Residuais de agrotóxicos

Foram avaliados alguns dos principais agrotóxicos (ingredientes ativos) utilizados na produção de grãos no Brasil: Ametrina, Atrazina, Clomazone, Diuron, Hexazinone, Monuron, Simazina; Tebutiuron e Glifosato (herbicidas); Pyraclostrobina, Tebuconazole e Trifloxystrobina (fungicidas); e Chlorpyrifos, Imidacloprida e Malationa (inseticidas). Além disso, foi avaliado um dos sub-produtos da degradação do glifosato, o ácido aminometilfosfônico (AMPA).

Os ingredientes ativos dos agrotóxicos foram adquiridos da QualiQuímica. Todos os agrotóxicos foram preparados em uma concentração de 1 mg/mL em acetona. Essas soluções individuais foram combinadas em diluições intermediárias, e subsequentemente diluídas na solução de trabalho para preparação da curva de calibração e enriquecimento. Todas as soluções foram armazenadas a -20 °C. Curvas de calibração de seis pontos foram preparadas diluindo a solução de trabalho de vários agrotóxicos na fase móvel inicial.

As amostras de solo coletadas em campo (18 locais) foram peneiradas em uma malha de 2 mm e armazenadas a -20 °C até a análise. A extração dos agrotóxicos do solo foi realizada da seguinte forma: 10 g de solo homogeneizado foram pesados e transferidos para um tubo de centrifuga de 50 mL. Em seguida, 10 mL de acetonitrila contendo 2.5% de ácido fórmico foram adicionados. Os componentes foram misturados manualmente até a homogeneização completa e agitados manualmente por 1 min. Posteriormente, um pacote de sal de extração QuEChERS contendo 6 g de sulfato de magnésio (MgSO₄) e 1.5 g de acetato de sódio (CH₃COONa) foi adicionado, seguido por agitação adicional por 1 min. As amostras foram sonicadas por 15 min, agitadas em uma mesa agitadora por 25 min a 200 rpm e centrifugadas por 10 min a 4200 rpm. O extrato resultante foi filtrado através de um filtro PTFE de 0.2 µm antes da análise. Amostras em branco foram preparadas seguindo o mesmo procedimento (não excedendo 30% do LOQ).

As análises foram realizadas em um sistema Agilent 1200 LC-MS/MS (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas). As separações cromatográficas foram conduzidas em uma coluna Agilent Zorbax C8 (4.6 x 75 mm, tamanho de partícula 3.5 µm). A fase móvel binária consistia em 0.1% de ácido fórmico em água (A) e 0.1% de ácido fórmico em acetonitrila (B). A razão A:B inicial foi de 90:10, com uma taxa de fluxo de 0.4 mL/min, aumentando para 100 mL/min ao

longo de 24 min. A detecção foi realizada usando um espectrômetro de massas triplo quadrupolo Agilent Technologies 6430 no modo DMRM. Os dados foram adquiridos e analisados usando o software Mass Hunter (Agilent).

Os valores de concentração/dose letal (mg kg^{-1}) para 50% da população de minhocas (DL50), provenientes dos ensaios agudos com os ingredientes ativos dos agrotóxicos avaliados, foram retirados do Pesticide Properties Database (PPDB) disponível online (ver <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>). Dessa mesma base de dados também se obtiveram os valores da maior concentração de efeito não observado (CENO) em mg kg^{-1} para cada um dos agrotóxicos avaliados.

3.4.7 Análise estatística

Foram calculadas as biomassas individuais das minhocas (BIM = biomassa total dos adultos no dia avaliado/número de indivíduos adultos vivos no dia avaliado). Posteriormente, foi calculada a variação da biomassa individual em cada dia avaliado (VBI), sendo esta calculada por $\text{VBI} = \text{BIM}_{\text{dia } n} / \text{BIM}_{\text{dia } 0} - 1$. A VBI e o número de adultos sobreviventes (AS), dentro de cada bioma, foram analisados usando um modelo linear de efeitos mistos, com a função lmer do pacote lme4 (Bates et al., 2015) no software R (R Core Team, 2024), onde VBI e AS foram consideradas as variáveis dependentes, e os fatores Fazenda, Sistema e Dia, as variáveis independentes. Além disso, as repetições foram incluídas como efeito aleatório levando em conta que as amostras foram coletadas de forma repetida ao longo do tempo para cada combinação de Fazenda, Sistema e Dia.

A fórmula do modelo utilizada foi:

$$\text{VBI ou AS} \sim \text{Fazenda} \times \text{Sistema} \times \text{Dia} + (1|\text{Repetição})$$

Após ajustar o modelo, as estimativas de médias marginais foram obtidas utilizando a função *emmeans* do pacote *emmeans* (Lenth, 2024), a qual permite calcular as médias ajustadas da variável dependente para as combinações dos fatores, levando em consideração os efeitos de cada fator de forma independente e interativa. Os intervalos de confiança (IC) para as médias ajustadas foram calculados utilizando o método padrão da função *emmeans*, do pacote *emmeans*, que se baseia na distribuição *t* para modelos com efeitos aleatórios. O tratamento

controle (SAT) não foi incluído no modelo, por não fazer parte de um sistema de uso ou fazenda; ele foi utilizado como controle, sendo calculado o intervalo de confiança e comparando com os outros solos.

O número e biomassa de juvenis, número de casulos e os dados do ensaio de preferência foram avaliados como um esquema fatorial (Fator 1: fazendas/locais e Fator 2: Sistema de uso do solo), para cada espécie, dentro de cada bioma, usando modelos lineares generalizados (MLGs). Estes modelos permitiram ajustar os dados a outras distribuições de probabilidade como Gamma e Poisson, visto que na maioria dos casos, estes dados não apresentaram distribuição Gaussiana. Quando o modelo apresentou interação significativa entre o Fator 1 e o Fator 2, foi realizado o desdobramento dos dados, e, portanto, foram comparados os efeitos do sistema de uso dentro de cada local avaliado, e cada sistema de uso entre os locais avaliados. Posteriormente, foi realizado o teste de médias de Tukey ($p < 0.05$) a fim de comparar as diferenças entre os fatores avaliados. As análises foram realizadas usando a função *glm*, e *glht* do pacote *multcomp* (Hothorn et al., 2008) do software R (R Core Team, 2024).

Para explorar as relações entre as propriedades químicas (listar quais foram usadas), físicas (listar quais foram usadas) e os agrotóxicos (listar quais foram usados) nos solos, foi realizada uma análise de componentes principais (ACP). Todos os dados foram transformados ($\log x + 1$), com o objetivo de padronizar as escalas e evitar o viés causado por valores maiores. A análise foi realizada usando o pacote *ade4* (Dray & Dufour, 2007). Já as correlações entre as minhocas (biomassa, número de juvenis e casulos) e os teores de agrotóxicos foi explorada usando a análise de Redundância (RDA), utilizando o pacote *vegan* (Oksanen et al., 2025). Similar a ACP, todas as variáveis foram previamente transformadas ($\log x + 1$).

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Residual de agrotóxicos

Foram avaliados residuais de 16 agrotóxicos, sendo nove herbicidas, três fungicidas e três inseticidas, além do AMPA. Porém, residuais de apenas nove agrotóxicos (Glifosato, Imidacloprid, Hexazinone, Mounon, Atrazina, Clomazone, Tebuconazole, Piraclastrobina e Clorpirifos) foram encontrados nos solos dos locais

de estudo (TABELA 5), e AMPA não foi detectado em nenhuma área. Independente do uso do solo e do local amostrado, quando detectado o residual de agrotóxico, estes valores não foram próximos dos valores de doses letais de 50% da população de minhocas, nem da maior concentração de efeito não observado (CENO).

Glifosato foi encontrado em apenas três dos dezoito solos: a AMM de Mangueirinha-PR, e o SPD e AMM de Conquista-MG. A Piraclostrobina ocorreu em apenas um solo do Cerrado (AMM de Formosa do Rio Preto-BA), enquanto no bioma Mata Atlântica foi detectada em SPD e AMM de Mangueirinha e Carambeí-PR, e na AMM de Panambi, RS. Esses dois agrotóxicos não foram detectados nas áreas de VN. Todos os outros sete agrotóxicos foram encontrados em todos os solos dos dois biomas (incluindo áreas de VN), mas em pequenas quantidades.

Tabela 5. Residuais de agrotóxicos (mg kg⁻¹) encontrados nos solos dos locais e sistemas de uso avaliados.

	Mangueirinha			Carambei			Panambi			Lucas do Rio Verde			Conquista			Formosa do Rio Preto			² DL ₅₀ (mg kg ⁻¹)	³ CEN O (mg kg ⁻¹)
	VN	SPD	AM M	VN	SPD	AMM	VN	SPD	AM M	VN	SPD	AMM	VN	SPD	AM M	VN	SPD	AMM		
Glifosato	0	0	0,02 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,014 3	0,02 5	0	0	0	> 5600	> 21.31
Imidacloprida	0,000 5	0,00 3	0,00 3	0,0 005	0,00 13	0,000 6	0,000 5	0,00 1	0,00 2	0,000 5	0,001 1	0,000 5	0,000 5	0,004 2	0,00 2	0,000 5	0,000 6	0,00 06	10,7	≥0,17 8
Hexazinone	0,002	0,00 2	0,00 2	0,0 02	0,00 2	0,002	0,002	0,00 2	0,00 2	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,00 2	0,002	0,002	0,00 2	NI	NI
Monuron	0,001	0,00 1	0,00 1	0,0 01	0,00 1	0,001	0,001	0,00 1	0,00 1	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,00 1	0,001	0,001	0,00 1	NI	NI
Atrazina	0,000 06	0,00 2	0,00 02	0,0 000	0,00 02	0,000 06	0,000 06	0,00 02	0,00 01	0,000 05	0,000 1	0,000 07	0,000 09	0,000 07	0,00 02	0,000 06	0,000 08	0,00 005	79	NI
Clomazone	0,000 3	0,00 02	0,00 02	0,0 002	0,00 02	0,000 2	0,000 2	0,00 02	0,00 02	0,000 3	0,000 2	0,000 2	0,000 2	0,000 3	0,00 02	0,000 2	0,000 2	0,00 02	78	> 0,8
Tebuconazole	0,000 3	0,00 06	0,00 3	0,0 002	0,00 08	0,000 3	0,000 2	0,00 03	0,00 04	0,000 2	0,000 3	0,000 2	0,000 2	0,000 4	0,00 13	0,000 3	0,000 6	0,00 03	>100 0	1,25
Piraclostrobin	0	0,00 02	0,00 01	0	0,00 03	0,000 1	0	0	0,00 05	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00 06	567	23,1
Clorpirifos	0,000 6	0,00 06	0,00 06	0,0 005	0,00 05	0,000 5	0,000 6	0,00 06	0,00 06	0,000 6	0,000 67	0,000 5	0,000 6	0,000 6	0,00 06	0,000 5	0,000 6	0,00 05	129	0,075

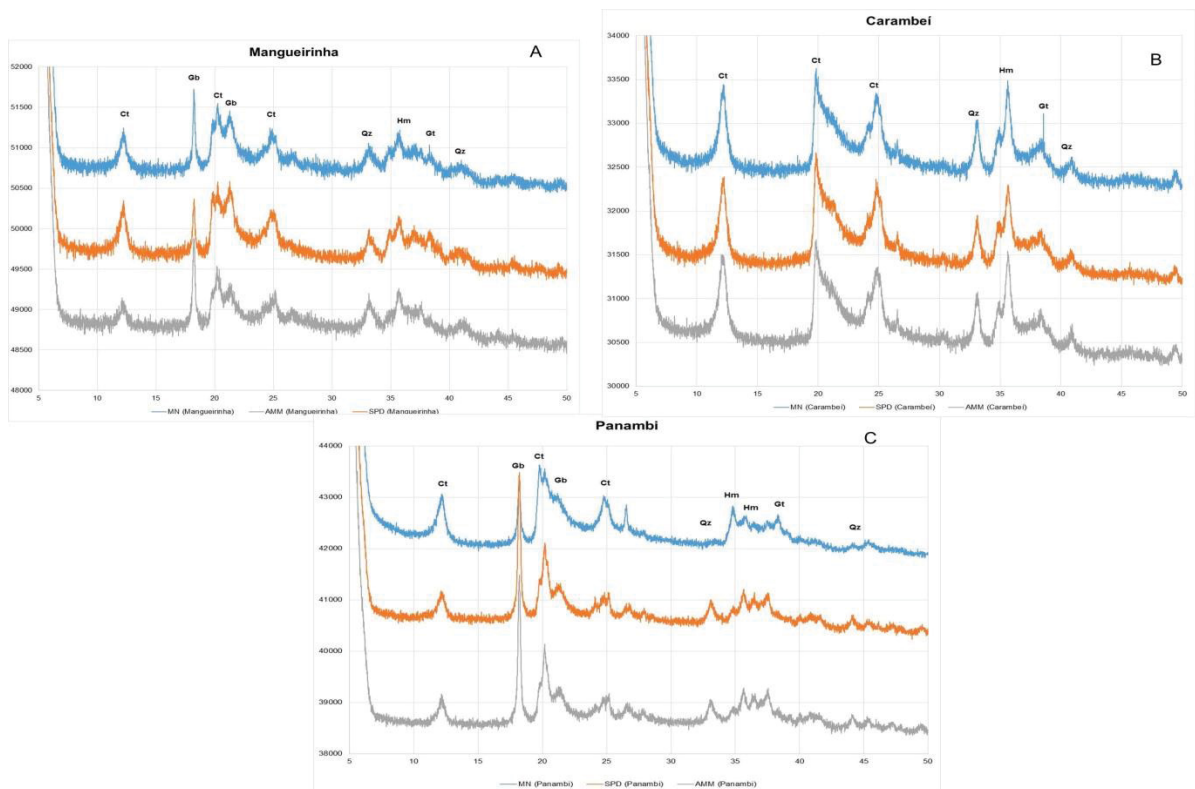
Fonte: O Autor (2025).

Legenda: ¹Residual de agrotóxicos quantificados nos solos estudados, nos diferentes sistemas de uso do solo. Todas os agrotóxicos estão apresentados em mg kg⁻¹ peso seco de solo. VN: Vegetação Nativa; SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: Área Mal Manejada. ²DL 50: concentração letal em mg kg⁻¹ de 50% da população, proveniente do teste agudo, aos 14 dias após início do ensaio ecotoxicológico; ³CENO: maior concentração de efeito não observado (mg kg⁻¹). NI: valores não identificados na base de dados utilizada. Dados para ²DL50 e ³CENO retirados da base PPDB (2025).

3.5.2 Mineralogia

Os solos de ambos os biomas e locais apresentam um elevado grau de intemperismo, devido à presença de argilominerais 1:1 e óxidos, sem a presença de argilominerais do tipo 2:1, presente em solos menos intemperizados. Nos solos das fazendas de Mangueirinha e de Panambi, na Mata Atlântica (Figura 7), foram detectados na fração argila, os argilominerais do tipo 1:1 como a caulinita (Ct), a gibbsita (Gb; óxidos de alumínio), a goethita (Gt) e hematita (Hm), ambos óxidos de ferro, e o quartzo (Qz; óxido de silício). Em Carambeí, não foi detectado o óxido de alumínio (gibbsita).

Figura 7. Mineralogia dos solos dos diferentes locais amostrados, Mangueirinha (A), Carambeí (B), Panambi (C), pertencentes ao bioma da Mata Atlântica.



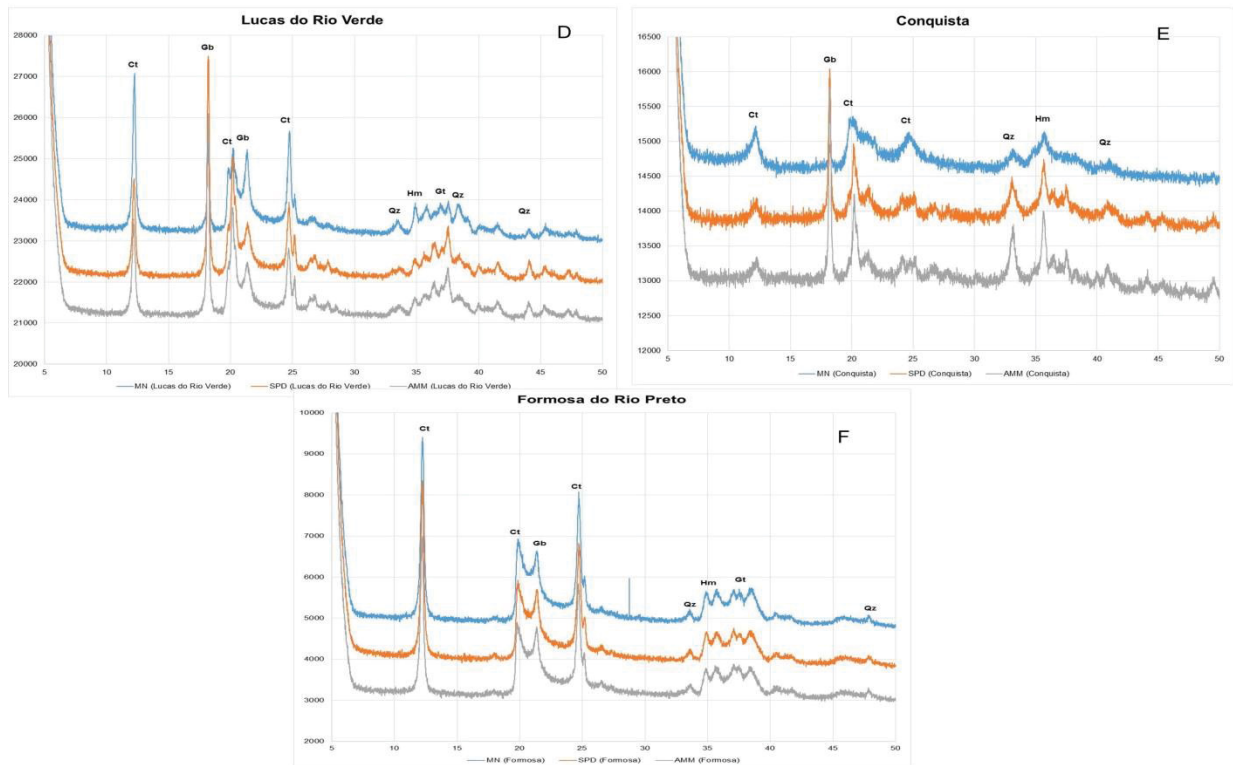
Fonte: O Autor (2025).

Legenda: VN: Vegetação Nativa; SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: Área Mal Manejada. Em relação aos minerais da fração argila: Ct - Caulinita; Gb - Gibbsita; Qz - Quartzo; Hm - Hematita; Gt - Goethita.

Nos solos do Cerrado (Figura 8), foram detectados caulinita, gibbsita, goethita, hematita, e quartzo em Lucas do Rio Verde e Formosa do Rio Preto. Nos

solos de Conquista, não foi detectada a presença de goethita, tendo esses solos uma coloração vermelha intensa. Pode-se observar picos com maiores intensidades em ambos os biomas para os solos de Mata Nativa, seguido de SPD e AMM.

Figura 8. Mineralogia dos solos dos diferentes locais amostrados, Lucas do Rio Verde (D), Conquista (E), Formosa do Rio Preto (F), pertencentes ao bioma do Cerrado



Fonte: O Autor (2025).

Legenda: VN: Vegetação Nativa; SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: Área Mal Manejada. Em relação aos minerais da fração argila: Ct - Caulinita; Gb - Gibbsita; Qz - Quartzo; Hm - Hematita; Gt - Goethita.

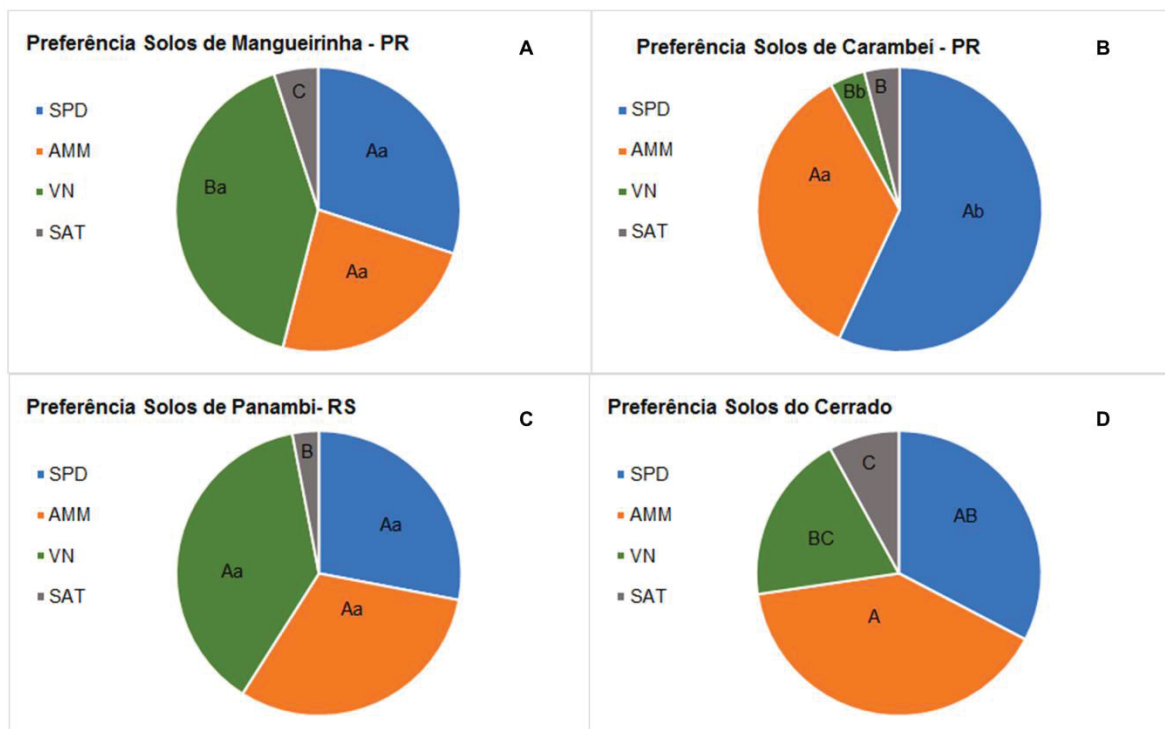
3.5.3 Ensaio de preferência

No ensaio de preferência com a *E. andrei*, as minhocas preferiram os solos naturais ao invés do SAT (FIGURA 9) em todos os locais estudados. Não houve mortalidade, validando assim o ensaio. No bioma Mata Atlântica, nos solos de Manguerinha (Figura 9A), as minhocas preferiram o solo de VN em relação aos demais, ao contrário do que ocorreu nos solos de Carambeí (Figura 9B), onde as minhocas preferiram os solos com ação antrópica, com 57% para o SPD. Nos solos de Panambi (Figura 9C), não houve preferência em relação ao sistema de uso do

solo, apenas comparado com o SAT. Quando comparados os sistemas entre os locais, houve preferência do SPD de Carambeí em relação a Mangueirinha e Panambi. Em contraste, a VN de Carambeí teve menor preferência em relação aos outros locais.

Nas áreas do Cerrado, não houve diferenças entre os locais, apenas entre os sistemas de uso (Figura 9D), sendo a AMM preferida para as minhocas em comparação com a VN e SAT, mas não diferindo do SPD, que por si não diferiu da VN.

Figura 9. Ensaio de preferência para diferentes sistemas de uso do solo, em diferentes locais, Mangueirinha-PR (A), Carambeí-PR (B), Panambi-RS (C) do bioma Mata Atlântica e Cerrado (D).



Fonte: O Autor (2025).

Letras maiúsculas diferentes entre si, comparam os sistemas de uso do solo dentro de cada local do mesmo bioma, pelo teste de Tukey a 95%. Letras minúsculas diferentes, comparam os sistemas entre os locais do mesmo bioma. SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: área mal manejada; VN: Vegetação nativa; SAT: solo artificial tropical.

3.5.4 Ensaio de sobrevivência e reprodução

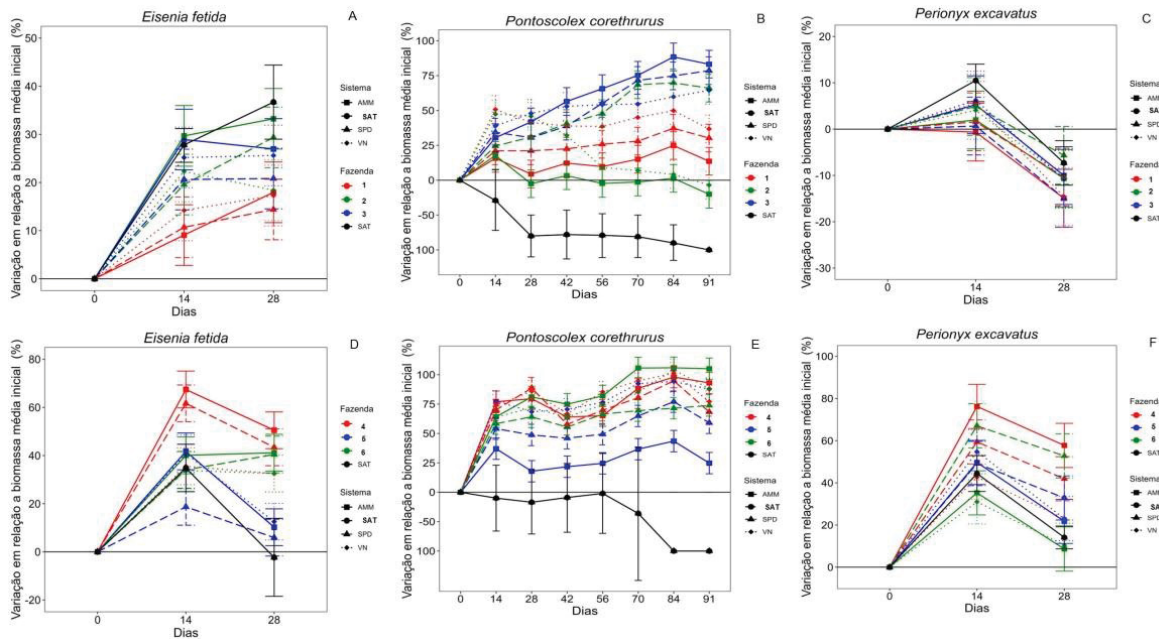
Nos solos do Cerrado houve baixa mortalidade de *E. andrei* (média 0,2 indiv.), devido a mortalidade de um indivíduo no solo de VN de Lucas do Rio Verde, e um

no SPD de Conquista e de Formosa do Rio Preto. Nos solos da Mata Atlântica, houve apenas uma morte na VN e na AMM de Carambeí. Nos solos da Mata Atlântica as minhocas aumentaram a biomassa em relação ao peso inicial em todos os tratamentos, incluindo o SAT (Figura 10 A), e no Cerrado ocorreu o mesmo, com exceção do solo de Conquista e no SAT, onde não houve aumento na biomassa final em relação à inicial (Figura 10 D).

A espécie *P. excavatus* teve apenas um indivíduo morto em cada um dos sistemas de uso do solo de Carambeí e na AMM de Panambi. Nos solos da Mata Atlântica, o peso final das adultas foi menor comparado ao peso inicial em todos os tratamentos (Figura 10 C), enquanto nos solos do Cerrado houve aumento da biomassa em relação ao peso inicial em todos os tratamentos (Figura 10 F).

Para *P. corethrurus*, nos solos do Cerrado de Lucas do Rio Verde, houve uma mortalidade em cada um dos SUS, enquanto para os solos de Formosa do Rio Preto, duas mortalidades em AMM e VN e uma no SPD. O número de mortalidades foi maior nos solos da Mata Atlântica, sendo uma na VN e na AMM em Mangueirinha, uma no SPD e duas nos solos de Carambeí na VN e na AMM, e uma em cada um dos sistemas de Panambi. No SAT houve 100% de mortalidade. A partir dos 14 dias houve uma queda brusca na biomassa média dos adultos no SAT no ensaio com os solos da Mata Atlântica (Figura 10 B), e nos solos do Cerrado, houve perda importante de biomassa a partir de 56 dias. Na Mata Atlântica, as minhocas ganharam mais biomassa no solo de Panambi, enquanto na VN e na AMM ao final do ensaio elas tinham aproximadamente o mesmo peso inicial. No Cerrado, o solo da AMM de Conquista apresentou menor ganho de biomassa em relação aos demais sistemas.

Figura 10. Biomassa das minhocas adultas de *E. fetida* (A, D), *P. corethrurus* (B, E) e *P. excavatus* (C, F) em diferentes locais e sistemas de uso do solo de dois biomas brasileiros, Mata Atlântica (Fazendas 1, 2 e 3, figuras A, B e C) e Cerrado (Fazendas 4, 5 e 6, figuras D, E e F).



Fonte: O Autor (2025).

Legenda: Fazenda 1 – Mangueirinha-PR, Fazenda 2 – Carambeí-PR, Fazenda 3 – Panambi-RS; Fazenda 4 – Lucas do Rio Verde-MT, Fazenda 5 – Conquista –MG, Fazenda 6- Formosa do Rio Preto-BA. Sistema de uso do solo – AMM- área mal manejada, VN- vegetação nativa, SPD- sistema plantio direto, SAT- solo artificial tropical.

Os indivíduos adultos de *P. excavatus* reproduziram-se bem em todos os sistemas de uso do solo e locais estudados (Figura 11). Em Mangueirinha e Carambeí, o SPD apresentou maior reprodução dessa espécie, enquanto que em Panambi a AMM teve maior reprodução em relação aos demais SUS. No SAT a reprodução foi equivalente ($227 \text{ ind} \pm 3,19$) à do SPD de Carambeí ($226 \text{ ind} \pm 5,43$), e ao SPD ($211 \text{ ind} \pm 14,97$) e VN ($201 \text{ ind} \pm 12,16$) de Mangueirinha.

Em Mangueirinha o SPD e a VN diferiram entre si e ambos sistemas tiveram maior reprodução de *P. excavatus* em relação à AMM (Figura 11A). Em Carambeí, a reprodução foi maior em SPD que na AMM, e nesta foi maior que na VN. Em Panambi, houve maior reprodução na AMM que no SPD, e este foi maior que a VN. Quando comparados entre locais, a reprodução em VN foi maior em Mangueirinha, na AMM foi maior em Panambi, e no SPD foi maior em Mangueirinha e Carambeí que em Panambi.

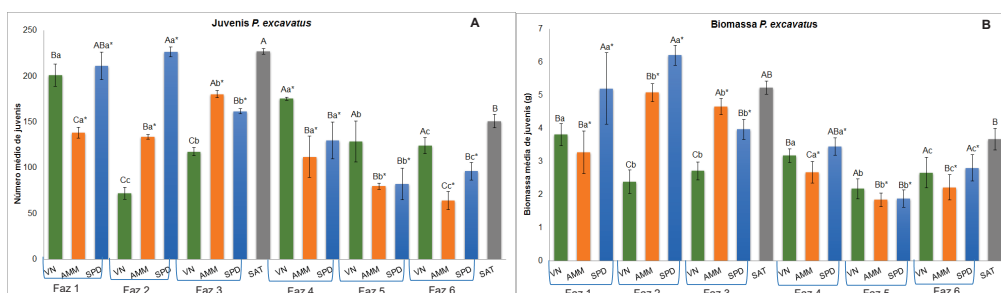
A biomassa média dos juvenis no final do ensaio seguiu um padrão bastante similar ao da reprodução (Figura 11 B), sendo maior no SPD de Carambeí (6,61 g), e de Mangueirinha (5,2 g), que em Panambi. No SAT também foi encontrada alta biomassa de juvenis (5,23 g). Somente em Mangueirinha a biomassa não foi menor na VN que nos demais sistemas.

Nos solos do Cerrado, o número médio de juvenis de *P. excavatus* (Figura 11 A) foi maior nos sistemas de VN comparado com os demais de cada local. As AMMs tiveram menor reprodução dessa espécie em Lucas do Rio Verde e Conquista. De fato, em Lucas do Rio Verde a reprodução foi maior que nos outros dois locais para todos os sistemas de uso.

As maiores biomassas foram nos solos de Lucas do Rio Verde em comparação com os outros solos do Cerrado (Figura 11B). Nesse local, o SPD teve reprodução igual que o SAT, e maior que na VN e AMM. Em Conquista, a VN teve maior biomassa em relação aos demais sistemas, enquanto que em Formosa do Rio Preto, tanto o SPD quanto a VN tiveram biomassa maior que a AMM.

O número médio de juvenis e também a biomassa foram diferentes entre os dois biomas para os sistemas AMM e SPD, sendo maiores na Mata Atlântica que no Cerrado.

Figura 11. Número médio de juvenis (A) e biomassa de juvenis (B) da espécie *P. excavatus*, em diferentes sistemas de uso do solo de dois biomas brasileiros.



Fonte: O Autor (2025).

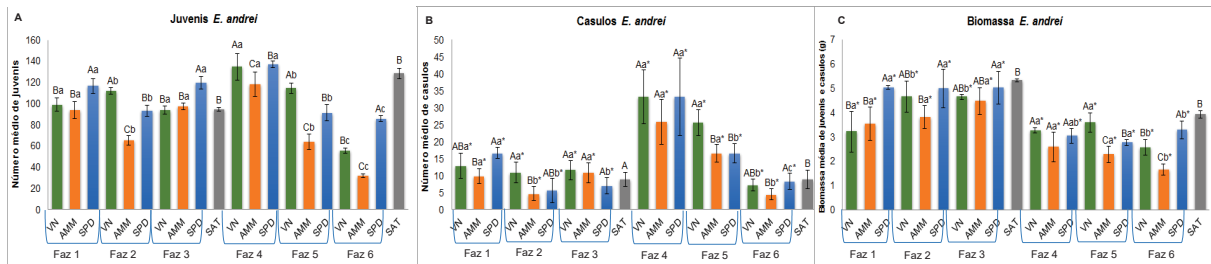
SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: área mal manejada; VN: Vegetação nativa; SAT: solo artificial tropical. Fazendas 1 a 3 pertencem a Mata Atlântica, as quais são Faz 1: Mangueirinha-PR; Faz 2: Carambeí-PR; Faz 3: Panambi-RS. Fazendas 4 a 6 pertencem ao Cerrado, as quais são Faz 4: Lucas do Rio Verde-MT; Faz 5: Conquista-MG; Faz 6: Formosa do Rio Preto-BA. Letras maiúsculas significam diferenças significativas entre os sistemas de uso do solo dentro de cada local do mesmo bioma. Letras minúsculas diferentes, comparam os sistemas entre os locais do mesmo bioma. Letras seguidas de asterisco demonstram diferenças entre os biomas, pelo teste de Tukey a 95%.

Para *E. andrei*, a reprodução das minhocas adultas, medida em termos de número de juvenis produzidos, foi maior no SPD de Panambi ($200 \text{ ind} \pm 5,75$) e de Manguueirinha ($117 \text{ ind} \pm 7,23$), que no do SPD de Carambeí ($92 \text{ ind} \pm 5,33$), e nesses dois locais, a reprodução foi maior no SPD que nos demais sistemas de uso. Já em Carambeí, a reprodução foi maior na VN ($112 \text{ ind} \pm 2,83$), que nos demais sistemas. No Cerrado, o número médio de juvenis (Figura 12 A), foi maior nos SPD que nos demais sistemas em todos os locais, e na VN foi maior que nas áreas de AMM. Já entre os locais, a reprodução foi maior em Lucas do Rio Verde que em Conquista, e em Conquista que em Formosa do Rio Preto para todos os sistemas de uso da terra.

Em relação aos casulos de *E. andrei* não eclodidos do bioma da Mata Atlântica (Figura 12B) foram encontrados mais casulos no SPD que na AMM de Manguueirinha. Inclusive, encontraram-se mais casulos dessa espécie no SPD de Manguueirinha que nos SPDs dos outros locais. Já a AMM de Carambeí teve menos casulos que nos solos das AMMs de Manguueirinha e Panambi. No Cerrado, encontrou-se alto número de casulos nos solos de Lucas do Rio Verde, seguido de Conquista, inclusive visualmente superiores aos encontrados nos solos da Mata Atlântica. Todos os sistemas de uso em Formosa do Rio Preto tiveram menor número de casulos da minhoca vermelha da Califórnia em comparação aos outros locais. No SPD de Lucas do Rio Verde, encontraram-se mais casulos que no mesmo sistema em Conquista.

Na Mata Atlântica encontrou-se maior biomassa de *E. andrei* nos sistemas de SPD que nas AMMs em Carambeí e Manguueirinha. Contudo, entre locais, não foram encontradas diferenças para o SPD e a AMM, mas a biomassa da VN em Manguueirinha foi menor que nos outros locais. No Cerrado, a biomassa dessa espécie foi maior na VN de Conquista que nos demais sistemas, e em Formosa do Rio Preto maior no SPD que nos demais sistemas. Para Conquista e Lucas do Rio Verde, a biomassa foi maior em VN e AMM que em Formosa do Rio Preto, enquanto que nesse último local, a biomassa foi maior no SPD de Conquista. Em geral, as biomassas foram maiores os biomas nos solos da Mata Atlântica em comparação ao Cerrado em todos os sistemas.

Figura 12. Número médio de juvenis (A), casulos (B) e biomassa de juvenis e casulos (C) da espécie *E. andrei*, em diferentes sistemas de uso do solo de dois biomas brasileiros.



Fonte: O Autor (2025).

SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: área mal manejada; VN: Vegetação nativa; SAT: solo artificial tropical. Fazendas 1 a 3 pertencem a Mata Atlântica, sendo Faz 1: Manguueirinha-PR; Faz 2: Carambeí-PR; Faz 3: Panambi-RS. Fazendas 4 a 6 pertencem ao Cerrado, sendo Faz 4: Lucas do Rio Verde-MT; Faz 5: Conquista-MG; Faz 6: Formosa do Rio Preto-BA. Letras maiúsculas diferentes entre si, comparam os sistemas de uso do solo dentro de cada local do mesmo bioma. Letras minúsculas diferentes, comparam os sistemas entre os locais do mesmo bioma. Letras seguidas de asterisco demonstram diferenças entre os biomas, pelo teste de Tukey a 95%.

Os indivíduos adultos de *P. corethrurus* reproduziram-se em todos os solos dos sistemas de uso e locais estudados (Figura 13). Apenas no SAT não houve reprodução dessa espécie, devido à mortalidade da maior parte dos indivíduos inoculados. Em relação aos solos do bioma Mata Atlântica, o SPD de Manguueirinha teve o maior número de juvenis ($14 \text{ ind} \pm 2,73$), que nos outros sistemas e que nos outros locais (Figura 13A). Em Carambeí não foram encontrados juvenis, mas foram encontrados alguns casulos.

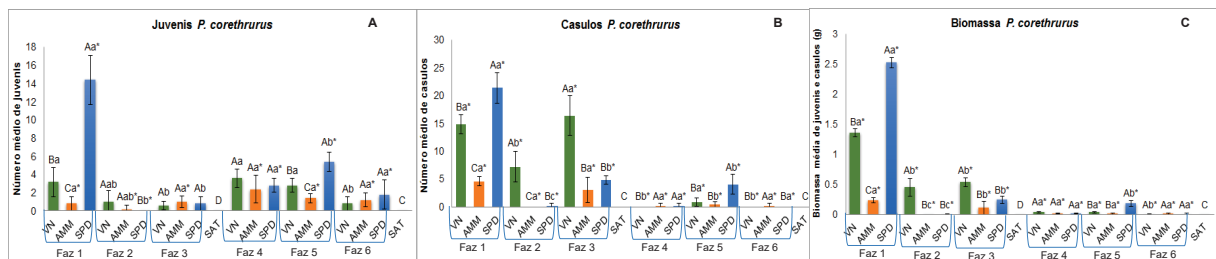
No Cerrado, o número médio de juvenis de *P. corethrurus* (Figura 13 A), foi maior apenas no SPD de Conquista, que na VN, e essa da AMM. Nos outros locais não foram encontradas diferenças entre os sistemas de uso. Já para os locais, o número de juvenis dessa espécie foi significativamente maior na VN de Lucas do Rio Verde e Conquista que de Formosa do Rio Preto, e maior no SPD de Conquista que nos outros dois locais. Quando comparado à Mata Atlântica, em geral os solos do Cerrado tiveram mais juvenis, exceto pelo SPD e VN de Manguueirinha.

No SPD de Manguueirinha e VN desse último local e de Panambi, encontraram-se muitos casulos de *Pontoscolex* não eclodidos, significativamente mais que nas áreas de AMM. Foi encontrado um maior número de casulos no SPD de Manguueirinha em relação ao sistema nos outros locais. A VN de Carambeí teve

menos casulos em comparação aos solos de Mangueirinha e Panambi. Na AMM de Carambeí não foram encontrados casulos dessa espécie. No Cerrado (Figura 13B), encontraram-se apenas alguns casulos, sendo mais abundantes em SPD de Conquista. Na VN de Lucas do Rio Verde, e na VN e no SPD de Formosa não foram encontrados casulos. Os solos da Mata Atlântica tiveram maiores quantidades de casulos quando comparados ao Cerrado, exceto o SPD de Conquista.

Em Mangueirinha, a biomassa média dos juvenis e casulos de *Pontosclex* (Figura 13C) foi maior no SPD que na VN, e este sistema teve maior biomassa que a AMM. Nos outros dois locais da Mata Atlântica, a biomassa média dessa espécie foi maior na VN que nos demais sistemas de uso. Em Mangueirinha todos os sistemas de uso tiveram maiores biomassas comparados aos demais locais da Mata Atlântica e também entre os biomas. No Cerrado, a biomassa de *Pontosclex* (Figura 13C) seguiu o comportamento dos casulos, sendo maior no SPD de Conquista.

Figura 13. Número médio de juvenis (A), casulos (B) e biomassa de juvenis e casulos (C) da espécie *P. corethrurus*, em diferentes sistemas de uso do solo de dois biomas brasileiros Mata Atlântica e Cerrado.



Fonte: O Autor (2025).

SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: área mal manejada; VN: Vegetação nativa; SAT: solo artificial tropical. Fazendas 1 a 3 pertencem a Mata Atlântica, sendo Faz 1: Mangueirinha-PR; Faz 2: Carambeí-PR; Faz 3: Panambi-RS. Fazendas 4 a 6 pertencem ao Cerrado, sendo Faz 4: Lucas do Rio Verde-MT; Faz 5: Conquista-MG; Faz 6: Formosa do Rio Preto-BA. Letras maiúsculas diferentes entre si, comparam os sistemas de uso do solo dentro de cada local do mesmo bioma. Letras minúsculas diferentes, comparam os sistemas entre os locais do mesmo bioma. Letras seguidas de asterisco demonstram diferenças entre os biomas, pelo teste de Tukey a 95%.

3.5.5 Fracionamento de matéria orgânica

Na fração areia com a matéria orgânica leve, e nas frações menores como o silte e a argila, não houve diferença significativa nos teores de matéria orgânica

entre os sistemas de uso do solo e entre locais (Tabela 6). Com exceção dos solos de Lucas do Rio Verde, a VN apresentou maiores valores de C em relação aos outros sistemas de uso. Os teores de C foram maiores nas frações menores do solo (silte e argila).

Tabela 6. Fracionamento físico da matéria orgânica em frações areia, silte e argila, de solos de diferentes sistemas de uso em locais de dois biomas brasileiros.

		Fração					
		Areia		Silte		Argila	
		N	C	N	C	N	C
		g Kg ⁻¹					
Mangueirinha - PR	VN	0.45	3.95	0.88	12.67	2.34	29.88
	SPD	0.29	2.64	0.75	11.99	1.56	22.06
	AMM	0.38	2.38	1.15	20.79	2.15	31.92
Carambeí - PR	VN	0.59	8.11	0.84	10.89	1.59	17.05
	SPD	0.43	6.2	0.84	11.34	1.22	15.26
	AMM	0	1.26	0.33	4.41	0.5	6.32
Panambi - RS	VN	0.17	3.43	0.84	10.14	1.24	12.21
	SPD	0.03	1.05	0.49	7.05	0.81	9.94
	AMM	0.07	1.38	0.43	6.10	0.9	10.85
Lucas do Rio Verde - MT	VN	0	1.92	0.27	3.63	0.35	4.67
	SPD	0.19	3.77	0.58	10.04	0.64	9.36
	AMM	0.21	4.26	0.77	12.61	1.10	15.07
Conquista - MG	VN	0.49	8.82	1.03	16.17	1.52	15.4
	SPD	0.29	4.62	0.47	8.37	0.87	12.04
	AMM	0.28	5.13	0.46	8.51	0.85	11.7
Formosa do Rio Preto - BA	VN	0.1	4.2	0.45	8.79	0.49	7.67
	SPD	0.11	3.06	0.40	7.77	0.45	6.21
	AMM	0.12	2.96	0.27	6.09	0.51	7.35

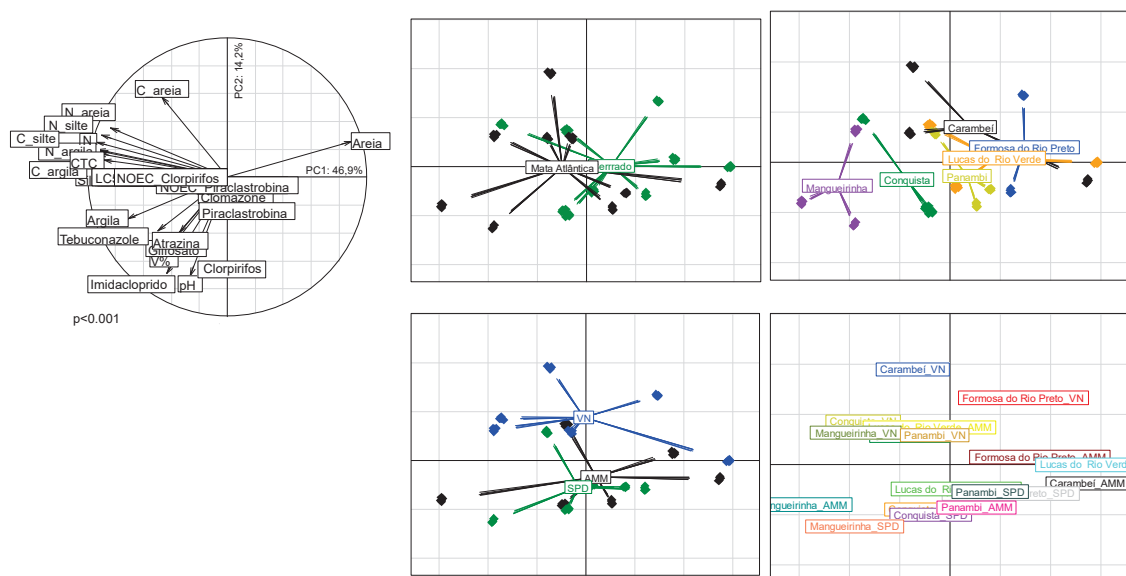
Fonte: O Autor (2025).

Legenda: C: Carbono; N: Nitrogênio; SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: área mal manejada; VN: Vegetação nativa; SAT: solo artificial tropical.

3.5.6 Relação entre os resíduos de agrotóxicos, as minhocas e os atributos químicos e granulometria do solo

Na análise de componentes principais, os dois primeiros eixos explicaram 61% da variabilidade dos dados (Figura 14), sendo 47% pelo eixo 1 (PC1) e 14% pelo eixo 2 (PC2). A granulometria e a fertilidade do solo, especialmente o teor de areia e argila, e a CTC, apresentaram-se como importantes para separar os locais, que se alinham ao longo do primeiro eixo. O segundo eixo esteve relacionado principalmente com o pH e os residuais de agrotóxicos no solo, e separou bem as áreas de VN que tiveram poucos residuais, com aqueles das áreas de produção (AMM e SPD), que tiveram maiores residuais.

Figura 14. Análise dos componentes principais e projeção das variáveis da análise de componentes principais de agrotóxicos, sistemas de uso do solo e atributos químicos do solo de dois biomas brasileiros.



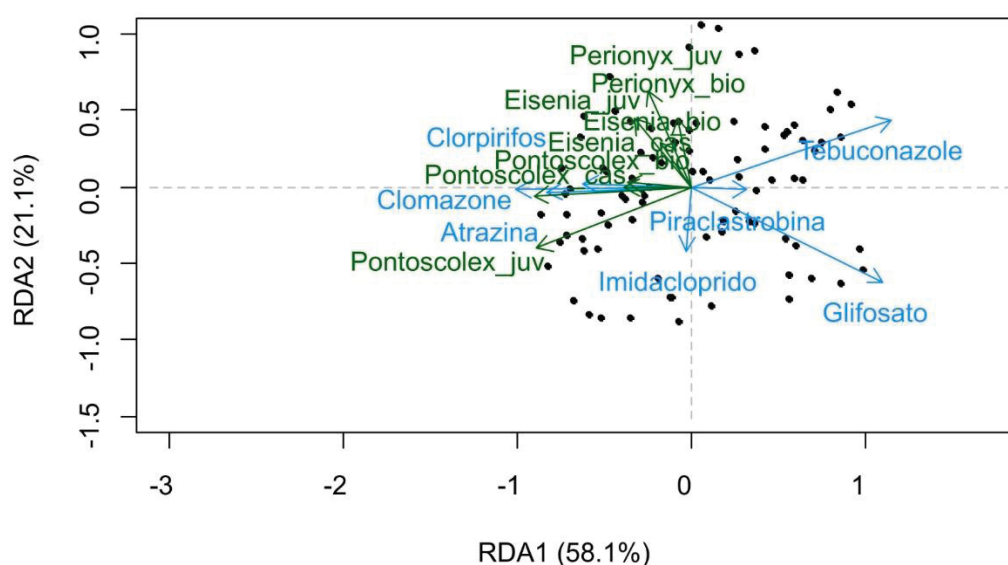
Fonte: O autor (2025)

Legenda: SPD: Sistema Plantio Direto; AMM: área mal manejada; VN: Vegetação nativa; SAT: solo artificial tropical; CTC: Capacidade de troca catiônica; N_areia: Nitrogênio da fração areia; N_silte: Nitrogênio da fração silte; N_argila: Nitrogênio da fração argila; C_areia: Carbono da fração areia; C_silte: Carbono da fração silte; C_argila: Carbono da fração argila.

A relação entre as variáveis do solo, agrotóxicos e reprodução das minhocas está representada na Figura 15. O primeiro eixo canônico (RDA1) explicou 58% da variação existente e o segundo eixo (RDA2) explicou 21% da variação, totalizando

79% de toda a variação existente. Encontrou-se uma relação negativa entre os residuais de glifosato e todos os atributos biológicos avaliados (reprodução, sobrevivência) das minhocas, e uma relação negativa entre os residuais de tebuconazole e a reprodução de *Pontosclex*. Ao contrário, a reprodução dessa espécie esteve positivamente relacionada com os residuais dos herbicidas atrazina e clomazone e do inseticida clorpirifós.

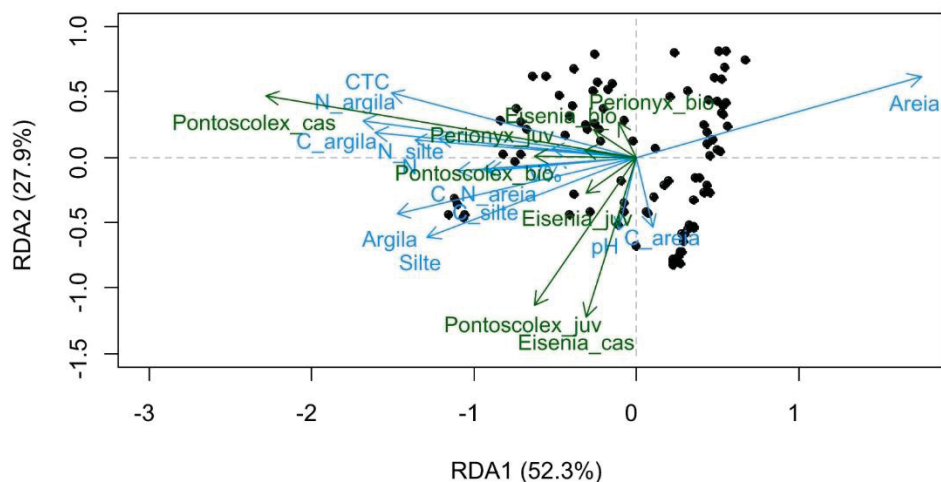
Figura 15. Resultado a análise de redundância mostrando a relação entre os atributos biológicos das espécies de minhocas e os residuais de agrotóxicos nos solos das áreas avaliadas.



Fonte: O autor (2025)

Já a reprodução das minhocas, particularmente de *Pontosclex* e *Perionyx* estiveram positivamente associadas a maiores teores de C e N no solo, maior CTC e maiores teores de argila e silte, e negativamente relacionadas ao teor de areia nos solos das áreas avaliadas. Já a reprodução de *Pontosclex* (nº juvenis) e de *Eisenia* (casulos) esteve positivamente relacionada com o pH do solo e o teor de C na fração mais grossa (areia).

Figura 16. Resultado da análise de redundância mostrando a relação entre os atributos biológicos das espécies de minhocas e os atributos químicos e granulometria do solo das áreas avaliadas.



Fonte: O autor (2025)

3.6 DISCUSSÃO

3.6.1 Residual de agrotóxicos

Fatores como o tipo de solo, o clima e a presença de comunidades vegetais e microbianas são importantes determinantes na persistência e degradação de agrotóxicos (El-Saeid et al., 2022; Ghafoor et al., 2011; Soulas & Lagacherie, 2001; Tariq et al., 2006). No presente estudo, a presença e a concentração de agrotóxicos estiveram associados a fatores edáficos como a granulometria, CTC e pH. Os níveis de resíduo de glifosato estiveram positivamente relacionados com o teor de argila, o pH e a saturação por bases (V%), e contrastam com os resultados de Da Silva et al. (2021), que observaram maiores valores de residuais de glifosato e de AMPA em solos com menor pH, mas maior teor de argila, no Paraná. Eles também observaram residuais em três fragmentos de mata nativa, enquanto no atual estudo não foram encontrados resíduos de glifosato nem de AMPA em nenhuma área de VN. No total, sete agrotóxicos foram detectados nas áreas de VN (Imidacloprida, Hexazinone, Mounon, Atrazina, Clomazone, Tebuconazole e Clorpirifos), mas a análise multivariada mostrou uma tendência de maiores residuais nas áreas agrícolas do que nas áreas de VN (Figura 14).

Os agrotóxicos passam por diversos processos durante sua aplicação nas lavouras, e estes vão determinar o destino dos agrotóxicos no meio ambiente (de

Melo et al., 2010; Gebler, 2004; Pierzynski et al., 2000; Silva et al., 2012). Dentre os principais processos envolvidos estão a deriva física pelo vento, a volatilização ocasionada pela perda por evapotranspiração, a adsorção por partículas do solo, sedimentos e as plantas, a absorção promovida pelas raízes e/ou ingestão pela fauna, a lixiviação através da translocação lateral e vertical no solo, e a erosão do solo pela ação da água ou do vento. Estes processos transportam os agrotóxicos a locais onde não foram utilizados, como corpos d'água, plantas ou animais não-alvo (Gebler, 2004). Três das áreas de VN próximas à cultivos agrícolas estavam em posição inferior na paisagem (Mangueirinha, Carambeí e Conquista), e, portanto, poderiam ter recebido residuais provenientes do escoamento superficial ou da erosão de solo ao longo do tempo. Contudo, ainda que não verificável, o mais provável é que os agrotóxicos encontrados nas áreas de VN sejam provenientes de deriva na época de aplicação, particularmente nas áreas onde a área de VN se encontra na mesma posição ou acima das áreas agrícolas vizinhas.

A degradação dos agrotóxicos ocorre por via fotoquímica (quebra da molécula pela luz solar, principalmente, dependente de intensidade e duração), microbiana (degradada pelos microrganismos, influenciada pelo pH, umidade, temperatura, MO e nutrientes do solo), química (processos como hidrólise, afetada pelo pH e fatores ambientais) e metabólica (transformação química ocasionada pelas plantas e a fauna, sendo determinada pela capacidade de absorção e a interação com os organismos) (de Melo et al., 2010; Gebler, 2004; Pierzynski et al., 2000; Silva et al., 2012). No trabalho de Riedo et al. (2021), solos sob manejo convencional e plantio direto apresentaram comportamento semelhante e tinham uma média de 17 agrotóxicos residuais diferentes. Entre esses estavam seis agrotóxicos avaliados no atual estudo (Atrazina, Diuron, Tebuconazole, Trifloxystrobina, Clorpirifós, Imidacloprida).

Estudos de residuais de agrotóxicos nos solos de sistemas agrícolas no Brasil são raros (Da Silva et al., 2021; Fernandes et al., 2020; Tang & Maggi, 2021), e grande parte das áreas agrícolas no país estão sob plantio direto (Bartz et al., 2024). Solos sob plantio direto ou outro sistema de manejo em que há um aumento de cobertura vegetal e de matéria orgânica adicionada ao solo, podem afetar a adsorção de herbicidas, mudando a distribuição do contaminante no solo (Correia et al., 2010). Segundo Van de Weerd et al. (1998), quando o herbicida for adsorvido nos coloides eles podem acompanhar o deslocamento, seja pelo processo de

lixiviação para camadas mais profundas ou pela erosão. Grupos funcionais fenólicos, hidroxílicos, carboxílicos e quinonas da matéria orgânica podem contribuir para a melhoria dos atributos químicos, potencializar a diversidade e atividade dos microrganismos (Zhang et al., 2013; Bolan et al., 2014; Gul et al., 2015), e a adsorção de agrotóxicos solo (Lehmann & Joseph. 2015; Lehmann et al., 2011).

Araujo et al. (2012), estudando a adsorção de diuron em diferentes frações minerais, mostraram uma baixa capacidade de adsorção do herbicida em pH 3,5 e 7,0. Dessa forma, os solos com baixo teor de matéria orgânica e sem a presença de cargas negativas, favorecem a lixiviação dos agrotóxicos bem como a contaminação de corpos d'água, enquanto as cargas positivas reduzem a adsorção dos agrotóxicos (Araujo et al., 2012). Contudo, a meia vida dos agrotóxicos pode variar dependendo da dose e frequência de aplicação. John e Shaike (2015), relataram meia vida mais longa do clorpirifos nos solos com altas doses e frequência de aplicação chegando a 4 anos, quando o normal seria de um a dois meses (John & Shaike, 2015). Estudando dois tipos de solo, Nascimento (2021), encontrou meia vida de clorpirifós de 16 dias em cambissolo, enquanto em neossolo o tempo foi menor (14 dias), após aplicação. Apesar de estar presente em baixas concentrações no atual estudo, residuais foram encontrados em todos os sistemas de uso em todos os locais, refletindo condições de aplicação contínua e também de transporte dessa molécula para as áreas de VN.

3.6.2 Mineralogia

Os minerais detectados nos difratogramas, na fração argila desses solos, (Figuras 7 e 8) são comuns em solos de clima subtropical e tropical (Kämpf et al., 2009; Weber et al., 2005), sendo a caulinita o argilo-mineral mais comum (De Almeida et al. 2018, Lima Neto et al. 2010). É típico de solos submetidos a intenso intemperismo, onde o clima e lixiviação removem ou alteram os argilominerais do tipo 2:1 mais comuns em solos com menor grau de intemperismo (Weber et al., 2005).

O pH do solo é de grande importância, pelo fato da caulinita ser um mineral com cargas dependentes de pH (Melo & Wypych, 2009). Em valores de pH acima de 3, esse mineral apresenta um predomínio de cargas negativas em relação às positivas, favorecendo a CTC (Melo & Wypych, 2009). Quanto mais cargas

negativas no mineral, maior a adsorção de poluentes como os metais (Zanello, 2016).

O quartzo, embora seja mais comum em frações mais grosseiras do solo, foi identificado em todos os solos dos locais analisados, pela sua resistência ao intemperismo (Meurer, 2008). Essa observação já foi verificada por outros autores, ao analisarem a fração argila dos solos (Carvalho et al. 2013; Melo et al. 1995; Meurer, 2008; Zanello, 2016). Esses minerais possuem importância em relação à textura do solo, já que não possuem nutrientes disponíveis para as plantas, apenas silício e alumínio (Meurer, 2008). Com a liberação de sílica na solução do solo, proveniente das partículas mais finas e reativas de quartzo (Silva et al. 2023), ocorre a inibição da formação de gibbsita (Resende et al. 2019), uma vez que a recombinação de óxidos favorece a neoformação de caulinita (Inda et al. 2024).

A ausência de goethita no solo de Conquista pode estar relacionada ao processo de formação do solo naquela região, pois ocorre em solos formados a partir de rochas com baixa concentração de ferro e ambientes oxidantes. Além de ser formada nas primeiras etapas do intemperismo dos minerais primários e se acumular em horizontes mais profundos, próximos da rocha (Cordeiro, 2016; Inda Jr, 2002). Outro fato da não detecção desse mineral, se deve a ele estar dividido em cristais de tamanho não detectado pelo raio X (Resende et al., 1987).

Em relação aos óxidos de ferro, como a hematita e a goethita, são minerais naturais e reativos amplamente presentes nos solos brasileiros. A adsorção de Fe^{2+} cria sítios reativos que contribuem para a redução de poluentes ambientais (Voelz et al. 2018). Em condições de maior concentração de Fe^{2+} e menor carga da área superficial com pH mais alto, há um aumento na formação de goethita (Voelz et al. 2018).

Geralmente solos de matas nativas possuem teores elevados de matéria orgânica e minerais que influenciam positivamente na intensidade dos picos das análises de difratometria de raio X (Negreiros et al., 2020). A maior intensidade do pico no difratograma, comparado ao solo de lavoura (SPD, AMM), pode ser atribuída à preservação dos minerais e nutrientes em ecossistemas florestais, assim como à degradação causada pela agricultura intensiva e sua interferência nas propriedades do solo. A melhor conservação dos atributos do solo, como a textura e estrutura são fundamentais para a interpretação dos dados de difratometria (Caten et al., 2012; Lima et al., 2011; Mattos et al., 2022).

A toxicidade de agrotóxicos diminuiu com o aumento do teor de matéria orgânica no solo (Bernardino et al., 2021), e a quantidade de argila do solo é um fator mais importante em relação ao tipo de argilomineral, por fornecer uma maior área superficial para as reações químicas. Portanto, o solo mais vulnerável a apresentar ecotoxicidade para os organismos edáficos é o Neossolo (menos argila), em comparação com o Latossolo (Bernardino et al., 2021).

3.6.3 Ensaio de preferência

Embora os ensaios de fuga/preferência sejam, algumas vezes, menos sensíveis do que os ensaios de reprodução, eles são mais sensíveis do que os testes de sobrevivência, tornando-os uma ferramenta de triagem inicial útil para avaliar o impacto ecológico dos agrotóxicos (De Silva & Van Gestel, 2009; Garcia et al., 2008). Efeitos subletais, como mudanças no comportamento, podem indicar riscos potenciais para o ecossistema solo (De Silva & Van Gestel, 2009; Soares et al., 2020). Além disso, fornecem uma resposta valiosa para o comportamento real dos contaminantes e também para comparar a função do habitat nos solos agrícolas (Marques et al., 2009).

No ensaio de preferência, as minhocas da espécie *E. andrei* mostraram comportamentos diferentes em relação aos solos. Apenas em Mangueirinha as minhocas preferiram o solo de VN, enquanto no Cerrado houve preferência para a AMM e em Carambeí para as áreas de SPD e AMM em comparação com a VN. As preferências podem ser atribuídas à adaptação dessas minhocas a ambientes alterados pelo homem, onde o pH, a textura do solo e a disponibilidade de nutrientes são frequentemente alteradas pelas atividades agrícolas incluindo a adição de matéria orgânica, adubos e cal ou gesso agrícola (Martin et al., 2024; Mincarelli et al., 2019). Essa espécie é utilizada como bioindicadora em ensaios ecotoxicológicos para evidenciar a qualidade do solo e a contaminação por agrotóxicos (Martin et al., 2024; Pélosi et al., 2013), ainda que os solos tropicais naturais mostram variações na toxicidade percebida (Bandeira et al., 2020; Daam et al., 2020). Claramente, essa espécie se beneficia de solos alterados antropicamente, indicando uma relação complexa entre a atividade humana e a ecologia do solo.

Normalmente os solos naturais com vegetação nativa possuem maiores teores de matéria orgânica sendo mais adequados para a sobrevivência e

reprodução de espécies epigeicas como *E. andrei* (Jorge-Escudero et al., 2024; Kim et al., 2015). Contudo, Hund-Rinke e Wiechering (2001) testaram seis solos, e não encontraram nenhuma preferência, concluindo que o comportamento de evitação de minhocas foi principalmente motivado por poluentes e não pelo tipo de solo. Em solos tratados com abamectina *E. andrei* evitou o solo artificial contaminado, mas não demonstrou fuga significativa em solos naturais, possivelmente devido a concentrações mais baixas de agrotóxicos nestes últimos. Isso destaca a importância de considerar o tipo de solo e a concentração de agrotóxicos em avaliações ecotoxicológicas (Edna, 2012; Nunes & Espíndola, 2012).

Ao comparar dois solos cultivados e o solo artificial, Marques et al. (2009) observaram preferência para o solo cultivado, atribuída ao maior teor de matéria orgânica e argila/silte no solo natural, o que pode fornecer um habitat mais adequado para as minhocas (Marques et al., 2009). Outro estudo não encontrou diferença significativa na distribuição de *E. andrei* entre solos artificiais e naturais quando expostos a agrotóxicos, sugerindo que o tipo de solo por si só não influenciou sua distribuição na ausência de contaminantes (De Silva & Van Gestel, 2009).

Natal-da-Luz et al. (2008) evidenciaram uma maior evitação de *E. andrei* em textura mais fina pelas minhocas, indicando que a textura influencia o comportamento de evitação em todos os níveis de matéria orgânica, mas principalmente em solos com menos matéria orgânica. Considerando estes resultados, há uma preocupação em utilizar solos contaminados comparando com os solos artificiais em ensaios de fuga, por exemplo, o solo contaminado possui uma textura mais grossa em relação ao solo artificial (textura mais fina), permitindo encontrar mais minhocas no solo contaminado, se a contaminação não for muito elevada (Natal-da-Luz et al., 2008). No entanto, Jänsch et al. (2005) relataram que solos muito argilosos e muito arenosos influenciam negativamente na reprodução de minhocas.

3.6.4 Ensaio de sobrevivência e reprodução

As características do solo têm grande influência no destino ambiental e na biodisponibilidade dos agrotóxicos (Spadotto et al., 2004) e, portanto, é preferível ensaios com solos naturais para melhor compreensão das possibilidades de

contaminação nas populações e gerações seguintes a na cadeia alimentar em ambientes reais. Após a aplicação, alguns resíduos de agrotóxicos podem persistir no solo, levando a alto risco de exposição dos organismos do solo ao produto. Entre eles, as minhocas podem estar em contato direto e ingerir as partículas do solo contaminado (De Sousa e De Andréa, 2011). Portanto, é sumamente importante conhecer a disponibilidade ou retenção dos produtos no solo, em virtude da absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade dos produtos químicos serem altamente dependentes da via de exposição dos organismos (contato, ingestão) (Fu et al., 2013; Aderjan et al., 2023).

Antes das minhocas *P. corethrurus* morrerem no SAT, observou-se comportamento de diapausa em alguns solos, incluindo a vegetação nativa, no SPD e no SAT, mesmo seguindo todas as condições de ensaio da ISO. Esse comportamento poderia ser causado por baixa umidade do solo (Chuang et al., 2004; Guerra et al., 1994), mas no atual ensaio o solo foi sempre mantido a 60% da capacidade de retenção de água. Baixa reprodução também pode ser causada por baixa umidade do solo (Zhang et al., 2008). Porém, a sobrevivência e reprodução de *P. corethrurus* também dependem do tipo de solo, temperatura e diversas outras características do solo (Fragoso & Lozano, 1992). Nas situações observadas no atual experimento, a reprodução de *Pontoscolex* esteve positivamente associada a maior pH, maiores teores de argila e silte, e maiores valores de C e N nas frações do solo.

P. corethrurus se alimenta de solo, e como sua atividade alimentar gera coprólitos compactados (Alegre et al., 1996; Blanchart et al., 1997), estes podem resultar na formação de uma camada lamacenta contínua (Fragoso & Lozano, 1992). Esse efeito foi observado nos solos de AMM de Lucas do Rio Verde e Panambi, mesmo com umidade de 50% da capacidade de retenção de água conforme determina a ISO (2012) e normativa ABNT (2011).

Ao comparar quatro espécies, Callahan et al. (1994) relataram sensibilidade similar de *Eisenia* e *P. excavatus*, enquanto De Silva et al. (2010), encontraram maior sensibilidade de *P. excavatus* para clorpirifós, carbofurano e mancozeb quando comparada com *E. andrei*. Em condições de clima tropical e subtropical *P. excavatus* parece ser mais representativa do que as *Eisenia* spp. Este estudo, bem como dados da literatura (Maboeta et al., 1999; Reinecke et al., 2001; An & Lee, 2008) mostram que *P. excavatus* pode ser usada em ensaios de ecotoxicidade de

minhocas como uma espécie de teste padrão para solos tropicais e subtropicais, especialmente devido à sua preferência por temperaturas em torno de 25°C (De Siva et al., 2010). Como foi visto neste estudo houve uma maior reprodução para *P. excavatus* em comparação *E. andrei*.

Os agrotóxicos tem comportamento diferente em solos tropicais e subtropicais, porque as variáveis físico-químicas que afetam os processos bióticos são diferentes (Laabs et al., 2002; Paraíba et al., 2003). Aspectos como a alta temperatura e umidade, favorecem a degradação e a volatilização dos agrotóxicos no solo (Klein et al., 1989; Tang & Maggi, 2021). Por outro lado, essas mesmas condições, podem aumentar a toxicidade de alguns agrotóxicos, aumentando o contato com a pele da fauna, podendo ser absorvidos mais rapidamente (Tang & Maggi, 2021).

Os achados de De Silva et al. (2009) indicam que os efeitos subletais dos agrotóxicos, como alterações na reprodução e no crescimento, apresentam variações inconsistentes em função da temperatura e do tipo de solo. Os dados obtidos em condições temperadas não são suficientes para prever com precisão os impactos dos agrotóxicos em solos tropicais e subtropicais, mesmo quando analisados dentro da mesma espécie (De Silva, 2009; De Silva et al., 2009; Garcia et al., 2008; Helling et al., 2000; Römbke et al., 2007b). Sugere-se que a avaliação de risco ambiental em regiões tropicais seja realizada considerando espécies de minhocas ecologicamente representativas desses ambientes, ao invés de utilizar exclusivamente as *Eisenia* spp., comumente adotadas como modelo padrão. Assim, se propõe a utilização de *P. excavatus* (De Silva et al., 2010), por ter melhor adaptabilidade, desenvolvimento e reprodução nos solos tropicais.

Ao manusear as minhocas aos 14 dias para pesagem e observações de comportamento, uma *P. excavatus* em VN de Carambeí foi partida ao meio, devido ao seu tamanho. Contudo, aos 28 dias, as duas partes que haviam se partido, ainda estavam se movimentando. É possível que essa seção tenha se regenerado, considerando os resultados de Rajagopalan et al. (2024) sobre a regeneração dessa espécie, que é independente do clitelo, mas funciona melhor na parte anterior (recrescimento da porção da cabeça) do que para a parte posterior do corpo (recrescimento da porção da cauda).

3.6.5 Fracionamento de matéria orgânica

A matéria orgânica do solo está vinculada a partículas de diferentes dimensões, as quais apresentam variações na composição mineralógica, na estrutura e na função. Conforme Nciizah & Wakindiki, (2012) e Zinn et al. (2005) os solos arenosos demonstram uma tendência de menores estoques de matéria orgânica em relação aos solos argilosos. Os solos argilosos possuem, em sua grande maioria, maiores áreas superficiais específicas e quantidade de cargas (CTC), possibilitando maiores interações organominerais e menores taxas de mineralização (Dick et al., 2009; Irizar et al., 2010).

Na maioria dos solos, o teor e conteúdo de argila atua principalmente na estabilização da matéria orgânica do solo, e a concentração de carbono no solo geralmente está relacionada com o conteúdo de argila (Barbosa, 2020). Os agregados por sua vez são afetados pela textura do solo. Assim, solos com maior teor de argila favorecem a agregação (Silva et al., 2014; Zinn et al., 2005). A textura do solo também tem importância na estabilização da matéria orgânica do solo; geralmente, a matéria orgânica associada à fração argila é mais recalcitrante do que aquela vinculada à fração areia, devido à maior resistência dos agregados do solo à ruptura física (Denef et al., 2004; Jindaluang et al., 2013; Kaiser et al., 2002).

Estudos demonstram que a adsorção de carbono orgânico em óxidos de Fe e Al é maior do que nos minerais filossilicatos (Kahle et al., 2004; Kaiser et al., 1997). Todos os solos desse estudo apresentaram ao menos um dos óxidos, porém, não foram detectadas diferenças no C e N nas frações. Os solos brasileiros apresentam na sua maioria os óxidos, e estes são influenciados pelo pH, principalmente. Os solos usados no atual ensaio eram mais ácidos, apresentando um predomínio de cargas positivas, permitindo a adsorção entre os grupos OH da superfície dos minerais e os radicais orgânicos (Barbosa, 2020).

A proteção física da matéria orgânica por meio da agregação está, em grande parte, relacionada à interação organomineral. Quanto mais intensa for essa interação, maior a probabilidade de formação de microagregados, cuja estabilidade contribui para a proteção da matéria orgânica do solo contra a decomposição microbiana (Bayer et al., 2011). As mesmas condições que favorecem a interação organomineral favorecem a formação de microagregados (Dick et al., 2009; Silva et al., 2014).

Dick et al. (2009) também estabelecem a matéria orgânica dissolvida como parte do fracionamento físico da MOS. É caracterizada por ser a fração solúvel, possui mobilidade no solo e uma alta reatividade em relação aos íons e moléculas do meio. Os sítios hidrofóbicos presentes na matéria orgânica dissolvida interagem com agrotóxicos, sorvendo estes xenobióticos, porém quando apresenta elevada mobilidade, pode conduzir estes para lençóis freáticos e cursos de água (Dick et al., 2009; Melo & Alleoni, 2019). Entretanto, baixos teores de C na MOS particulada indica uma menor adição de resíduos no solo, o que implica na oxidação da MOS, promovendo a degradação do solo (Assmann et al., 2014). Esse fracionamento é considerado um compartimento com rápida ciclagem, sendo utilizado como indicador de diferentes usos e manejos do solo (Six et al., 2002).

3.6.6 Relação entre os atributos do solo e os residuais de agrotóxicos e as minhocas

As propriedades físico-químicas do solo desempenham um papel essencial na interação, principalmente, com herbicidas, influenciando diretamente sua retenção e transformação. Entre essas propriedades, destacam-se a fração mineral argila, os óxidos e hidróxidos metálicos e a fração de matéria orgânica. Esses componentes regulam a disponibilidade dos herbicidas no ambiente, afetando sua mobilidade, persistência e potencial impacto sobre os organismos do solo (Lavoretti, 1996).

A análise dos componentes principais (PCA) mostrou que os agrotóxicos estão relacionados com as condições edáficas. A textura do solo e outras propriedades influenciam a exposição de agrotóxicos (Amorim et al., 2005, Alister et al., 2011; Mcginley et al., 2022), e sua toxicidade às minhocas, mas essa influência pode não ser universal para todas as condições do solo, e a relação é complexa e dependente de múltiplos fatores. Por exemplo, a natureza da matéria orgânica do solo afeta a sorção de agrotóxicos, estabelecendo uma conexão entre a presença de agrotóxicos e a degradação do solo, o que sugere que as mesmas condições podem realmente se correlacionar com a presença de agrotóxicos em alguns contextos (Ahmad et al., 2001).

Portanto, a evidência empírica sugere que existe uma relação entre agrotóxicos e as condições do solo quando considerados através da lente de análises multivariadas e interpretações das propriedades do solo em diferentes

cenários de cultivo. A intensificação das práticas agrícolas, incluindo o uso de agroquímicos, o pastoreio de gado, a rotação de culturas, a substituição da vegetação natural e também sistemas de irrigação, altera significativamente as características estruturais, nutricionais e biológicas do solo (Ernst & Emmerling, 2009). Essas modificações podem comprometer a funcionalidade do solo e reduzir a oferta de serviços ecossistêmicos essenciais, como a regulação do ciclo da água, o armazenamento de carbono e a manutenção da biodiversidade edáfica (Johnston et al., 2018).

As minhocas, por meio de seus deslocamentos e do consumo de solo e/ou serapilheira contaminados, entram em contato direto com poluentes presentes no solo, seja por deposição atmosférica, aplicação agrícola ou processos naturais de contaminação (Spadotto et al., 2004). Esses poluentes podem permanecer adsorvidos nas partículas minerais, na matéria orgânica ou dissolvidos na solução do solo, tornando-se disponíveis para absorção pelas minhocas (Spadotto et al., 2004). Além disso, esses organismos podem ser expostos aos contaminantes por meio do contato direto e da absorção através da cutícula e poros (Rodríguez-Castellanos & Sanchez-Hernandez, 2007; Vijver et al., 2003). Como consequência dessa exposição, as minhocas podem sofrer intoxicação, morrer ou, em alguns casos, sobreviver e incorporar os poluentes em seus tecidos, resultando em processos de bioacumulação, afetando novas gerações (Curry, 2004).

Eijsackers (2004) e Lowe & Butt (2007) ressaltam a importância de avaliar a toxicidade de poluentes em minhocas pertencentes a diferentes ecótipos, pois cada ecótipo desempenha papéis distintos na estrutura e funcionamento do solo. A compreensão dessas variações permite uma avaliação ecotoxicológica mais precisa, contribuindo para a preservação da biodiversidade edáfica e para o desenvolvimento de estratégias de mitigação mais eficazes.

Quanto maior a adsorção do composto ao substrato, menor é a mortalidade das minhocas (Ellis et al., 2007). Por outro lado, as minhocas influenciam os processos de dissipação de vários poluentes no solo (Farenhorst et al. 2000, Singer et al. 2001, Andréa, 2010). A biodisponibilidade é um fator essencial no controle da assimilação, não apenas de compostos nutrientes, mas também de contaminantes por minhocas em estudos ecotoxicológicos (Van Gestel & Weeks, 2004). Portanto, a biodisponibilidade deve ser avaliada por meio da determinação da concentração do

poluente tanto no solo quanto nas minhocas, em momentos distintos do experimento, abrangendo o início e o final dos ensaios (Andréa, 2010).

3.7 CONCLUSÕES

Apesar dos progressos visíveis na ecotoxicologia terrestre na região tropical, é evidente que mais pesquisas precisam ser realizadas para fornecer resultados mais realistas sobre os riscos de contaminantes (principalmente agrotóxicos) nos solos tropicais (Chelinho et al., 2012; Daam et al., 2019; Eijsackers et al., 2014; Niemeyer et al., 2017; Niva et al., 2016). Neste contexto, é imperativo que os dados sejam gerados em diferentes solos, a fim de melhor investigar a proporção e o impacto dos contaminantes, e visando melhor refletir as condições regionais (pedologia, climatologia). Não houve influência nem em relação à mineralogia do solo e as frações da matéria orgânica nos valores residuais dos agrotóxicos.

Os níveis residuais dos agrotóxicos no solo estiveram relacionados com os atributos químicos e com a granulometria do solo, mas não foram iguais para todos os agrotóxicos avaliados. Além disso, observou-se relação positiva e negativa entre diferentes agrotóxicos e a reprodução e sobrevivência das minhocas. Em particular, *Pontoscolex* esteve relacionada com os residuais de três agrotóxicos e o glifosato esteve negativamente associado à reprodução de todas as minhocas. *P. excavatus* mostraram uma boa reprodução nos solos estudados, gerando mais juvenis em comparação a espécie padrão *E. andrei*, comprovando sua utilidade como um substituto para a espécie padrão em condições tropicais. Inclusive, deve-se explorar a possibilidade de reduzir a duração do ensaio de 56 dias para um tempo menor (possivelmente 42 dias), considerando a alta reprodução dessa espécie e o grande número de juvenis gerados. Não obstante, formas mais eficazes de quantificar os casulos dessa espécie são necessários.

3.8 REFERÊNCIAS

ABNT. (2011). Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 17512-1/2011: 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.

- Aderjan, E., Wagenhoff, E., Kandeler, E., & Moser, T. (2023). Natural soils in OECD 222 testing—influence of soil water and soil properties on earthworm reproduction toxicity of carbendazim. *Ecotoxicology*, 32(4), 403-415.
- Ahmad, R., Kookana, R. S., Alston, A. M., & Skjemstad, J. O. (2001). The nature of soil organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon chemistry as determined by ^{13}C CPMAS NMR spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, 35(5), 878-884.
- Alegre, J. C., Pashanasi, B., & Lavelle, P. (1996). Dynamics of soil physical properties in Amazonian agroecosystems inoculated with earthworms. *Soil Science Society of America Journal*, 60(5), 1522-1529.
- Alister, C., Araya, M., & Kogan, M. (2011). Effects of physicochemical soil properties of five agricultural soils on herbicide soil adsorption and leaching. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 38(2), 243-251.
- Alletto, L., Coquet, Y., Benoit, P., Heddadj, D., & Barriuso, E. (2010). Tillage management effects on pesticide fate in soils. A review. *Agronomy for sustainable development*, 30(2), 367-400.
- Amorim, M. J., Römbke, J., & Soares, A. M. (2005). Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of benomyl, carbendazim, phenmedipham and different soil types. *Chemosphere*, 59(4), 501-510.
- Amossé, J., Bart, S., Péry, A. R., & Pelosi, C. (2018). Short-term effects of two fungicides on enchytraeid and earthworm communities under field conditions. *Ecotoxicology*, 27, 300-312.
- An, Y. J., & Lee, W. M. (2008). Comparative and combined toxicities of toluene and methyl tert-butyl ether to an Asian earthworm *Perionyx excavatus*. *Chemosphere*, 71(3), 407-411.
- Andrade, C., Chiron, F., & Julliard, R. (2012). Improving the selection of focal species exposed to pesticides to support ecological risk assessments. *Ecotoxicology*, 21, 2430-2440.
- Andréa, M. M. (2010). Uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. *Acta zoológica mexicana*, 26(spe2), 95-107.
- Araujo, I. C. L., Melo, V. D. F., Abate, G., & Dolatto, R. G. (2012). Sorção de diuron em minerais da fração argila. *Química nova*, 35, 1312-1317.

- Assmann, J. M., Anghinoni, I., Martins, A. P., de Andrade, S. E. V. G., Cecagno, D., Carlos, F. S., & de Faccio Carvalho, P. C. (2014). Soil carbon and nitrogen stocks and fractions in a long-term integrated crop–livestock system under no-tillage in southern Brazil. *Agriculture, ecosystems & environment*, 190, 52-59.
- Bandeira, F., Alves, P., Hennig, T., Toniolo, T., Natal-Da-Luz, T., & Baretta, D. (2020). Effect of temperature on the toxicity of imidacloprid to *Eisenia andrei* and *Folsomia candida* in tropical soils.. *Environmental pollution*, 267, 115565 . <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115565>.
- Barbosa, C. G. R. D. N. (2020). Frações da matéria orgânica e estoques de carbono em perfis de solos em pedoformas de região semiárida. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, UFPB, Areia – PB, 89p.
- Barros, G. S. C., Castro, N. R., Machado, G. C., Almeida, F. M. S., Almeida, A. F., Fachinello, A. L. (2024). Boletim mercado de trabalho do agronegócio Brasileiro. Acesso em 13 de mar de 2025. Disponível em:<<https://cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/01%20Boletim%20%2B%20Sum%C3%A1rio%20-%20Mercado%20de%20Trabalho%20do%20Agroneg%C3%B3cio%20-%204T2024.pdf>>
- Bartz, M. L. C., Dudas, R. T., Demetrio, W. C., & Brown, G. G. (2024). Earthworms as soil health indicators in no-tillage agroecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 121, 103605.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of statistical software*, 67, 1-48.
- Bayer, C., Amado, T. J. C., Tornquist, C. G., Cerri, C. E. C., Dieckow, J., Zanatta, J. A., ... & Carvalho, P. D. F. (2011). Estabilização do carbono no solo e mitigação das emissões de gases de efeito estufa na agricultura conservacionista. *Tópicos em ciência do solo*, 7(5), 55-118.
- Bernardino. M. M., Alves. P. R. L., de Santo. F. B., Niemeyer. J. C., & Leal. R. M. P. (2021). Ecotoxicity of imidacloprid to soil invertebrates in two tropical soils with contrasting texture. *Environmental Science and Pollution Research*. 28. 27655-27665.
- Blanchart, E., Lavelle, P., Braudeau, E., Le Bissonnais, Y., & Valentin, C. (1997). Regulation of soil structure by geophagous earthworm activities in humid savannas of Côte d'Ivoire. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(3-4), 431-439.

- Bolan, N., Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Kumpiene, J., Park, J., Makino, T., ... & Scheckel, K. (2014). Remediation of heavy metal (loid) s contaminated soils—to mobilize or to immobilize?. *Journal of hazardous materials*, 266, 141-166.
- Briceño, G., Palma, G., & Durán, N. (2007). Influence of organic amendment on the biodegradation and movement of pesticides. *Critical reviews in environmental science and technology*, 37(3), 233-271.
- Briones, M. J. I., & Schmidt, O. (2017). Conventional tillage decreases the abundance and biomass of earthworms and alters their community structure in a global meta analysis. *Global change biology*, 23(10), 4396-4419.
- Brown, G. G.; James, S. W. (2007). Ecologia, biodiversidade e biogeografia das minhocas no Brasil. In: BROWN, G. G., FRAGOSO, C. (Ed.). *Minhocas na América Latina: biodiversidade e ecologia*. Londrina: Embrapa Soja, p. 297-381.
- Buch. A. C.. Brown. G. G.. Niva. C. C.. Sautter. K. D.. & Lourençato. L. F. (2011). Life cycle of *Pontoscolex corethrurus* () in tropical artificial soil. *Pedobiologia*. 54. S19-S25.
- Buch. A. C.. Brown. G. G.. Niva. C. C.. Sautter. K. D.. & Sousa. J. P. (2013). Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller. 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché. 1972). *Applied soil ecology*. 69. 32-38.
- Buch. A. C.; Brown. G. G.. Fernandes. C. M. E.. Lourençato. L. F.. & Silva-filho. E. V. (2017). Science of the Total Environment Ecotoxicology of mercury in tropical forest soils: Impact on earthworms. *Science of the Total Environment*. 589. 222–231. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.150>
- Bussian. B.. Kördel. W.. Kuhnt. G.. Ohnesorge. S.. & Weinfurter. K. (2005). Das ReFeSol-Projekt: Grundlagen eines deutschen Referenzbodensystems
- Callahan, C. A., Skirazi, M. A., & Neuhauser, E. F. (1994). Comparative toxicity of chemicals to earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 13(2), 291-298.
- Carneiro, F. F., Rigotto, R. M., Augusto, L. G. D. S., Friedrich, K., & Búrigo, A. C. (2015). Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.
- Carvalho, V. S. D., Ribeiro, M. R., Souza Júnior, V. S. D., & Brilhante, S. A. (2013). Caracterização de Espodossolos dos Estados da Paraíba e do Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37, 1454-1463.

- Caten, A., Minella, J. P., & Madruga, P. R. D. A. (2012). Desintensificação do uso da terra e sua relação com a erosão do solo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 16, 1006-1014.
- Chelinho. S., Domene. X., Campana. P., Natal da Luz. T., Scheffczyk. A., Römbke. J., ... & Sousa. J. P. (2011). Improving ecological risk assessment in the Mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30(5). 1050-1058.
- Chelinho. S., Lopes. I., Natal da Luz. T., Domene. X., Tenorio Nunes. M. E., Espíndola. E. L., ... & Sousa. J. P. (2012). Integrated ecological risk assessment of pesticides in tropical ecosystems: A case study with carbofuran in Brazil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 31(2). 437-445.
- Chelinho. S., Domene. X., Campana. P., Andrés. P., Römbke. J., & Sousa. J. P. (2014). Toxicity of phenmedipham and carbendazim to *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in Mediterranean soils. *Journal of soils and sediments*. 14. 584-599.
- Chiaia-Hernandez, A. C., Keller, A., Wächter, D., Steinlin, C., Camenzuli, L., Hollender, J., & Krauss, M. (2017). Long-term persistence of pesticides and TPs in archived agricultural soil samples and comparison with pesticide application. *Environmental Science & Technology*, 51(18), 10642-10651.
- Christensen. B. T. (1992). Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. *Advances in Soil Science: Volume 20*. 1-90.
- Chuang, S. C., Lee, H., & Chen, J. H. (2004). Diurnal rhythm and effect of temperature on oxygen consumption in earthworms, *Amyntas gracilis* and *Pontoscolex corethrurus*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 301(9), 737-744.
- Clasen. B., Storck. T. R., Schneider. S. I., & Tiecher. T. L. (2023). Challenges and perspectives in terrestrial ecotoxicological assessment methodologies. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 19(2). 298-299.
- CONAMA. (2009). Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2017/09/resolucao-conama-420-2009-gerenciamento-de-acrs.pdf>>

- Cordeiro, P. R. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Setor de ciências da terra curso de geologia. Curitiba-PR, UFPR. 36p.
- Correia, F. V., Langenbach, T., & Campos, T. M. (2010). Avaliação do transporte de atrazina em solos sob diferentes condições de manejo agrícola. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34, 525-534.
- Curry, J. P. (2004). Factors affecting the abundance of earthworms in soils. In *Earthworm ecology* (pp. 91-113). CRC press
- Daam, M., Garcia, M., Scheffczyk, A., & Römbke, J. (2020). Acute and chronic toxicity of the fungicide carbendazim to the earthworm *Eisenia fetida* under tropical versus temperate laboratory conditions.. *Chemosphere*, 255, 126871 . <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126871>.
- Daam. M. A.. Chelinho. S.. Niemeyer. J. C.. Owojori. O. J.. De Silva. P. M. C.. Sousa. J. P.. ... & Römbke. J. (2019). Environmental risk assessment of pesticides in tropical terrestrial ecosystems: test procedures. current status and future perspectives. *Ecotoxicology and environmental safety*. 181. 534-547.
- da Silva, K. A., Nicola, V. B., Dudas, R. T., Demetrio, W. C., Maia, L. D. S., Cunha, L., ... & de Oliveira, C. M. R. (2021). Pesticides in a case study on no-tillage farming systems and surrounding forest patches in Brazil. *Scientific reports*, 11(1), 9839.
- de Almeida, J. A., Ribeiro, C. F., de Oliveira, M. V. R., & Sequinatto, L. (2018). Mineralogia da argila e propriedades químicas de solos do Planalto Norte Catarinense. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 17(2), 267-277.
- De Melo, R. F., Brito, L. D. L., Giongo, V., Angelotti, F., & Miguel, A. (2010). Agrotóxicos e seus impactos no ambiente. In: Brito, L. T. de L.; Melo, R. F. de; Giongo, V. (Ed.). *Impactos ambientais causados pela agricultura no Semiárido brasileiro*. Petrolina: Embrapa Semiárido, p. 101-103.
- De Silva P. M. C. S., *Pesticide effects on earthworms: a tropical perspective*, Ph.D. thesis, 2009, Department of Ecological Science, VU University, Amsterdam, The Netherlands.
- De Silva, P. M. C., & van Gestel, C. A. (2009). Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. *Chemosphere*, 77(11), 1609-1613.
- De Silva, P. M. C., Pathiratne, A., & van Gestel, C. A. (2009). Influence of temperature and soil type on the toxicity of three pesticides to *Eisenia andrei*. *Chemosphere*, 76(10), 1410-1415.

- De Silva. P. M. C., Pathiratne. A., & van Gestel. C. A. (2010). Toxicity of chlorpyrifos. carbofuran. mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. *Applied Soil Ecology*. 44(1). 56-60.
- De Sousa, A. P. A., & De Andréa, M. M. (2011). Earthworm (*Eisenia andrei*) avoidance of soils treated with cypermethrin. *Sensors*, 11(12), 11056-11063.
- Decaëns, T., Brown, G. G., Cameron, E. K., Csuzdi, C., Eisenhauer, N., Gerard, S., Goulpeau, A., Hedde, M., James, S. W., Lapied, E., Maggia, M. E., Marchán, D. F., Mathieu, J., Philips, H. R. P., & Marcon, E. (2024). A can of worms: estimating the global number of earthworm species. *bioRxiv*, 2024-09. <https://doi.org/10.1101/2024.09.08.611896>.
- Denef, K., Six, J., Merckx, R., & Paustian, K. (2004). Carbon sequestration in microaggregates of no tillage soils with different clay mineralogy. *Soil Science Society of America Journal*, 68(6), 1935-1944.
- Dick, D. P., Martinazzo, R., Knicker, H., & Almeida, P. S. G. (2010). Matéria orgânica em quatro tipos de solos brasileiros: composição química e sorção de atrazina. *Química Nova*, 33, 14-19.
- Dick, D.P; Novothy, E.H; Dieckow, J.; Bayer, C. (2009). Química da matéria orgânica do solo, SBCS, Viçosa. In: Química e Mineralogia do Solo, Parte II. Melo V. de F. e Alleoni, L.R. F.; (Eds.), Viçosa, MG, 2009 p. 1 – 67.
- Dray S, Dufour A (2007). “The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists.” *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1–20. doi:10.18637/jss.v022.i04.
- Dudas, R. T. (2024). Earthworm biodiversity and their role as bioindicators in different land use systems and brazilian biomes. Tese (doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná.
- Edna, M. (2012). Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. .
- Edwards. C. A. (2004). The importance of earthworms as key representatives of the soil fauna. *Earthworm ecology*. 2. 3-11.
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR). Ockleford. C.. Adriaanse. P.. Berny. P.. Brock. T.. Duquesne. S.. ... & Rob. S. (2017). Scientific opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection

products for in soil organisms. Efsa Journal. 15(2). e04690. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4690>.

Eijsackers, H. 2004. Earthworms in environmental research. In: C.A. Edwards (Ed.). Earthworm ecology. 2nd Ed. CRC Press, Boca Raton. P. 321–342.

Eijsackers. H., Swartjes. F. A., Van Rensburg. L., & Maboeta. M. S. (2014). The need for attuned soil quality risk assessment for non-Western humans and ecosystems. exemplified by mining areas in South Africa. Environmental science & policy. 44. 174-180.

Ellis, S. R., Hodson, M. E., & Wege, P. (2007). The influence of different artificial soil types on the acute toxicity of carbendazim to the earthworm *Eisenia fetida* in laboratory toxicity tests. European Journal of Soil Biology, 43, S239-S245.

El-Saeid, M. H., BaQais, A., & Alshabanat, M. (2022). Study of the photocatalytic degradation of highly abundant pesticides in agricultural soils. Molecules, 27(3), 634.

Embrapa. (2022). Síntese de Ocupação e Uso das Terras no Brasil. Embrapa. Acesso em: 13 de jan de 2025. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/car/sintese>>

Ernst, G., & Emmerling, C. (2009). Impact of five different tillage systems on soil organic carbon content and the density, biomass, and community composition of earthworms after a ten year period. European Journal of Soil Biology, 45(3), 247-251.

Farenhorst, A., Topp, E., Bowman, B. T., & Tomlin, A. D. (2000). Earthworms and the dissipation and distribution of atrazine in the soil profile. Soil Biology and Biochemistry, 32(1), 23-33.

Fernandes, C., Volcão, L., Ramires, P., Moura, R., & Da Silva Júnior, F. (2020). Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: a critical review.. Environmental science. Processes & impacts. <https://doi.org/10.1039/c9em00433e>.

Fragoso, C., & Lozano, N. (1992). Resource allocation strategies imposed by caudal amputation and soil moisture in the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus*. Soil Biology and Biochemistry, 24(12), 1237-1240.

Fu. C., Liu. T., Li. L., Liu. H., Chen. D., & Tang. F. (2013). The absorption. distribution. excretion and toxicity of mesoporous silica nanoparticles in mice following different exposure routes. Biomaterials. 34(10). 2565-2575.

Garcia, M., Römbke, J., De Brito, M., & Scheffczyk, A. (2008). Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed

under temperate and tropical conditions.. Environmental pollution, 153 2, 450-6 .
<https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2007.08.007>.

Gebler, L. (2004). Banco de informações ambientais e toxicológicas dos agrotóxicos utilizados até a safra 2002/2003 na Produção Integrada de Maças no Brasil.

Gee, G. W., & Bauder, J. W. (1986). Particle size analysis. Methods of soil analysis: Part 1 Physical and mineralogical methods, 5, 383-411.

Gee, G. W., & Or, D. (2002). 2.4 Particle size analysis. Methods of soil analysis: Part 4 physical methods, 5, 255-293.

Ghafoor, A., Jarvis, N., Thierfelder, T., & Stenström, J. (2011). Measurements and modeling of pesticide persistence in soil at the catchment scale. The Science of the total environment, 409 10, 1900-8 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.01.049>.

Guerra, R. T. (1994). Earthworm activity in forest and savanna soils near Boa Vista, Roraima, Brazil. Acta Amazonica, 24(3-4), 303-307.

Gul, S., Whalen, J. K., Thomas, B. W., Sachdeva, V., & Deng, H. (2015). Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: mechanisms and future directions. Agriculture, ecosystems & environment, 206, 46-59.

Helling, B., Reinecke, S. A., & Reinecke, A. J. (2000). Effects of the fungicide copper oxychloride on the growth and reproduction of *Eisenia fetida* (Oligochaeta). Ecotoxicology and environmental safety, 46(1), 108-116.

Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences, 50(3), 346-363.

Hund-Rinke, K., & Wiechering, H. (2001). Earthworm avoidance test for soil assessments: an alternative for acute and reproduction tests. Journal of Soils and Sediments, 1, 15-20.

IBAMA. (2009). Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxico e afins. Brasília, DF, Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/avaliacao/2017/2017-07-25-manual_de_procedimento_agrotoxicos_ibama_2009-11.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2025.

IBAMA. (2021). Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos. Acesso em: 02 de mar de 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>

- Ikeda, H., Callaham Jr, M. A., Shefferson, R. P., Wenk, E. S., & Fragoso, C. (2020). A comparison of latitudinal species diversity patterns between riverine and terrestrial earthworms from the North American temperate zone. *Journal of Biogeography*, 47(6), 1373-1382.
- Inda Jr, A.V. (2002). Caracterização da goethita e hematita em solos poligenéticos, UFRGS, Porto Alegre.
- Inda, A. V., Curcio, G. R., Gomes, J. B. V., Silva, S., Backes, J., Bizzi, N., Nilton, C. (2024). Mineralogia da fração argila e suas relações com o comportamento dos solos da 1ª Reunião de correlação e classificação de solos e vegetação fluvial (RCCSVF).
- Instituto Agrônomo (IAC) (2001). Método de análise química para avaliação de solos tropicais. Campinas. 2001. Disponível em: <https://lab.iac.sp.gov.br/>
- Irizar, A., Andriulo, A., Cosentino, D., & Améndola, C. (2010). Comparación de dos métodos de fraccionamiento físico de la materia orgánica del suelo. *Ciencia del suelo*, 28(1), 115-121.
- ISO. (2012). International Organization for Standardization. ISO 11268-2: Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 2: Determination of effects on reproduction to *Eisenia fetida* / *Eisenia andrei*. Geneve.
- James, S. W.; Bartz, M. L. C.; Stanton, D. W. G.; Conrado, A. C.; Dupont, L.; Taheri, S.; Silva, E.; Cunha, L.; Brown, G. G. (2019). A neotype for *Pontoscolex corethrurus* (Clitellata). *Zootaxa*, v. 4545, n. 1.
- Jänsch, S., Amorim, M. J., & Römcke, J. (2005). Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. *Environmental Reviews*, 13(2), 51-83. <https://doi.org/10.1139/a05-007>.
- Jindaluang, W., Kheoruenromne, I., Suddhiprakarn, A., Singh, B. P., & Singh, B. (2013). Influence of soil texture and mineralogy on organic matter content and composition in physically separated fractions soils of Thailand. *Geoderma*, 195, 207-219.
- John, E. M., & Shaike, J. M. (2015). Chlorpyrifos: pollution and remediation. *Environmental Chemistry Letters*, 13, 269-291.
- Johnston, A. S., Sibly, R. M., & Thorbek, P. (2018). Forecasting tillage and soil warming effects on earthworm populations. *Journal of Applied Ecology*, 55(3), 1498-1509.

- Jorge-Escudero, G., Ligrone, A., Lagerlöf, J., Martínez, C., Cadenazzi, M., & Pérez, C. (2024). Land use effect on dominance of native and exotic earthworm species in two contrasting rural landscapes. *European Journal of Soil Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2024.103618>.
- Kahle, M., Kleber, M., & Jahn, R. (2004). Retention of dissolved organic matter by phyllosilicate and soil clay fractions in relation to mineral properties. *Organic Geochemistry*, 35(3), 269-276.
- Kaiser, K., Eusterhues, K., Rumpel, C., Guggenberger, G., & Kögel Knabner, I. (2002). Stabilization of organic matter by soil minerals—investigations of density and particle size fractions from two acid forest soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165(4), 451-459.
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L., & Zech, W. (1997). Dissolved organic matter sorption on sub soils and minerals studied by ¹³C NMR and DRIFT spectroscopy. *European Journal of Soil Science*, 48(2), 301-310.
- Kämpf, N., Curi, N., & Marques, J. J. (2009). Intemperismo e ocorrência de minerais no ambiente do solo. In: Melo, V. F. & Alleoni, L. R. F. (Eds). *Química e Mineralogia do Solo. Parte I: conceitos básicos*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1, 333-80.
- Kim, Y., Robinson, B., Boyer, S., Zhong, H., & Dickinson, N. (2015). Interactions of native and introduced earthworms with soils and plant rhizospheres in production landscapes of New Zealand. *Applied Soil Ecology*, 96, 141-150. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2015.07.008>.
- Klein, W., Bordeau, P., Haines, J. A., Klein, W., Krishna Murti, C. R. (1989). Mobility of environmental chemicals, including abiotic degradation, *Ecotoxicology and Climate*. SCOPE 38, 1989, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 65–78.
- Laabs, V., Amelung, W., Pinto, A., & Zech, W. (2002). Fate of pesticides in tropical soils of Brazil under field conditions. *Journal of Environmental Quality*, 31(1), 256-268.
- Lavelle, P. (1988). Earthworm activities and the soil system. *Biology and fertility of soils*, 6, 237-251. <https://doi.org/10.1007/BF00260820>
- Lavorenti, A. Comportamento dos herbicidas no meio ambiente. In: *Workshop Sobre Biodegradação*, 1996, Campinas. Anais. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1996. 256p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 5).

- Lehmann, J., & Joseph, S. (2015). Biochar for environmental management: an introduction. In *Biochar for environmental management* (pp. 1-13). Routledge.
- Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., & Crowley, D. (2011). Biochar effects on soil biota—a review. *Soil biology and biochemistry*, 43(9), 1812-1836.
- Leitão. S. P. D. A. D. S. (2013). New improvements on pesticide ecological risk assessment on the soil-water interface. Tese de doutorado. Universidade de Lisboa. 229p.
- Lenth R (2024). *_emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means_*. R package version 1.10.1, <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>.
- Lima Neto, J. D. A., Ribeiro, M. R., Corrêa, M. M., Souza-Júnior, V. S. D., Araújo Filho, J. C. D., & Lima, J. F. W. (2010). Atributos químicos, mineralógicos e micromorfológicos de horizontes coesos de Latossolos e Argissolos dos tabuleiros costeiros do estado de Alagoas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34, 473-486.
- Lima, S. S. D., Leite, L. F. C., Oliveira, F. D. C., & Costa, D. B. D. (2011). Atributos químicos e estoques de carbono e nitrogênio em argissolo vermelho-amarelo sob sistemas agroflorestais e agricultura de corte e queima no norte do Piauí. *Revista Árvore*, 35, 51-60.
- Lowe, C. N., & Butt, K. R. (2007). Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: a critical review. *European Journal of Soil Biology*, 43, S281-S288.
- Maboeta, M. S., Reinecke, A. J., & Reinecke, S. A. (1999). Effects of low levels of lead on growth and reproduction of the Asian earthworm *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44(3), 236-240.
- Marinissen. J. C. Y., & Didden. W. A. M. (1997). Influence of the enchytraeid worm *Buchholzia appendiculata* on aggregate formation and organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*. 29(3-4). 387-390.
- Marques, C., Pereira, R., & Gonçalves, F. (2009). Using earthworm avoidance behaviour to assess the toxicity of formulated herbicides and their active ingredients on natural soils. *Journal of Soils and Sediments*, 9(2), 137–147. doi:10.1007/s11368-009-0058-0.
- Martin, W. J., Sibley, P. K., & Prosser, R. S. (2024). Effect of insecticide exposure across multiple generations of the earthworm *Eisenia andrei*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 43(9), 2058-2070. <https://doi.org/10.1002/etc.5948>.

- Mattos, B. S. D., Bertolino, A. V. F. A., & Bertolino, L. C. (2022). A influência do fogo nas propriedades de um solo sob manejo de agricultura de corte e queima em ambiente serrano no bioma de Mata Atlântica. *Sociedade & Natureza*, 34, e63656.
- McGinley, J., Harmon O'Driscoll, J., Healy, M. G., Ryan, P. C., Mellander, P. E., Morrison, L., ... & Siggins, A. (2022). An assessment of potential pesticide transmission, considering the combined impact of soil texture and pesticide properties: A meta analysis. *Soil use and Management*, 38(2), 1162-1171.
- Melo, V. D. F., & Alleoni, L. R. F. (2019). Química e mineralogia do solo: conceitos básicos e aplicações. 1ª ed. Viçosa – MG: SBCS.
- Melo, V. F. & Wypych, F. (2009). Caulinita e haloisita. In: Melo, V. D. F., & Alleoni, L. R. F. Química e Mineralogia do Solo. Parte I: conceitos básicos. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1: 427-504p.
- Melo, V. F., Costa, L. M., Barros, N. F., FONTES, M. F., & Novais, R. F. (1995). Reserva mineral e caracterização mineralógica de alguns solos do Rio Grande do Sul. *Revista brasileira de ciência do solo*, 19(2), 159-164.
- Meurer, E. J. (2008). Fundamentos de química do solo. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 344 p.
- Mincarelli, L., Tiano, L., Craft, J. A., Marcheggiani, F., & Vischetti, C. (2019). Evaluation of gene expression of different molecular biomarkers of stress response as an effect of copper exposure on the earthworm *eisenia andrei*. *Ecotoxicology*, 28(8), 938-948. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02093-3>.
- Nascimento, R. Z. (2021). Degradação de clorpirifós em neossolo e cambissolo em Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Agroveterinárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. Universidade do Estado de Santa Catarina. 78p.
- Natal-da-Luz, T., Römbke, J., & Sousa, J. P. (2008). Avoidance tests in site specific risk assessment—influence of soil properties on the avoidance response of collembola and earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 27(5). 1112-1117.
- Nciizah, A. D., & Wakindiki, I. I. C. (2012). Particulate organic matter, soil texture and mineralogy relations in some Eastern Cape ecotopes in South Africa. *South African Journal of Plant and Soil*, 29(1), 39-46.
- Negreiros, R. S., Junior, E. S. F. P., de Souza, W. B., Justi, J., de Souza Negreiros, R., Ramos, J. C., & da Silva, A. N. (2020). Caracterização mineralógica de terra

- preta das Comunidades do Marajó e Gregostone, em Parintins, Amazonas, Brasil. *Brazilian Applied Science Review*, 4(5), 2882-2894.
- Niemeyer, J. C., Cardoso, E. J. B. N., Nunes, M. E. T., Alves, P. R. L., Martines, A. M., Andréa, M. M., Brown, G. G., Niva, C. C. (2019a). Preparo do substrato teste. In: Niva. C.C. Brown. G.G. editors. *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa; 2019. p 199-208.
- Niemeyer. J. C., Alves. P. R. L., Nunes. M. E. T., Cardoso. E. J. B. N., Brown. G. G., Cantelli. K. B., ... & Baretta. D. (2019b). Ensaio de comportamento de fuga. In: Niva. C.C. Brown. G.G. editors. *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa; 2019. p 199-208.
- Niemeyer. J. C., Chelinho. S., & Sousa. J. P. (2017). Soil ecotoxicology in Latin America: Current research and perspectives. *Environmental toxicology and chemistry*. 36(7). 1795-1810.
- Niva. C. C., Brown. G. G. (2019). *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa. 258p.
- Niva. C. C., Niemeyer. J. C., Júnior. F. M. R. D. S., Nunes. M. E. T., De Sousa. D. L., Aragão. C. W. S., ... & Römbke. J. (2016). Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course. *Environmental Science and Pollution Research*. 23. 11363-11378.
- Nunes, M., & Espíndola, E. (2012). 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*, 21, 1063-1071. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0859-6>.
- OECD. (2015). Organization for Economic Co-Operation and Development. Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/andrei*). (p. 19). p. 19. Paris: (OECD. Guidelines for testing of chemicals. 222).
- Paoletti. M. G. (1999). The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. *Agriculture. Ecosystems & Environment*. 74(1-3). 137-155.
- Paraíba, L. C., Cerdeira, A. L., da Silva, E. F., Martins, J. S., & da Costa Coutinho, H. L. (2003). Evaluation of soil temperature effect on herbicide leaching potential into groundwater in the Brazilian Cerrado. *Chemosphere*, 53(9), 1087-1095.
- Pélosi, C., Joimel, S., & Makowski, D. (2013). Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests – a meta-analysis. *Chemosphere*, 90(3), 895-900. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.034>.

Pelosi. C., & Römcke. J. (2016). Are *Enchytraeidae* (Oligochaeta. Annelida) good indicators of agricultural management practices?. *Soil Biology and Biochemistry*. 100. 255-263.

Pierzynski, G. M., Sims, J. T., & Vance, G. F. (2000). Soils and environmental quality. PPDB: Pesticide Properties DataBase. University of Hertfordshire. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>. Acesso em: 04/01/2025.

Oksanen J, Simpson G, Blanchet F, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara R, Solymos P, Stevens M, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Borman T, Carvalho G, Chirico M, De Caceres M, Durand S, Evangelista H, FitzJohn R, Friendly M, Furneaux B, Hannigan G, Hill M, Lahti L, Martino C, McGlinn D, Ouellette M, Ribeiro Cunha E, Smith T, Stier A, Ter Braak C, Weedon J (2025). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.8-0, <https://vegandevs.github.io/vegan/>.

R Core Team (2024). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

Rajagopalan, K., Christyraj, J. D. S., Chelladurai, K. S., Christyraj, J. R. S. S., Das, P., Roy, A., ... & Chemmet, N. S. M. (2024). The molecular mechanisms underlying the regeneration process in the earthworm, *Perionyx excavatus* exhibit indications of apoptosis-induced compensatory proliferation (AICP). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 60(3), 222-235. <https://doi.org/10.1007/s11626-023-00843-6>

Ramalho. B. Caracterização das interações organo-minerais em terra preta de índio. 2020. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo.

Ramalho. B. Carbono. nitrogênio e semiquinonas em Latossolo subtropical sob sistemas de preparo e integração lavoura-pecuária. 2016. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná. Curitiba (PR). 2019. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/42129/R%20%20D%20%20%20B%20RAMALHO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Reinecke, A. J., Reinecke, S. A., & Maboeta, M. S. (2001). Cocoon production and viability as endpoints in toxicity testing of heavy metals with three earthworm species. *Pedobiologia*, 45(1), 61-68.

- Resende, M., Bahia Filho, A. F. C., & Braga, J. M. (1987). Mineralogia da argila de Latossolos estimada por alocação a partir do teor total de óxidos do ataque sulfúrico.
- Resende, M., Curi, N., Poggere, G. C., Barbosa, J. Z., Pozza, A. A. A., & Teixeira, A. D. S. (2019). Pedologia, fertilidade, água e planta: Inter-relações e aplicações. Lavras: Editora UFLA.
- Riedo, J., Wettstein, F. E., Rösch, A., Herzog, C., Banerjee, S., Büchi, L., ... & Van Der Heijden, M. G. (2021). Widespread occurrence of pesticides in organically managed agricultural soils—the ghost of a conventional agricultural past?. *Environmental science & technology*, 55(5), 2919-2928.
- Rodríguez-Castellanos, L., & Sanchez-Hernandez, J. C. (2007). Earthworm biomarkers of pesticide contamination: current status and perspectives. *Journal of Pesticide Science*, 32(4), 360-371.
- Römbke, J., Garcia, M. V., & Scheffczyk, A. (2007b). Effects of the fungicide benomyl on earthworms in laboratory tests under tropical and temperate conditions. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 53, 590-598.
- Römbke, J., & Amorim, M. (2004). Tackling the heterogeneity of soils in ecotoxicological testing an euro-soil based approach. *Journal of Soils and Sediments*, 4, 276-281.
- Römbke, J., Jänsch, S., Junker, T., Pohl, B., Scheffczyk, A., & Schallnaß, H. J. (2007a). The effect of tributyltin-oxide on earthworms, springtails, and plants in artificial and natural soils. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 52, 525-534.
- Sánchez-del Cid, E. L., Rendón-von Osten, J., González-Chávez, M. D. C. Á., Torres-Dosal, A., & Huerta-Lwanga, E. (2025). Pesticide residues in tropical agricultural soils: Distribution, seasonality, and earthworm ecological risk. *Emerging Contaminants*, 11(1), 100436.
- Schäfer, R. B., Liess, M., Altenburger, R., Filser, J., Hollert, H., Roß-Nickoll, M., ... & Scheringer, M. (2019). Future pesticide risk assessment: narrowing the gap between intention and reality. *Environmental Sciences Europe*, 31(1), 1-5.
- Silva, M. D. S., Cocenza, D. S., Rosa, A. H., & Fraceto, L. F. (2012). Efeito da associação do herbicida clomazone a nanoesferas de alginato/quitosana na sorção em solos. *Química Nova*, 35, 102-107.

- Silva, V., Mol, H. G., Zomer, P., Tienstra, M., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2019). Pesticide residues in European agricultural soils—A hidden reality unfolded. *Science of the Total Environment*, 653, 1532-1545.
- Silva, M. L. N., Portela, J. C., Sobrinho, F. E., Cavalcante, J. S. J., Rebouças, C. A. M., & da Silva Dias, N. (2014). Topossequência de Neossolos na zona rural de Florânia, Rio Grande do Norte. *Agropecuária Científica No Semiárido*, 10(1), 22-32.
- Silva, S. H. G., Ribeiro, D., Dijair, T. S. B., Silva, F. M., Teixeira, A. F. D. S., Andrade, R., Mancini, M., Guilherme, L. R. G., Curi, N. (2023). Different Quartz Varieties Characterized by Proximal Sensing and Their Relation to Soil Attributes. *Minerals*, 13(4), 529.
- Singer, A. C., W. Jury, E. Luepromchai, C.–C. Yahng & D. E. Crowley. 2001. Contribution of earthworms to PCB bioremediation. *Soil Biology and Biochemistry*. 33: 765–776.
- Sisinno. C. L. S., Niemeyer. J. C., Segat. J. C., Oliveira Filho. L. C. I., Niva. C. C., & Brown. G. G. (2019). Importância e aplicações dos ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas. In: Niva. C.C. Brown. G.G. editors. *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa; 2019. p. 258.
- Six, J., Feller, C., Denef, K., Ogle, S., de Moraes Sa, J. C., & Albrecht, A. (2002). Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils-Effects of no-tillage. *Agronomie*, 22(7-8), 755-775.
- Soares, K., Mariano, W., & Paulino, M. (2020). Avoidance test with earthworms (*Eisenia andrei*) in natural soil treated with a *Bacillus thuringiensis*-based biopesticide to soil quality evaluation. *Research, Society and Development*, 9. <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I8.5774>.
- Soulas, G., & Lagacherie, B. (2001). Modelling of microbial degradation of pesticides in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 33, 551-557. <https://doi.org/10.1007/s003740100363>.
- Spadotto, C. A., Gomes, M. A. F., Luchini, L. C., & De Andréa, M. M. (2004). Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações.
- Stephenson, G. L., Kaushik, A., Kaushik, N. K., Solomon, K. R., Steele, T., & Scroggins, R. P. (1998). Use of an avoidance-response test to assess the toxicity of contaminated soils to earthworms. In: Sheppard, S.; Bembridge, J.; Holmstrup, M.; Posthuma, L. (Ed.). *Advances in earthworm ecotoxicology*. Pensacola: Setac Press, p. 67-81.

- Taheri, S., James, S., Roy, V., Decaëns, T., Williams, B. W., Anderson, F., Rougerie, R.; Chang, C.-H.; Brown, G. G.; Cunha, L.; Stanton, D. W. G.; Da Silva, E.; Chen, J.-H.; Lemmon, A. R.; Moriarty Lemmon, E.; Bartz, M.; Baretta, D.; Barois, I.; Lapied, E.; Coulis, M.; Dupont, L. (2018). Complex taxonomy of the 'brush tail' peregrine earthworm *Pontoscolex corethrurus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 124, 60-70. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.02.021.
- Tang, F. H., & Maggi, F. (2021). Pesticide mixtures in soil: a global outlook. *Environmental Research Letters*, 16(4), 044051.
- Tariq, M., Afzal, S., & Hussain, I. (2006). Degradation and persistence of cotton pesticides in sandy loam soils from Punjab, Pakistan. *Environmental research*, 100 2, 184-96 . <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2005.05.002>.
- Tiberg, E. (1998). Nordic Reference Soils: 1. Characterisation and Classification of 13 Typical Nordic Soils; 2. Sorption of 2. 4-D. Atrazine and Glyphosate (No. 537). Nordic Council of Ministers.
- Van de Weerd, H., Leijnse, A., & Van Riemsdijk, W. H. (1998). Transport of reactive colloids and contaminants in groundwater: effect of nonlinear kinetic interactions. *Journal of Contaminant Hydrology*, 32(3-4), 313-331.
- Van Gestel, C. A. M., & Weeks, J. M. (2004). Recommendations of the 3rd international workshop on earthworm ecotoxicology. Aarhus. Denmark. August 2001. *Ecotoxicology and environmental safety*. 57(1). 100-105.
- Vijver, M. G., Vink, J. P., Miermans, C. J., & van Gestel, C. A. (2003). Oral sealing using glue: a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms. *Soil biology and biochemistry*, 35(1), 125-132.
- Voelz, J. L., Arnold, W. A., & Penn, R. L. (2018). Redox-induced nucleation and growth of goethite on synthetic hematite nanoparticles. *American Mineralogist*, 103(7), 1021-1029.
- Weber, O. L. D. S., Chitolina, J. C., Camargo, O. A. D., & Alleoni, L. R. F. (2005). Cargas elétricas estruturais e variáveis de solos tropicais altamente intemperizados. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29, 867-873.
- Zanello, S. (2016). Metais HPAs em matrizes ambientais ao longo do trecho rodoviário entre Curitiba e Ponta Grossa-PR. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, UFPR, Curitiba-PR. 137p.

Zhang, H., Yang, X. D., Du, J., & Wu, Y. X. (2008). Influence of soil temperature and moisture on the cocoon production and hatching of the exotic *earthworm Pontoscolex corethrurus*.

Zhang, X., Wang, H., He, L., Lu, K., Sarmah, A., Li, J., ... & Huang, H. (2013). Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 8472-8483.

Zinn, Y. L., Lal, R., & Resck, D. V. (2005). Texture and organic carbon relations described by a profile pedotransfer function for Brazilian Cerrado soils. *Geoderma*, 127(1-2), 168-173.

4 CONCLUSÃO GERAL

Os ensaios padrão de reprodução e de fuga/preferência são ferramentas úteis para avaliar a função habitat do solo, particularmente com solos naturais, e as espécies utilizadas são todas boas candidatas para esse tipo de ensaios. Não obstante a espécie *P. corethrurus* não se adaptou bem ao solo artificial, tendo preferência pelos solos naturais. Já a espécie *P. excavatus* demonstrou ser um excelente organismo sentinela para uso com solos subtropicais e tropicais, como aqueles usados nesse estudo pertencentes ao Cerrado e à Mata Atlântica. Houve alta reprodução, baixa mortalidade e boa reposta aos solos naturais testados.

Os níveis residuais de agrotóxicos estiveram associados à sobrevivência e reprodução das três espécies utilizadas nesse estudo (*P. excavatus*, *P. corethrurus*, *E. andrei*), com glifosato negativamente associado à reprodução de todas as espécies e tebuconazole de *P. corethrurus*. Os residuais também estiveram associados às condições edáficas, estando positivamente relacionados ao pH e à CTC e teor de argila dos solos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A falta de avaliação de cenários amplos de exposição e com resultados realistas envolvendo solos de múltiplos biomas e regiões do país, impedem um melhor conhecimento dos potenciais impactos negativos do uso dos agrotóxicos nas lavouras do Brasil. A presença de múltiplos resíduos de agrotóxicos tanto nos ambientes agrícolas, quanto nos ecossistemas de vegetação nativa, apelam para a necessidade de estudos mais amplos e usando indicadores biológicos relevantes às condições de clima e solos tropicais e subtropicais.

É fundamental expandir o banco de dados ecotoxicológicos para o ambiente terrestre, especialmente por meio da utilização de diferentes tipos de solos naturais e espécies não-alvo. Essa ampliação ajudaria a suprir a significativa carência de informações disponíveis sobre esse ecossistema, permitindo uma avaliação mais representativa dos impactos da contaminação dos solos globais por múltiplos estressores ambientais. Além disso, a incorporação da variabilidade dos solos contribuem para aumentar a relevância ecológica dos estudos sobre agrotóxicos no

compartimento edáfico, uma vez que integram de forma mais precisa a biodisponibilidade dos compostos químicos presentes no solo.

Nesse contexto, investigações adicionais que estabeleçam conexões entre atividades fisiológicas essenciais ao metabolismo das minhocas e seus comportamentos de fuga, bem como os efeitos reprodutivos resultantes da exposição a agrotóxicos, são altamente relevantes. Estudos que explorem essas interações, sobretudo usando formulações comerciais de agrotóxicos, e particularmente combinações dos mesmos (tipo mistura de tanque), possibilitariam uma compreensão mais ampla e detalhada dos efeitos dessas aplicações, e dos mecanismos de toxicidade envolvidos. Mais pesquisas também são necessárias visando explorar os efeitos de longo prazo de exposições subletais e refinar metodologias de teste usando solos naturais e espécies nativas para melhorar a relevância ecológica das avaliações de risco ambiental na região tropical e subtropical.

6 REFERÊNCIAS

- ABNT. (2011). Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 17512-1/2011: 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.
- ABNT. (2014). Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15537: ecotoxicologia terrestre: ecotoxicidade aguda: método de ensaio com minhocas. Rio de Janeiro.
- Aderjan. E., Wagenhoff. E., Kandeler. E., & Moser. T. (2023). Natural soils in OECD 222 testing—influence of soil water and soil properties on earthworm reproduction toxicity of carbendazim. *Ecotoxicology*. 32(4). 403-415.
- Ahmad, R., Kookana, R. S., Alston, A. M., & Skjemstad, J. O. (2001). The nature of soil organic matter affects sorption of pesticides. 1. Relationships with carbon chemistry as determined by ¹³C CPMAS NMR spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, 35(5), 878-884.
- Akpomie, K. G., & Dawodu, F. A. (2016). Acid-modified montmorillonite for sorption of heavy metals from automobile effluent. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(1), 1-12.

- Alegre, J. C., Pashanasi, B., & Lavelle, P. (1996). Dynamics of soil physical properties in Amazonian agroecosystems inoculated with earthworms. *Soil Science Society of America Journal*, 60(5), 1522-1529.
- Alister, C., Araya, M., & Kogan, M. (2011). Effects of physicochemical soil properties of five agricultural soils on herbicide soil adsorption and leaching. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 38(2), 243-251.
- Alletto, L., Coquet, Y., Benoit, P., Heddadj, D., & Barriuso, E. (2010). Tillage management effects on pesticide fate in soils. A review. *Agronomy for sustainable development*, 30(2), 367-400.
- Al-Maliki S, Al-Taey DKA, Al-Mammori HZ (2021) Earthworms and eco-consequences: considerations to soil biological indicators and plant function: a review. *Acta Ecol Sin* 41:512–523. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2021.02.003>
- Amoakwah, E., Lucas, S. T., Didenko, N. A., Rahman, M. A., & Islam, K. R. (2022). Impact of deforestation and temporal land-use change on soil organic carbon storage, quality, and lability. *PLoS One*, 17(8), e0263205.
- Amorim, M. J., Römbke, J., & Soares, A. M. (2005). Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of benomyl, carbendazim, phenmedipham and different soil types. *Chemosphere*, 59(4), 501-510.
- Amossé, J., Turberg, P., Kohler-Milleret, R., Gobat, J. M., & Le Bayon, R. C. (2015). Effects of endogeic earthworms on the soil organic matter dynamics and the soil structure in urban and alluvial soil materials. *Geoderma*, 243, 50-57.
- Amossé. J.. Bart. S.. Péry. A. R.. & Pelosi. C. (2018). Short-term effects of two fungicides on enchytraeid and earthworm communities under field conditions. *Ecotoxicology*. 27. 300-312.
- An, Y. J., & Lee, W. M. (2008). Comparative and combined toxicities of toluene and methyl tert-butyl ether to an Asian earthworm *Perionyx excavatus*. *Chemosphere*, 71(3), 407-411.
- Andrade. C., Chiron. F., & Julliard. R. (2012). Improving the selection of focal species exposed to pesticides to support ecological risk assessments. *Ecotoxicology*. 21. 2430-2440.
- Andréa, M. M. D. (2010). O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. *Acta zoológica mexicana*, 26(SPE2), 95-107.

- Anthony, M., Bender, S., & Van Der Heijden, M. (2023) Enumerating soil biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2304663120>.
- Araujo, I. C. L., Melo, V. D. F., Abate, G., & Dolatto, R. G. (2012). Sorção de diuron em minerais da fração argila. *Química nova*, 35, 1312-1317.
- Arnhold, E. (2013). Pacote em ambiente R para análise de variância e análises complementares. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 50(6), 488-492. doi:10.11606/issn.1678-4456.v50i6p488-492.
- Assmann, J. M., Anghinoni, I., Martins, A. P., de Andrade, S. E. V. G., Cecagno, D., Carlos, F. S., & de Faccio Carvalho, P. C. (2014). Soil carbon and nitrogen stocks and fractions in a long-term integrated crop–livestock system under no-tillage in southern Brazil. *Agriculture, ecosystems & environment*, 190, 52-59.
- Azevedo, T., Silva-Reis, R., Medeiros-Fonseca, B., Gonçalves, M., Mendes, G., Roboredo, M., Rocha, M. J., Peixoto, F., Pinto, M. de L., Matos, M., Sousa, J. R., Oliveira, P. A., & Coimbra, A. M. (2025). Do (xeno)estrogens pose a risk to earthworms? Soy isoflavones and estradiol impact gonad structure and induce oxidative stress in *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 377, 144315. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144315>
- Bach, E., Ramirez, K., Fraser, T., & Wall, D. (2020) Soil Biodiversity Integrates Solutions for a Sustainable Future. *Sustainability*, 12, 2662. <https://doi.org/10.3390/su12072662>.
- Bandeira, F., Alves, P., Hennig, T., Toniolo, T., Natal-Da-Luz, T., & Baretta, D. (2020). Effect of temperature on the toxicity of imidacloprid to *Eisenia andrei* and *Folsomia candida* in tropical soils.. *Environmental pollution*, 267, 115565 . <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115565>.
- Barbosa, C. G. R. D. N. (2020). Frações da matéria orgânica e estoques de carbono em perfis de solos em pedoformas de região semiárida. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, UFPB, Areia – PB, 89p.
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515(7528), 505-511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Bardgett, R. D., Freeman, C., & Ostle, N. J. (2005). Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *The ISME Journal*, 2(8), 805-814. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.58>

- Barros, E., Grimaldi, M., Sarrazin, M., Chauvel, A., Mitja, D., Desjardins, T., & Lavelle, P. (2004). Soil physical degradation and changes in macrofaunal communities in Central Amazon. *Applied Soil Ecology*, 26(2), 157-168.
- Barros, G. S. C., Castro, N. R., Machado, G. C., Almeida, F. M. S., & Almeida, A. N. (2021). Boletim mercado de trabalho do agronegócio Brasileiro.
- Barros, G. S. C., Castro, N. R., Machado, G. C., Almeida, F. M. S., Almeida, A. F., Fachinello, A. L. (2024). Boletim mercado de trabalho do agronegócio Brasileiro. Acesso em 13 de mar de 2025. Disponível em:<<https://cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/01%20Boletim%20%2B%20Sum%C3%A1rio%20-%20Mercado%20de%20Trabalho%20do%20Agroneg%C3%B3cio%20-%204T2024.pdf>>
- Bartz, M. L. C., Brown, G. G., da Rosa, M. G., Klauberg Filho, O., James, S. W., Decaëns, T., & Baretta, D. (2014) Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil. *Applied Soil Ecology*, 83, 59-70.
- Bartz, M. L. C., Dudas, R. T., Demetrio, W. C., & Brown, G. G. (2024). Earthworms as soil health indicators in no-tillage agroecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 121, 103605.
- Bartz, M. L. C., Pasini, A., & Brown, G. G. (2013) Earthworms as soil quality indicators in Brazilian no-tillage systems. *Applied Soil Ecology*, 69, 39-48.
- Basanta, M. Del V. (2004). Dinâmica do nitrogênio da cultura de cana-de-açúcar em diferentes sistemas de manejo de resíduo da colheita. Tese (Doutorado – Escola Superior de Agricultura – Luiz de Queiroz) - Universidade de São PauloPiracicaba-SP.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of statistical software*, 67, 1-48.
- Bayer, C., Amado, T. J. C., Tornquist, C. G., Cerri, C. E. C., Dieckow, J., Zanatta, J. A., ... & Carvalho, P. D. F. (2011). Estabilização do carbono no solo e mitigação das emissões de gases de efeito estufa na agricultura conservacionista. *Tópicos em ciência do solo*, 7(5), 55-118.
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuk, J., & Pavinato, A. (2004). Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39, 677-683.

- Bayer, C.; Mielniczuk, J. (2008). Dinâmica e função da matéria orgânica. In: Santos, G. A.; Silva, L. S.; Canellas, L. P.; Camargo, F. A. O. (Eds). Fundamentos da matéria orgânica do solo em ecossistemas tropicais e subtropicais. 2^a. ed. Porto Alegre: Metrópole; p.7-18.
- Beaumelle, L., Thouvenot, L., Hines, J., Jochum, M., Eisenhauer, N., & Phillips, H. R. (2021). Soil fauna diversity and chemical stressors: a review of knowledge gaps and roadmap for future research. *Ecography*, 44(6), 845-859. <https://doi.org/10.1111/ecog.05627>
- Beaumelle, L., Tison, L., Eisenhauer, N., Hines, J., Malladi, S., Pelosi, C., ... & Phillips, H. R. (2023). Pesticide effects on soil fauna communities—A meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 60(7), 1239-1253. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14437>
- Bernardino, M. M., Alves, P. R. L., de Santo, F. B., Niemeyer, J. C., & Leal, R. M. P. (2021). Ecotoxicity of imidacloprid to soil invertebrates in two tropical soils with contrasting texture. *Environmental Science and Pollution Research*. 28. 27655-27665.
- Bertrand, M., Barot, S., Blouin, M., Whalen, J., de Oliveira, T., & Roger-Estrade, J. (2015). Earthworm services for cropping systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 553-567.
- Bhaduri, D., Sihi, D., Bhowmik, A., Verma, B. C., Munda, S., & Dari, B. (2022). A review on effective soil health bio-indicators for ecosystem restoration and sustainability. *Frontiers in Microbiology*, 13, 938481. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.938481>.
- Bhattacharjee, G., & Chaudhuri, P. S. (2002) Cocoon production, morphology, hatching pattern and fecundity in seven tropical earthworm species—a laboratory-based investigation. *Journal of biosciences*, 27(3), 283-294.
- Blakemore, R. J., Ito, M. T., & Kaneko, N. (2006) Alien earthworms in the Asia/Pacific region with a checklist of species and the first records of *Eukerria saltensis* (Oligochaeta: Ocnerodrilidae) and *Eiseniella tetraedra* (Lumbricidae) from Japan, and *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae) from Okinawa. *Assessment and control of biological invasion risks*, 173-181.
- Blanchart, E., Lavelle, P., Braudeau, E., Le Bissonnais, Y., & Valentin, C. (1997). Regulation of soil structure by geophagous earthworm activities in humid savannas of Côte d'Ivoire. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(3-4), 431-439.

- Blouin, M., Hodson, M. E., Delgado, E. A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K. R., ... & Brun, J. J. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*, 64(2), 161-182.
- Bolan, N., Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Kumpiene, J., Park, J., Makino, T., ... & Scheckel, K. (2014). Remediation of heavy metal (loid) s contaminated soils—to mobilize or to immobilize?. *Journal of hazardous materials*, 266, 141-166.
- Bonfleur, E. J. (2014). Matéria orgânica e a sorção de herbicidas em solos sob plantio direto nas regiões tropical e subtropical do Brasil. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade de São Paulo Esalq, 95p.
- Boyucos, G. J. (1927) The hydrometer as a new method for the mechanical analysis of soils. *Soil Science*, v. 23, n. 5, p. 343-354.
- BRASIL. Lei nº. 14.785, de 27 de dezembro de 2023. Disponível em: < https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2023-2026/2023/Lei/L14785.htm#art65 >. Acesso em 19 mar. 2025.
- Briceño, G., Palma, G., & Durán, N. (2007). Influence of organic amendment on the biodegradation and movement of pesticides. *Critical reviews in environmental science and technology*, 37(3), 233-271.
- Briones, M. J. I., & Schmidt, O. (2017). Conventional tillage decreases the abundance and biomass of earthworms and alters their community structure in a global meta analysis. *Global change biology*, 23(10), 4396-4419.
- Brown, G. G., & Domínguez, J. (2010). Uso das minhocas como bioindicadoras ambientais: princípios e práticas-o 3 Encontro Latino Americano de Ecologia e Taxonomia de Oligoquetas (ELAETAO3). *Acta zoológica mexicana*, 26(SPE2), 1-18.
- Brown, G. G., Benito, N. P., Pasini, A., Sautter, K. D., de F Guimarães, M., & Torres, E. (2003) No-tillage greatly increases earthworm populations in Paraná state, Brazil. *Pedobiologia*, 47(5-6), 764-771.
- Brown, G. G., James, S. W., Pasini, A., Nunes, D. H., Benito, N. P., Martins, P. T., & Sautter, K. D. (2006a). Exotic, peregrine, and invasive earthworms in Brazil: diversity, distribution, and effects on soils and plants. *Caribbean Journal of Science*, 42(3), 339.
- Brown, G. G., James, S. W., Pasini, A., Nunes, D. H., Benito, N. P., Martins, P. T., & Sautter, K. D. (2006b) Exotic, peregrine, and invasive earthworms in Brazil: diversity, distribution, and effects on soils and plants. *Caribbean Journal of Science*, 42(3), 339.

Brown, G. G., Pashanasi, B., Villenave, C., Patron, J. C., Senapati, B. K., Giri, S., Barois, I.; Lavelle, P.; Blanchart, E.; Blakemore, R. J.; Spain, A. V., Boyer, J. (1999). Effects of earthworms on plant production in the tropics. Earthworm management in tropical agroecosystems. In: Lavelle, P.; Brussaard, L.; Hendrix, P. F. (Ed.). Earthworm management in tropical agroecosystems. Wallingford: CAB International, 5, 87-147.

Brown, G. G., Römcke, J., Höfer, H., Verhaagh, M., Sautter, K. D., & Santana, D.D Q. (2006b) Biodiversity and function of soil animals in Brazilian agroforestry systems. Sistemas Agroflorestais: Bases Científicas para o desenvolvimento sustentável. Ed.: Gama-Rodrigues, A.C., Barros, N.F., Gama-Rodrigues, E.F., Freitas, M.S.M., Viana, A.P, Jasmin, J.M., Marciano, C.R., Carneiro, J.G.A. UENF, Campos dos Goytacazes, 217-242.

Brown, G. G.; James, S. W. (2007). Ecologia, biodiversidade e biogeografia das minhocas no Brasil. In: BROWN, G. G., FRAGOSO, C. (Ed.). Minhocas na América Latina: biodiversidade e ecologia. Londrina: Embrapa Soja, p. 297-381.

Brown, G.G., Silva, E., Thomazini, M.J., Niva, C.C., Decaëns, T., Cunha, L.F.N., Nadolny, H., Demetrio, W.C., Santos, A., Ferreira, T., Maia, L.S., Conrado, A.C., Segalla, R.F., Ferreira, A.C., Pasini, A., Bartz, M.L.C., Sautter, K.D., James, S.W., Baretta, D., Antonioli, Z.I., Briones, M.J.I., Sousa, J.P., Römcke, J. & P. Lavelle (2018): The role of soil fauna in soil health and delivery of ecosystem services. In: Reicosky, D. ed. Managing soil health for sustainable agriculture, v. 1: Fundamentals. Burleigh Dodds Science Publishing, Oxford. pp. 197-241.

Brussaard, L., de Ruiter, P. C., & Brown, G. G. (2007). Soil biodiversity for agricultural sustainability. Agriculture, Ecosystems & Environment, 121(3), 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.12.013>

Buch, A. C. *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) e *Eisenia andrei*, Bouché, 1972, como bioindicadoras de solos contaminados por agrotóxicos. 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Buch, A. C., Brown, G. G., Niva, C. C., Sautter, K. D., & Lourençato, L. F. (2011) Life cycle of *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) in tropical artificial soil. Pedobiologia, 54, S19-S25.

Buch, A. C., Brown, G. G., Niva, C. C., Sautter, K. D., & Sousa, J. P. (2013) Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller,

- 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). *Applied soil ecology*, 69, 32-38.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.12.011>
- Buch. A. C.; Brown. G. G., Fernandes. C. M. E., Lourençato. L. F., & Silva-filho. E. V. (2017). Science of the Total Environment Ecotoxicology of mercury in tropical forest soils: Impact on earthworms. *Science of the Total Environment*. 589. 222–231.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.150>
- Bünemann, E. K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R. E., De Deyn, G., De Goede, R. de; Fleskens, L., Geissen, V., Kuyper, T.W., Mäder, P., Pulleman, M., Sukkel, W., Groenigen, J.W. van., Brussaard, L. (2018) Soil quality – a critical review. *Soil Biology and Biochemistry*, v.120, p.105-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>.
- Bussian. B., Kördel. W., Kuhnt. G., Ohnesorge. S., & Weinfurter. K. (2005). Das ReFeSol-Projekt: Grundlagen eines deutschen Referenzbodensystems
- Byambas, P., Hornick, J. L., Marlier, D., & Francis, F. (2019). Vermiculture in animal farming: A review on the biological and nonbiological risks related to earthworms in animal feed. *Cogent Environmental Science*, 5(1), 1591328.
- Callahan, C. A., Skirazi, M. A., & Neuhauser, E. F. (1994). Comparative toxicity of chemicals to earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 13(2), 291-298.
- Carneiro, F. F., Rigotto, R. M., Augusto, L. G. D. S., Friedrich, K., & Búrigo, A. C. (2015). Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.
- Carneiro, M. A. C., Souza, E. D. D., Reis, E. F. D., Pereira, H. S., & Azevedo, W. R. D. (2009). Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 33, 147-157.
- Carvalho, V. S. D., Ribeiro, M. R., Souza Júnior, V. S. D., & Brilhante, S. A. (2013). Caracterização de Espodossolos dos Estados da Paraíba e do Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37, 1454-1463.
- Caten, A., Minella, J. P., & Madruga, P. R. D. A. (2012). Desintensificação do uso da terra e sua relação com a erosão do solo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 16, 1006-1014.
- Chaudhuri, P. S., & Bhattacharjee, G. (2002) Capacity of various experimental diets to support biomass and reproduction of *Perionyx excavatus*. *Bioresource technology*, 82(2), 147-150.

- Chelinho, S., Domene, X., Campana, P., Natal-da-Luz, T., Scheffczyk, A., Römbke, J., Andrés, P., & Sousa, J. P. (2011) Improving ecological risk assessment in the Mediterranean area: selection of reference soils and evaluating the influence of soil properties on avoidance and reproduction of two oligochaete species. *Environmental toxicology and chemistry*, 30(5), 1050–1058. <https://doi.org/10.1002/etc.480>
- Chelinho. S., Lopes. I., Natal da Luz. T., Domene. X., Tenorio Nunes. M. E., Espíndola. E. L., ... & Sousa. J. P. (2012). Integrated ecological risk assessment of pesticides in tropical ecosystems: A case study with carbofuran in Brazil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 31(2). 437-445.
- Chelinho. S.. Domene. X.. Campana. P.. Andrés. P.. Römbke. J.. & Sousa. J. P. (2014). Toxicity of phenmedipham and carbendazim to *Enchytraeus crypticus* and *Eisenia andrei* (Oligochaeta) in Mediterranean soils. *Journal of soils and sediments*. 14. 584-599.
- Chen Y., Li, Y., Awada, T., Han, J., & Luo, Y. (2012). Carbon sequestration in the total and light fraction soil organic matter along a chronosequence in grazing exclosures in a semiarid degraded sandy site in China. *Journal of Arid Land*, 4(4), 411-419.
- Chiaia-Hernandez, A. C., Keller, A., Waßchter, D., Steinlin, C., Camenzuli, L., Hollender, J., & Krauss, M. (2017). Long-term persistence of pesticides and TPs in archived agricultural soil samples and comparison with pesticide application. *Environmental Science & Technology*, 51(18), 10642-10651.
- Christensen, B. T. (2001). Physical fractionation of soil and structural and functional complexity in organic matter turnover. *European journal of soil science*, 52(3), 345-353.
- Christensen. B. T. (1992). Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. *Advances in Soil Science: Volume 20*. 1-90.
- Chuang, S. C., Lee, H., & Chen, J. H. (2004). Diurnal rhythm and effect of temperature on oxygen consumption in earthworms, *Amyntas gracilis* and *Pontoscolex corethrurus*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 301(9), 737-744.
- Clasen. B., Storck. T. R., Schneider. S. I., & Tiecher. T. L. (2023). Challenges and perspectives in terrestrial ecotoxicological assessment methodologies. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 19(2). 298-299.

Clause, J., Barot, S., Richard, B., Decaëns, T., & Forey, E. (2014) The interactions between soil type and earthworm species determine the properties of earthworm casts. *Applied Soil Ecology*, 83, 149-158.

CONAMA. (2009). Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Disponível em:<<https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2017/09/resolucao-conama-420-2009-gerenciamento-de-acrs.pdf>>

Cordeiro, P. R. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Setor de ciências da terra curso de geologia. Curitiba-PR, UFPR. 36p.

Correia, F. V., Langenbach, T., & Campos, T. M. (2010). Avaliação do transporte de atrazina em solos sob diferentes condições de manejo agrícola. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34, 525-534.

Craswell, E., & Lefroy, R. (2001). The role and function of organic matter in tropical soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 61, 7-18. <https://doi.org/10.1023/A:1013656024633>.

Crowther, T., Hoogen, J., Wan, J., Mayes, M., Mayes, M., Keiser, A., Keiser, A., Mo, L., Averill, C., Averill, C., & Maynard, D. (2019). The global soil community and its influence on biogeochemistry. *Science*, 365. <https://doi.org/10.1126/science.aav0550>.

Curry, J. P. (2004). Factors affecting the abundance of earthworms in soils. In *Earthworm ecology* (pp. 91-113). CRC press

da Silva, K. A., Nicola, V. B., Dudas, R. T., Demetrio, W. C., Maia, L. D. S., Cunha, L., ... & de Oliveira, C. M. R. (2021). Pesticides in a case study on no-tillage farming systems and surrounding forest patches in Brazil. *Scientific reports*, 11(1), 9839.

Daam, M. A., Leitão, S., Cerejeira, M. J., & Paulo Sousa, J. (2011). Comparing the sensitivity of soil invertebrates to pesticides with that of *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 85(6), 1040–1047. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.032>

Daam, M., Garcia, M., Scheffczyk, A., & Römbke, J. (2020). Acute and chronic toxicity of the fungicide carbendazim to the earthworm *Eisenia fetida* under tropical versus temperate laboratory conditions.. *Chemosphere*, 255, 126871 . <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126871>.

Daam, M. A., Chelinho, S., Niemeyer, J. C., Owojori, O. J., De Silva, P. M. C., Sousa, J. P., ... & Römbke, J. (2019). Environmental risk assessment of pesticides in tropical

terrestrial ecosystems: test procedures. current status and future perspectives. *Ecotoxicology and environmental safety*. 181. 534-547.

Das Gupta, R., Chakravorty, P. P., & Kaviraj, A. (2010). Studies on relative toxicities of six insecticides on epigeic earthworm, *Perionyx excavatus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 85, 83-86.

Das Gupta, R., Chakravorty, P. P., & Kaviraj, A. (2012). Effects of carbaryl, chlorpyrifos and endosulfan on growth, reproduction and respiration of tropical epigeic earthworm, *Perionyx excavatus* (Perrier). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(2), 99-103.

de Almeida, J. A., Ribeiro, C. F., de Oliveira, M. V. R., & Sequinatto, L. (2018). Mineralogia da argila e propriedades químicas de solos do Planalto Norte Catarinense. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 17(2), 267-277.

De Jonge, L. W., De Jonge, H., Moldrup, P., Jacobsen, O. H., & Christensen, B. T. (2000). Sorption of prochloraz on primary soil organomineral size separates (Vol. 29, No. 1, pp. 206-213). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America.

De Melo, R. F., Brito, L. D. L., Giongo, V., Angelotti, F., & Miguel, A. (2010). Agrotóxicos e seus impactos no ambiente. In: Brito, L. T. de L.; Melo, R. F. de; Giongo, V. (Ed.). *Impactos ambientais causados pela agricultura no Semiárido brasileiro*. Petrolina: Embrapa Semiárido, p. 101-103.

De Oliveira, D. A., Freitas, T. R., Rosa, V. M. D., Oliveira Filho, L. C. I., da Veiga, M., Campos, M. L., Miquelluti, D. J., Klauberg-Filho, O. (2024). Prevention values for copper (low tier approach) in subtropical acidic soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(51), 60895-60904. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35271-w>

De Silva P. M. C. S., *Pesticide effects on earthworms: a tropical perspective*, Ph.D. thesis, 2009, Department of Ecological Science, VU University, Amsterdam, The Netherlands.

De Silva, P. M. C., & van Gestel, C. A. (2009) Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. *Chemosphere*, 77(11), 1609-1613.

De Silva, P. M. C., Pathiratne, A., & van Gestel, C. A. (2009). Influence of temperature and soil type on the toxicity of three pesticides to *Eisenia andrei*. *Chemosphere*, 76(10), 1410-1415.

- De Silva, P. M. C., Pathiratne, A., & van Gestel, C. A. (2010). Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. *Applied Soil Ecology*, 44(1), 56-60.
- De Sousa, A. P. A., & De Andréa, M. M. (2011). Earthworm (*Eisenia andrei*) avoidance of soils treated with cypermethrin. *Sensors*, 11(12), 11056-11063.
- Decaëns, T., Brown, G. G., Cameron, E. K., Csuzdi, C., Eisenhauer, N., Gerard, S., Goulpeau, A., Hedde, M., James, S. W., Lapied, E., Maggia, M. E., Marchán, D. F., Mathieu, J., Philips, H. R. P., & Marcon, E. (2024). A can of worms: estimating the global number of earthworm species. *bioRxiv*, 2024-09. <https://doi.org/10.1101/2024.09.08.611896>.
- Decaëns, T., Jiménez, J. J., Gioia, C., Measey, G. J., & Lavelle, P. (2006) The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42, S23-S38.
- Delgado-Baquerizo, M., Reich, P., Trivedi, C., Eldridge, D., Abades, S., Alfaro, F., Bastida, F., Berhe, A., Cutler, N., Gallardo, A., García-Velázquez, L., Hart, S., Hayes, P., He, J., Hseu, Z., Hu, H., Kirchmair, M., Neuhauser, S., Pérez, C., Reed, S., Santos, F., Sullivan, B., Trivedi, P., Wang, J., Weber-Gruellon, L., Williams, M., & Singh, B. (2020). Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes. *Nature Ecology & Evolution*, 4, 210 - 220. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1084-y>.
- Demetrio, W. C., Ribeiro, R. H., Nadolny, H., Bartz, M. L., & Brown, G. G. (2020) Earthworms in Brazilian no tillage agriculture: Current status and future challenges. *European Journal of Soil Science*, 71(6), 988-1005.
- Denef, K., Six, J., Merckx, R., & Paustian, K. (2004). Carbon sequestration in microaggregates of no tillage soils with different clay mineralogy. *Soil Science Society of America Journal*, 68(6), 1935-1944.
- Dey, A., & Chaudhuri, P. S. (2016). Species richness, community organization, and spatiotemporal distribution of earthworms in the pineapple agroecosystems of Tripura, India. *International Journal of Ecology*, 2016(1), 3190182.
- Diallo, A., Hoeffner, K., Guillocheau, S., Sorgniard, P., & Cluzeau, D. (2023). Combined effects of annual crop agricultural practices on earthworm communities. *Applied Soil Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105073>.

- Dick, D. P., Martinazzo, R., Knicker, H., & Almeida, P. S. G. (2010). Matéria orgânica em quatro tipos de solos brasileiros: composição química e sorção de atrazina. *Química Nova*, 33, 14-19.
- Dick, D.P; Novothy, E.H; Dieckow, J.; Bayer, C. (2009). Química da matéria orgânica do solo, SBCS, Viçosa. In: Química e Mineralogia do Solo, Parte II. Melo V. de F. e Alleoni, L.R. F.; (Eds.), Viçosa, MG, 2009 p. 1 – 67.
- Diekow, J. (2003). Estoque e qualidade da matéria orgânica do solo em função de sistemas de culturas e adubação nitrogenada no sistema plantio direto. Tese (Doutorado em Ciência do Solo. Programa de Pós Graduação em Ciências do Solo) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 164 p.
- Diekow, J., Mielniczuk, J., Knicker, H., Bayer, C., Dick, D. P., & Kögel-Knabner, I. (2005). Carbon and nitrogen stocks in physical fractions of a subtropical Acrisol as influenced by long-term no-till cropping systems and N fertilisation. *Plant and Soil*, 268, 319-328.
- Dittbrenner, N., Schmitt, H., Capowiez, Y., & Triebkorn, R. (2011). Sensitivity of *Eisenia fetida* in comparison to *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus terrestris* after imidacloprid exposure. Body mass change and histopathology. *Journal of Soils and Sediments*, 11, 1000-1010.
- Domínguez, J., & Gómez-Brandón, M. (2010). Ciclos de vida de las lombrices de tierra aptas para el vermicompostaje. *Acta zoológica mexicana*, 26(SPE2), 309-320.
- Doran, J. W., & Zeiss, M. R. (2000). Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 3–11. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00067-6)
- Dray S, Dufour A (2007). “The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists.” *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1–20. doi:10.18637/jss.v022.i04.
- Dudas, R. T. (2024). Earthworm biodiversity and their role as bioindicators in different land use systems and brazilian biomes. Tese (doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná.
- Dudas, R. T., Demetrio, W. C., Nadolny, H. S., Brown, G. G., & Bartz, M. L. C. (2023). Earthworms in the state of Paraná, Brazil: State of the art. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 47, e0220159.

- Duval, M. E., Galantini, J. A., Iglesias, J. O., Canelo, S., Martinez, J. M., & Wall, L. (2013). Analysis of organic fractions as indicators of soil quality under natural and cultivated systems. *Soil and Tillage Research*, 131, 11-19.
- Edna, M. (2012). Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. .
- Edwards, C., Dominguez, J. & Neuhauser, E. (1998) Growth and reproduction of *Perionyx excavatus* (Perr.) (Megascolecidae) as factors in organic waste management. *Biology and Fertility of Soils* 27, 155–161.
<https://doi.org/10.1007/s003740050414>
- Edwards, C.A., Arancon, N.Q. (2022). The Influence of Environmental Factors on Earthworms. In: *Biology and Ecology of Earthworms*. Springer, New York, NY.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-74943-3_7
- Edwards. C. A. (2004). The importance of earthworms as key representatives of the soil fauna. *Earthworm ecology*. 2. 3-11.
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR). Ockleford. C.. Adriaanse. P.. Berny. P.. Brock. T.. Duquesne. S.. ... & Rob. S. (2017). Scientific opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection products for in soil organisms. *Efsa Journal*. 15(2). e04690.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4690>.
- Eijsackers, H. 2004. Earthworms in environmental research. In: C.A. Edwards (Ed.). *Earthworm ecology*. 2nd Ed. CRC Press, Boca Raton. P. 321–342.
- Eijsackers. H., Swartjes. F. A., Van Rensburg. L., & Maboeta. M. S. (2014). The need for attuned soil quality risk assessment for non-Western humans and ecosystems. exemplified by mining areas in South Africa. *Environmental science & policy*. 44. 174-180.
- Eisenhauer, N., Bonn, A., & A. Guerra, C. (2019). Recognizing the quiet extinction of invertebrates. *Nature communications*, 10(1), 50.
- Elango, D., Kayalvizhi, N., & Jayanthi, P. (2023). Effects of a Neonicotinoid on Indigenous Earthworm *Perionyx excavatus* Biochemical and Histopathological Alterations. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 110(5), 1-8.
- Ellis, S. R., Hodson, M. E., & Wege, P. (2007). The influence of different artificial soil types on the acute toxicity of carbendazim to the earthworm *Eisenia fetida* in laboratory toxicity tests. *European Journal of Soil Biology*, 43, S239-S245.

- El-Saeid, M. H., BaQais, A., & Alshabanat, M. (2022). Study of the photocatalytic degradation of highly abundant pesticides in agricultural soils. *Molecules*, 27(3), 634.
- Embrapa. (2022). *Síntese de Ocupação e Uso das Terras no Brasil*. Embrapa. Acesso em: 13 de jan de 2025. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/car/sintese>>
- Eriksen-Hamel, N. S., & Whalen, J. K. (2007). Impacts of earthworms on soil nutrients and plant growth in soybean and maize agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 120(2-4), 442-448.
- Ernst, G., & Emmerling, C. (2009). Impact of five different tillage systems on soil organic carbon content and the density, biomass, and community composition of earthworms after a ten year period. *European Journal of Soil Biology*, 45(3), 247-251.
- FAO (2015): Status of the world's soil resources. FAO, Rome. <http://www.fao.org/3/i5199e/I5199E.pdf>.
- FAO, ITPS, GSBI, SCBD, & EC (2020): State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities, Report 2020. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb1928en>
- Farenhorst, A., Topp, E., Bowman, B. T., & Tomlin, A. D. (2000). Earthworms and the dissipation and distribution of atrazine in the soil profile. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(1), 23-33.
- Fernandes, C. L. F., Volcão, L. M., Ramires, P. F., De Moura, R. R., & Júnior, F. M. R. D. S. (2020). Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: A critical review. *Environmental science: Processes & impacts*, 22(2), 256-270.
- Fernandes, C., Volcão, L., Ramires, P., Moura, R., & Da Silva Júnior, F. (2020). Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: a critical review.. *Environmental science. Processes & impacts*. <https://doi.org/10.1039/c9em00433e>.
- Ferreira, T. (2020) *Relação entre as minhocas *Pontoscolex corethrurus* e a fertilidade do solo: o caso das terras pretas de índio e seus componentes (Biochar, matéria orgânica, cerâmica, Ca E P)*. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo - Curitiba.
- Ferreira, T., James, S. W., Bartz, M. L. C., De Lima, A. C. R., Dudas, R., & Brown, G. G. (2023). Distribution and diversity of earthworms in different land use systems in Rio Grande do Sul, Brazil. *Zootaxa*, 5255(1), 399-416.

- Förster, B., Garcia, M., Höfer, H., Morgan, E., & Römcke, J. (2009). Tropical terrestrial model ecosystems for evaluation of soil fauna and leaf litter quality effects on litter consumption, soil microbial biomass and plant growth. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44, 1063-1071.
- Fragoso, C., & Lozano, N. (1992). Resource allocation strategies imposed by caudal amputation and soil moisture in the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus*. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(12), 1237-1240.
- Fragoso, C., Brown, G. G., Patrón, J. C., Blanchart, E., Lavelle, P., Pashanasi, B., Senapati, B. K., Kumar, T. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms. *Applied soil ecology*, 6(1), 17-35.
- Fragoso, C., Lavelle, P., Blanchart, E., Senapati, B. K., Jimenez, J. J., Martinez, M. D. L. A., ... & Tondoh, J. (1999). Earthworm communities of tropical agroecosystems: origin, structure and influence of management practices. In: *Earthworm management in tropical agroecosystems*. Eds Lavelle, P., Brussaard, L., Hendrix, P. p. 27-55.
- Fu, C., Liu, T., Li, L., Liu, H., Chen, D., & Tang, F. (2013). The absorption, distribution, excretion and toxicity of mesoporous silica nanoparticles in mice following different exposure routes. *Biomaterials*, 34(10), 2565-2575.
- Garcia, M. (2004) Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions (Vol. 19). Cuvillier Verlag.
- Garcia, M. (2004). Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions (Vol. 19). Cuvillier Verlag.
- Garcia, M., Römcke, J., De Brito, M., & Scheffczyk, A. (2008). Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions.. *Environmental pollution*, 153 2, 450-6 . <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2007.08.007>.
- Garcia, M.; Brito, M.; Garcia, T.; Pinheiro, S.; Mestrinho, C.; Römcke, J. (2008) Minhocas nativas como indicadoras da contaminação do solo. In: *Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia*, 10., 2008, Bento Gonçalves/RS. Resumos. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia, 2008. p. 84.
- Garcia, M.; Brito, M.; Garcia, T.; Pinheiro, S.; Mestrinho, C.; Römcke, J. (2008). Minhocas nativas como indicadoras da contaminação do solo. In: *Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia*, 10., 2008, Bento Gonçalves/RS. Resumos. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia, 2008. p. 84.

- García-Pérez, J. A., Alarcón, E., Hernandez, Y., & Hernandez, C. (2016) Impact of litter contaminated with glyphosate-based herbicide on the performance of *Pontoscolex corethrurus*, soil phosphatase activities and soil pH. *Applied Soil Ecology*, 104, 31-41.
- García-Perez, J. A., Alarcon-Gutierrez, E., & Diaz-Fleischer, F. (2020). Interactive effect of glyphosate-based herbicides and organic soil layer thickness on growth and reproduction of the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857). *Applied Soil Ecology*, 155, 103648.
- Gardi, C., Montanarella, L., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Jolivet, C., Mulder C, Ranjard L, Römbke J, Rutgers M, Menta, C. (2009) Soil biodiversity monitoring in Europe: ongoing activities and challenges. *European Journal of Soil Science*, 60(5), 807-819.
- Gates, G. E. (1972) Burmese earthworms: an introduction to the systematics and biology of megadrile oligochaetes with special reference to Southeast Asia. *Transactions of the American philosophical Society*, 62(7), 1-326.
- Gates, G. E. (1972). Burmese earthworms: an introduction to the systematics and biology of megadrile oligochaetes with special reference to Southeast Asia. *Transactions of the American philosophical Society*, 62(7), 1-326.
- Gaupp-Berghausen, M., Hofer, M., Rewald, B., & Zaller, J. G. (2015) Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific reports*, 5(1), 12886.
- Gebler, L. (2004). Banco de informações ambientais e toxicológicas dos agrotóxicos utilizados até a safra 2002/2003 na Produção Integrada de Maças no Brasil.
- Gee, G. W., & Bauder, J. W. (1986). Particle size analysis. *Methods of soil analysis: Part 1 Physical and mineralogical methods*, 5, 383-411.
- Gee, G. W., & Or, D. (2002). 2.4 Particle size analysis. *Methods of soil analysis: Part 4 physical methods*, 5, 255-293.
- Ghafoor, A., Jarvis, N., Thierfelder, T., & Stenström, J. (2011). Measurements and modeling of pesticide persistence in soil at the catchment scale.. *The Science of the total environment*, 409 10, 1900-8 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.01.049>.
- Gómez-Brandón, M., Lores, M., & Domínguez, J. (2012). Species-specific effects of epigeic earthworms on microbial community structure during first stages of decomposition of organic matter. *PloS one*, 7(2), e31895.

- Gudeta, K., Bhagat, A., Julka, J. M., Bhat, S. A., Sharma, G. K., Bantihun, G., ... & Belina, M. (2022). Impact of aboveground vegetation on abundance, diversity, and biomass of earthworms in selected land use systems as a model of synchrony between aboveground and belowground habitats in mid-himalaya, India. *Soil Systems*, 6(4), 76.
- Guerra, R. T. (1994). Earthworm activity in forest and savanna soils near Boa Vista, Roraima, Brazil. *Acta Amazonica*, 24(3-4), 303-307.
- Guhra, T., Stolze, K., Schweizer, S., & Totsche, K. U. (2020). Earthworm mucus contributes to the formation of organo-mineral associations in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 145, 107785.
- Gul, S., Whalen, J. K., Thomas, B. W., Sachdeva, V., & Deng, H. (2015). Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: mechanisms and future directions. *Agriculture, ecosystems & environment*, 206, 46-59.
- Hallam, J. (2018) Soil hydraulic function: Earthworm-plant root interactions (Doctoral dissertation, University of York). 305p.
- Hallatt, L., Reinecke, A. J., & Viljoen, S. A. (1990). Life cycle of the oriental compost worm *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). *African Zoology*, 25(1), 41-45.
- Hedde, M., Bureau, F., Delporte, P., Cécillon, L., & Decaens, T. (2013) The effects of earthworm species on soil behaviour depend on land use. *Soil Biology and Biochemistry*, 65, 264-273.
- Heger, Z., Michalek, P., Guran, R., Havelkova, B., Kominkova, M., Cernei, N., ... & Kizek, R. (2015). Exposure to 17 β -Oestradiol induces oxidative stress in the non-oestrogen receptor invertebrate species *Eisenia fetida*. *PLoS One*, 10(12), e0145426.
- Helling, B., Reinecke, S. A., & Reinecke, A. J. (2000). Effects of the fungicide copper oxychloride on the growth and reproduction of *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Ecotoxicology and environmental safety*, 46(1), 108-116.
- Hodson, M. E., Brailey-Crane, P., Burn, W. L., Harper, A. L., Hartley, S. E., Helgason, T., & Walker, H. F. (2023). Enhanced plant growth in the presence of earthworms correlates with changes in soil microbiota but not nutrient availability. *Geoderma*, 433, 116426.
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences*, 50(3), 346-363.

Hund-Rinke, K., & Wiechering, H. (2001). Earthworm avoidance test for soil assessments: an alternative for acute and reproduction tests. *Journal of Soils and Sediments*, 1, 15-20.

IBAMA. (2009). Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxico e afins. Brasília, DF, Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/avaliacao/2017/2017-07-25-manual_de_procedimento_agrotoxicos_ibama_2009-11.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2025.

IBAMA. (2021). Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos. Acesso em: 02 de mar de 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>

Ikeda, H., Callaham Jr, M. A., Shefferson, R. P., Wenk, E. S., & Fragoso, C. (2020). A comparison of latitudinal species diversity patterns between riverine and terrestrial earthworms from the North American temperate zone. *Journal of Biogeography*, 47(6), 1373-1382.

Inda Jr, A.V. (2002). Caracterização da goethita e hematita em solos poligenéticos, UFRGS, Porto Alegre.

Inda, A. V., Curcio, G. R., Gomes, J. B. V., Silva, S., Backes, J., Bizzi, N., Nilton, C. (2024). Mineralogia da fração argila e suas relações com o comportamento dos solos da 1ª Reunião de correlação e classificação de solos e vegetação fluvial (RCCSVF).

Instituto Agrônomo (IAC) (2001). Método de análise química para avaliação de solos tropicais. Campinas. 2001. Disponível em: <https://lab.iac.sp.gov.br/>

Irizar, A., Andriulo, A., Cosentino, D., & Améndola, C. (2010). Comparación de dos métodos de fraccionamiento físico de la materia orgánica del suelo. *Ciencia del suelo*, 28(1), 115-121.

ISO. (1993). International Organization for Standardization. ISO 11268-1: soil quality: effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*): part 1: M: determination of acute toxicity using artificial soil substrate. Geneva.

ISO. (2008). International Organization for Standardization. ISO 17512-1: soil quality: avoidance test for evaluating the quality of soils and the toxicity of chemicals: part 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneve.

- ISO. (2012) International Organization for Standardization. ISO 11268-2: Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 2: Determination of effects on reproduction to *Eisenia fetida* / *Eisenia andrei*. Geneve.
- James, S. W.; Bartz, M. L. C.; Stanton, D. W. G.; Conrado, A. C.; Dupont, L.; Taheri, S.; Silva, E.; Cunha, L.; Brown, G. G. (2019). A neotype for *Pontoscolex corethrurus* (Clitellata). Zootaxa, v. 4545, n. 1.
- Jänsch, S., Amorim, M. J., & Römbke, J. (2005). Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. Environmental Reviews, 13(2), 51-83. <https://doi.org/10.1139/a05-007>.
- Jat, H., Choudhary, M., Kakraliya, S., Gora, M., Kakraliya, M., Kumar, P., , P., Poonia, T., Mcdonald, A., Jat, M., Sharma, P., & Abdallah, A. (2022). A Decade of Climate-Smart Agriculture in Major Agri-Food Systems: Earthworm Abundance and Soil Physico-Biochemical Properties. Agronomy. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030658>.
- Jindaluang, W., Kheoruenromne, I., Suddhiprakarn, A., Singh, B. P., & Singh, B. (2013). Influence of soil texture and mineralogy on organic matter content and composition in physically separated fractions soils of Thailand. Geoderma, 195, 207-219.
- John, E. M., & Shaik, J. M. (2015). Chlorpyrifos: pollution and remediation. Environmental Chemistry Letters, 13, 269-291.
- Johnston, A. S., Sibly, R. M., & Thorbek, P. (2018). Forecasting tillage and soil warming effects on earthworm populations. Journal of Applied Ecology, 55(3), 1498-1509.
- Jones, E. W., Jackson, M. C., & Grey, J. (2016). Environmental drivers for population success: Population biology, population and community dynamics. Biology and ecology of crayfish, 251, 286.
- Jorge-Escudero, G., Ligrone, A., Lagerlöf, J., Martínez, C., Cadenazzi, M., & Pérez, C. (2024). Land use effect on dominance of native and exotic earthworm species in two contrasting rural landscapes. European Journal of Soil Biology. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2024.103618>.
- Joshi, N., & Dabral, M. (2008). Life cycle of earthworms *Drawida nepalensis*, *Metaphire houlleti* and *Perionyx excavatus* under laboratory controlled conditions. Life Science Journal, 5(4), 83-86.

- Kahle, M., Kleber, M., & Jahn, R. (2004). Retention of dissolved organic matter by phyllosilicate and soil clay fractions in relation to mineral properties. *Organic Geochemistry*, 35(3), 269-276.
- Kaiser, K., Eusterhues, K., Rumpel, C., Guggenberger, G., & Kögel Knabner, I. (2002). Stabilization of organic matter by soil minerals—investigations of density and particle size fractions from two acid forest soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165(4), 451-459.
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L., & Zech, W. (1997). Dissolved organic matter sorption on sub soils and minerals studied by ^{13}C NMR and DRIFT spectroscopy. *European Journal of Soil Science*, 48(2), 301-310.
- Kämpf, N., Curi, N., & Marques, J. J. (2009). Intemperismo e ocorrência de minerais no ambiente do solo. In: Melo, V. F. & Alleoni, L. R. F. (Eds). *Química e Mineralogia do Solo. Parte I: conceitos básicos*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1, 333-80.
- Kim, Y., Robinson, B., Boyer, S., Zhong, H., & Dickinson, N. (2015). Interactions of native and introduced earthworms with soils and plant rhizospheres in production landscapes of New Zealand. *Applied Soil Ecology*, 96, 141-150. <https://doi.org/10.1016/J.APSOIL.2015.07.008>.
- King, R., Vaughan, I., Bell, J., Bohan, D., & Symondson, W. (2010). Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. *Molecular Ecology*, 19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04602.x>.
- Klein, W., Bordeau, P., Haines, J. A., Klein, W., Krishna Murti, C. R. (1989). Mobility of environmental chemicals, including abiotic degradation, *Ecotoxicology and Climate*. SCOPE 38, 1989, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 65–78.
- Knäpper, U., & Freia, C. (1972). Dominanzverhältnisse der verschiedenen arten der gattung *Pheretima* in kulturböden von Rio Grande do Sul. *Pedobiologia*, 12(1), 23-25.
- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A., & Lombi, E. (2019). Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment international*, 132, 105078. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>.
- Kumar, S. S., Wani, O. A., Mir, S. A., Babu, S., Sharma, V., Chesti, M. U. H., ... & Yadav, D. (2022). Soil carbon dynamics in the temperate Himalayas: Impact of land use management. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 1009660.

- Kuperman, R. G., Checkai, R. T., Garcia, M. V. B., Römcke, J., Stephenson, G. L., & Sousa, J. P. (2009) State of the science and the way forward for the ecotoxicological assessment of contaminated land. *Pesquisa agropecuaria brasileira*, 44, 811-824.
- Laabs, V., Amelung, W., Pinto, A., & Zech, W. (2002). Fate of pesticides in tropical soils of Brazil under field conditions. *Journal of Environmental Quality*, 31(1), 256-268.
- Lal, R. (2015). Restoring soil quality to mitigate soil degradation. *Sustainability*, 7(5), 5875-5895. <https://doi.org/10.3390/su7055875>
- Lal, R. (2016). Soil health and carbon management. *Food and Energy Security*, 5(4), 212-222. <https://doi.org/10.1002/fes3.96>
- Lang, C.R., Moraes, A., Dominschek, R. et al. (2018). Sistemas integrados de produção agropecuária na promoção da intensificação sustentável. Boletim Técnico do Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2018.
- Langdon, C. J., Pearce, T. G., Meharg, A. A., & Semple, K. T. (2003). Interactions between earthworms and arsenic in the soil environment: a review. *Environmental Pollution*, 124(3), 361-373.
- Langenbach, T., Inácio, M. V. D. S., Aquino, A. M. D., & Brunninger, B. (2002) Influência da minhoca *Pontoscolex corethrurus* na distribuição do acaricida dicofol em um Argissolo. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 37, 1663-1668.
- Lardo, E., Palese, A., Arous, A., Xiloyannis, C. (2015) Apparent Electrical Conductivity as a Tool for earthworm parameter evaluation in a commercial orchard. *Acta Horticulturae*, 1084, 479-484.
- Lavelle, P. (1988). Earthworm activities and the soil system. *Biology and fertility of soils*, 6, 237-251. <https://doi.org/10.1007/BF00260820>
- Lavelle, P., Barois, I., Cruz, I., Fragoso, C., Hernandez, A., Pineda, A., & Rangel, P. (1987). Adaptive strategies of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta), a peregrine geophagous earthworm of the humid tropics. *Biology and Fertility of Soils*, 5, 188-194. <https://doi.org/10.1007/BF00256899>
- Lavelle, P., Barros, E., Blanchart, E., Brown, G., Desjardins, T., Mariani, L., & Rossi, J. P. (2001) SOM Management in the tropics: Why feeding the soil macrofauna? *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v.61, p.53 - 61.

- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., ... & Rossi, J. P. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, 42, S3-S15. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P. & Rossi, J.P. (2006) Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, v. 42, p. S3–S15.
- Lavelle, P.; Mathieu, J.; Spain, A.; brown, G.G.; Fragoso, C.; Lapied, E.; De Aquino, A.; Barois, I.; Barrios, E.; Barros, M.E.; Bedano, J.C.; Blanchart, E.; Caulfield, M.; Chagueza, Y.; Dai, J.; Decaëns, T.; Dominguez, A.; Dominguez, Y.; Feijoo, A.; Folgarait, P.; Fonte, S.J.; Gorosito, N; Huerta, E.; Jimenez, J.J.; Kelly, C.; Loranger, G.; Marchão, R.; Marichal, R.; Praxedes, C.; Rodriguez, L.; Rousseau, G.; Rousseau, L.; Ruiz, N.; Sanabria, C.; Suarez, J.C.; Tondoh, J.E.; De Valença, A.; Vanek, S.J.; Vasquez, J.; Velasquez, E.; Webster, E.; Zhang, C. (2022) Soil macroinvertebrate communities: A world-wide assessment. *Global Ecology and Biogeography*, v.31, p.1261-1276.
- Lavorenti, A. Comportamento dos herbicidas no meio ambiente. In: Workshop Sobre Biodegradação, 1996, Campinas. Anais. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1996. 256p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 5).
- Lehmann, J., & Joseph, S. (2015). Biochar for environmental management: an introduction. In *Biochar for environmental management* (pp. 1-13). Routledge.
- Lehmann, J., Bossio, D. A., Kögel-Knabner, I., & Rillig, M. C. (2020). The concept and future prospects of soil health. *Nature Reviews Earth & Environment*, 1(10), 544-553. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0080-8>
- Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., & Crowley, D. (2011). Biochar effects on soil biota—a review. *Soil biology and biochemistry*, 43(9), 1812-1836.
- Leitão. S. P. D. A. D. S. (2013). New improvements on pesticide ecological risk assessment on the soil-water interface. Tese de doutorado. Universidade de Lisboa. 229p.
- Leite, L. F. C., Mendonça, E. S., Neves, J. C. L., Machado, P. L. O. A., & Galvão, J. C. C. (2003). Estoques totais de carbono orgânico e seus compartimentos em Argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27, 821-832.

- Lenth R (2024). `_emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means_`. R package version 1.10.1, <<https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>>.
- Li, Y., Wang, J., & Shao, M. (2021). Assessment of earthworms as an indicator of soil degradation: A case?study on loess soils. *Land Degradation & Development*, 32, 2606 - 2617. <https://doi.org/10.1002/ldr.3928>.
- Lima Neto, J. D. A., Ribeiro, M. R., Corrêa, M. M., Souza-Júnior, V. S. D., Araújo Filho, J. C. D., & Lima, J. F. W. (2010). Atributos químicos, mineralógicos e micromorfológicos de horizontes coesos de Latossolos e Argissolos dos tabuleiros costeiros do estado de Alagoas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34, 473-486.
- Lima, S. S. D., Leite, L. F. C., Oliveira, F. D. C., & Costa, D. B. D. (2011). Atributos químicos e estoques de carbono e nitrogênio em argissolo vermelho-amarelo sob sistemas agroflorestais e agricultura de corte e queima no norte do Piauí. *Revista Árvore*, 35, 51-60.
- Liu, T., Chen, X., Gong, X., Lubbers, I. M., Jiang, Y., Feng, W., ... & Liu, M. (2019). Earthworms coordinate soil biota to improve multiple ecosystem functions. *Current Biology*, 29(20), 3420-3429.
- Lock, K., De Schamphelaere, K. A. C., & Janssen, C. R. (2002). The effect of lindane on terrestrial invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42, 217-221.
- Lowe, C. N., & Butt, K. R. (2007). Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: a critical review. *European Journal of Soil Biology*, 43, S281-S288.
- Maboeta, M. S., Reinecke, A. J., & Reinecke, S. A. (1999). Effects of low levels of lead on growth and reproduction of the Asian earthworm *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44(3), 236-240.
- Macdonald, D. (1983). Predation on earthworms by terrestrial vertebrates. , 393-414. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5965-1_35.
- Mangala, P., Pathiratne, A., Cornelis, A. M., Gestela, V., & de Silva, C. S. (2009). Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. *Pesticide Effects on Earthworms: A Tropical Perspective*. Amsterdam. 119p.
- Mao, L., Zhang, L., Zhang, Y., & Jiang, H. (2017). Ecotoxicity of 1,3-dichloropropene, metam sodium, and dazomet on the earthworm *Eisenia fetida* with modified artificial

- soil test and natural soil test. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22), 18692–18698. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9620-2>
- Marichal, R., Martinez, A. F., Praxedes, C., Ruiz, D., Carvajal, A. F., Oszwald, J., ... & Lavelle, P. (2010). Invasion of *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta) in landscapes of the Amazonian deforestation arc. *Applied Soil Ecology*, 46(3), 443-449.
- Marinissen. J. C. Y., & Didden. W. A. M. (1997). Influence of the enchytraeid worm *Buchholzia appendiculata* on aggregate formation and organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*. 29(3-4). 387-390.
- Marques, C., Pereira, R., & Gonçalves, F. (2009). Using earthworm avoidance behaviour to assess the toxicity of formulated herbicides and their active ingredients on natural soils. *Journal of Soils and Sediments*, 9(2), 137–147. doi:10.1007/s11368-009-0058-0.
- Marshall, C. B., & Lynch, D. H. (2020) Soil microbial and macrofauna dynamics under different green manure termination methods. *Appl Soil Ecol* 148:103505
- Martin, W. J., Sibley, P. K., & Prosser, R. S. (2024). Effect of insecticide exposure across multiple generations of the earthworm *eisenia andrei*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 43(9), 2058-2070. <https://doi.org/10.1002/etc.5948>.
- Mattos, B. S. D., Bertolino, A. V. F. A., & Bertolino, L. C. (2022). A influência do fogo nas propriedades de um solo sob manejo de agricultura de corte e queima em ambiente serrano no bioma de Mata Atlântica. *Sociedade & Natureza*, 34, e63656.
- McGinley, J., Harmon O'Driscoll, J., Healy, M. G., Ryan, P. C., Mellander, P. E., Morrison, L., ... & Siggins, A. (2022). An assessment of potential pesticide transmission, considering the combined impact of soil texture and pesticide properties: A meta analysis. *Soil use and Management*, 38(2), 1162-1171.
- Medina-Sauza, R. M., Álvarez-Jiménez, M., Delhal, A., Reverchon, F., Blouin, M., Guerrero-Analco, J. A., ... & Barois, I. (2019). Earthworms building up soil microbiota, a review. *Frontiers in Environmental Science*, 7, 81.
- Melo, V. F. & Wypych, F. (2009). Caulinita e haloisita. In: Melo, V. D. F., & Alleoni, L. R. F. *Química e Mineralogia do Solo. Parte I: conceitos básicos*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1: 427-504p.
- Melo, V. F., Costa, L. M., Barros, N. F., FONTES, M. F., & Novais, R. F. (1995). Reserva mineral e caracterização mineralógica de alguns solos do Rio Grande do Sul. *Revista brasileira de ciência do solo*, 19(2), 159-164.

- Melo, V. D. F., & Alleoni, L. R. F. (2019). Química e mineralogia do solo: conceitos básicos e aplicações. 1ª ed. Viçosa – MG: SBCS.
- Mestrinho, C C. (2009) Toxicidade aguda e rejeição ao fungicida oxicloreto de cobre para *Eisenia fetida* e *Pontoscolex corethrurus* (oligochaeta). 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Meurer, E. J. (2008). Fundamentos de química do solo. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 344 p.
- Mincarelli, L., Tiano, L., Craft, J. A., Marcheggiani, F., & Vischetti, C. (2019). Evaluation of gene expression of different molecular biomarkers of stress response as an effect of copper exposure on the earthworm *Eisenia andrei*. *Ecotoxicology*, 28(8), 938-948. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02093-3>.
- Müller F. *Lumbricus corethrurus*. *Arch fur Naturg*. 1857;6–113.
- Narayanan, M., Murugan, J. M., Kandasamy, G., Kandasamy, S., Nasif, O., Rajendran, M., & Pugazhendhi, A. (2022). The biotransformation potential of *Bacillus cereus* on β -cypermethrin to protect the earthworm (*Perionyx excavatus*) on insecticide-contaminated soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 68(7), 944-955
- Nascimento, R. Z. (2021). Degradação de clorpirifós em neossolo e cambissolo em Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Agroveterinárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. Universidade do Estado de Santa Catarina. 78p.
- Natal da Luz, T., Römbke, J., & Sousa, J. P. (2008). Avoidance tests in site specific risk assessment—influence of soil properties on the avoidance response of collembola and earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 27(5). 1112-1117.
- Nciizah, A. D., & Wakindiki, I. I. C. (2012). Particulate organic matter, soil texture and mineralogy relations in some Eastern Cape ecotopes in South Africa. *South African Journal of Plant and Soil*, 29(1), 39-46.
- Negreiros, R. S., Junior, E. S. F. P., de Souza, W. B., Justi, J., de Souza Negreiros, R., Ramos, J. C., & da Silva, A. N. (2020). Caracterização mineralógica de terra preta das Comunidades do Marajó e Gregostone, em Parintins, Amazonas, Brasil. *Brazilian Applied Science Review*, 4(5), 2882-2894.
- Neuhauser, E. F., Durkin, P. R., Malecki, M. R., & Anatra, M. (1986). Comparative toxicity of ten organic chemicals to four earthworm species. *Comparative*

- biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology, 83(1), 197-200.
- Ng, B., Chanabun, R., & Panha, S. (2019). Biological and physiological responses of *Perionyx excavatus* to abamectin. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 28309-28318.
- Niemeyer, J. C., Cardoso, E. J. B. N., Nunes, M. E. T., Alves, P. R. L., Martines, A. M., Andréa, M. M., Brown, G. G., Niva, C. C. (2019a). Preparo do substrato teste. In: Niva. C.C. Brown. G.G. editors. *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa; 2019. p 199-208.
- Niemeyer, J.C., Cardoso, E.J.B.N., Nunes, M.E.T., Lopes, P.R.L., Martines, A.M., de Andréa, M.M., Brown, G.G., Niva, C.C. (2019). Preparo do substrato teste. In: *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Niva, C.C.; Brown, G.G. (Eds.), Embrapa, Brasília, p. 142-151.
- Niemeyer. J. C., Alves. P. R. L., Nunes. M. E. T., Cardoso. E. J. B. N., Brown. G. G., Cantelli. K. B., ... & Baretta. D. (2019). Ensaio de comportamento de fuga. In: Niva. C.C. Brown. G.G. editors. *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa; 2019. p 199-208.
- Niemeyer. J. C., Alves. P. R. L., Nunes. M. E. T., Cardoso. E. J. B. N., Brown. G. G., Cantelli. K. B., ... & Baretta. D. (2019b). Ensaio de comportamento de fuga. In: Niva. C.C. Brown. G.G. editors. *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa; 2019. p 199-208.
- Niemeyer. J. C., Chelinho. S., & Sousa. J. P. (2017). Soil ecotoxicology in Latin America: Current research and perspectives. *Environmental toxicology and chemistry*. 36(7). 1795-1810.
- Niva CC, Brown GG. (2019). *Ecotoxicologia Terrestre Métodos e Aplicações dos Ensaio com Oligoquetas*. Niva CC, Brown GG, editors. Brasília, DF;. 258 p.
- Niva, C.C, Brown, G.G. (2019) *Ecotoxicologia Terrestre. Métodos e Aplicações dos Ensaio com Oligoquetas*. Embrapa, Brasília. 258 p.
- Niva. C. C., Brown. G. G. (2019). *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília. DF: Embrapa. 258p.
- Niva. C. C., Niemeyer. J. C., Júnior. F. M. R. D. S., Nunes. M. E. T., De Sousa. D. L., Aragão. C. W. S., ... & Römbke. J. (2016). Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course. *Environmental Science and Pollution Research*. 23. 11363-11378.

- Nunes, M., & Espíndola, E. (2012). 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*, 21, 1063-1071. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0859-6>.
- Nyffeler, M., Lapinski, W., Snyder, A., & Birkhofer, K. (2017). Spiders feeding on earthworms revisited: consumption of giant earthworms in the tropics. *Journal of Arachnology*, 45, 242 - 247. <https://doi.org/10.1636/JoA-17-013.1>.
- OECD. (1984). Organization for Economic Co-Operation and Development. Earthworm acute toxicity test. Paris. 9 p. (OECD. Guideline for testing of chemicals, 207).
- OECD. (2015) Organization for Economic Co-Operation and Development. Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/andrei*). Paris: OECD. Guidelines for testing of chemicals, 222. p. 19.
- Oksanen J, Simpson G, Blanchet F, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara R, Solymos P, Stevens M, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Borman T, Carvalho G, Chirico M, De Caceres M, Durand S, Evangelista H, FitzJohn R, Friendly M, Furneaux B, Hannigan G, Hill M, Lahti L, Martino C, McGlinn D, Ouellette M, Ribeiro Cunha E, Smith T, Stier A, Ter Braak C, Weedon J (2025). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.8-0, <https://vegandevs.github.io/vegan/>.
- Oliveira, D. A. (2019) Valores orientadores de prevenção para cobre e zinco em solos do estado de Santa Catarina (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages).
- Ortíz-Ceballos, A. I., Ortiz-Gamino, D., Andrade-Torres, A., Pérez-Rodríguez, P., & López-Ortega, M. (2019). *Pontoscolex corethrurus*: A homeless invasive tropical earthworm?. *Plos one*, 14(9), e0222337.
- Otunola, B. O., & Ololade, O. O. (2020). A review on the application of clay minerals as heavy metal adsorbents for remediation purposes. *Environmental Technology & Innovation*, 18, 100692.
- Owojori, O. J., Reinecke, A. J., & Rozanov, A. B. (2008) Effects of salinity on partitioning, uptake and toxicity of zinc in the earthworm *Eisenia fetida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2385-2393.
- Paoletti, M. G. (1999). The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. *Agriculture. Ecosystems & Environment*. 74(1-3). 137-155.

- Paraíba, L. C., Cerdeira, A. L., da Silva, E. F., Martins, J. S., & da Costa Coutinho, H. L. (2003). Evaluation of soil temperature effect on herbicide leaching potential into groundwater in the Brazilian Cerrado. *Chemosphere*, 53(9), 1087-1095.
- Pauli N, Barrios E, Conacher AJ, Oberthür T (2011) Soil macrofauna in agricultural landscapes dominated by the Quesungual Slash-and-Mulch Agroforestry System, western Honduras. *Appl Soil Ecol* 47(2):119–132
- Pelosi, C., Barot, S., Capowiez, Y., Hedde, M., & Vandebulcke, F. (2014). Pesticides and earthworms. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, 199-228.
- Pelosi, C., Bertrand, M., Thénard, J., & Mougin, C. (2015). Earthworms in a 15 years agricultural trial. *Applied Soil Ecology*, 88, 1-8. <https://doi.org/10.1016/J.APSSOIL.2014.12.004>
- Pélosi, C., Joimel, S., & Makowski, D. (2013). Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests – a meta-analysis. *Chemosphere*, 90(3), 895-900. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.034>.
- Pelosi, C., & Römbke, J. (2016). Are Enchytraeidae (Oligochaeta, Annelida) good indicators of agricultural management practices?. *Soil Biology and Biochemistry*. 100. 255-263.
- Peres, G., Cluzeau, D.; Ferrand, C.; & Peron, D. (2006) Earthworms used as indicators of agricultural managements. BIO-BIO Project. Biodiversity-Bioindication to evaluate soil health. RM Cenci and F. Sena (Eds), EUR, 22245, 107-115.
- Petit-dit-Grézéziat, L., Rault, M., Serbource, C., & Pelosi, C. (2024). Earthworm inoculation in degraded soils: A meta-analysis. *Applied Soil Ecology*, 204, 105745. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105745>.
- Phillips, H. R. P., Cameron, E. K., Eisenhauer, N., Burton, V. J., Ferlian, O., Jin, Y., Kanabar, S., Malladi, S., Murphy, R. E., Peter, A., Petrocelli, I., Ristok, C., Tyndall, K., van der Putten, W., & Beaumelle, L. (2024): Global changes and their environmental stressors have a significant impact on soil biodiversity-A meta-analysis. *iScience*, 27(9): 110540. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110540>
- Pierzynski, G. M., Sims, J. T., & Vance, G. F. (2000). Soils and environmental quality. PPDB: Pesticide Properties DataBase. University of Hertfordshire. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>. Acesso em: 04/01/2025.
- Prendergast-Miller, M., Jones, D., Berdeni, D., Bird, S., Chapman, P., Firbank, L., Grayson, R., Helgason, T., Holden, J., Lappage, M., Leake, J., & Hodson, M. (2021).

Arable fields as potential reservoirs of biodiversity: Earthworm populations increase in new leys.. The Science of the total environment, 789, 147880 .
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147880>.

R Core Team (2024). *_R: A Language and Environment for Statistical Computing_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

R Core Team. (2024) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <https://www.R-project.org/>

Rajagopalan, K., Christyraj, J. D. S., Chelladurai, K. S., Christyraj, J. R. S. S., Das, P., Roy, A., ... & Chemmet, N. S. M. (2024). The molecular mechanisms underlying the regeneration process in the earthworm, *Perionyx excavatus* exhibit indications of apoptosis-induced compensatory proliferation (AICP). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 60(3), 222-235. <https://doi.org/10.1007/s11626-023-00843-6>

Ramalho. B. Caracterização das interações organo-minerais em terra preta de índio. 2020. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo.

Ramalho. B. Carbono. nitrogênio e semiquinonas em Latossolo subtropical sob sistemas de preparo e integração lavoura-pecuária. 2016. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná. Curitiba (PR). 2019. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/42129/R%20%20D%20%20%20B%20RUNA%20RAMALHO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. .

Ramnarine, R., Voroney, R. P., Wagner-Riddle, C., & Dunfield, K. E. (2015). Conventional and no tillage effects on the distribution of crop residues and light fraction organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 79(1), 74-80.

Reinecke, A. J., & Hallatt, L. (1989). Growth and cocoon production of *Perionyx excavatus* (Oligochaeta). *Biology and fertility of soils*, 8, 303-306.

Reinecke, A. J., Reinecke, S. A., & Maboeta, M. S. (2001). Cocoon production and viability as endpoints in toxicity testing of heavy metals with three earthworm species. *Pedobiologia*, 45(1), 61-68.

Resende, M., Bahia Filho, A. F. C., & Braga, J. M. (1987). Mineralogia da argila de Latossolos estimada por alocação a partir do teor total de óxidos do ataque sulfúrico.

- Resende, M., Curi, N., Poggere, G. C., Barbosa, J. Z., Pozza, A. A. A., & Teixeira, A. D. S. (2019). Pedologia, fertilidade, água e planta: Inter-relações e aplicações. Lavras: Editora UFLA.
- Richards, L. A. (1954) Diagnostico y rehabilitacion de suelos salinos y sodicos. Ed. Limusa. México, 172p.
- Riedo, J., Wettstein, F. E., Rösch, A., Herzog, C., Banerjee, S., Büchi, L., ... & Van Der Heijden, M. G. (2021). Widespread occurrence of pesticides in organically managed agricultural soils—the ghost of a conventional agricultural past?. *Environmental science & technology*, 55(5), 2919-2928.
- Righi, G. (1984). *Pontoscolex* (Oligochaeta, Glossoscolecidae), a new evaluation. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 19(3), 159-177.
- Righi, G. 1997. Minhocas da América Latina: Diversidade, função e valor. In Anais do XXVI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Rio de Janeiro: SBCS, CD-Rom.
- Rodríguez-Castellanos, L., & Sanchez-Hernandez, J. C. (2007). Earthworm biomarkers of pesticide contamination: current status and perspectives. *Journal of Pesticide Science*, 32(4), 360-371.
- Römbke, J., Garcia, M. V., & Scheffczyk, A. (2007b). Effects of the fungicide benomyl on earthworms in laboratory tests under tropical and temperate conditions. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 53, 590-598.
- Römbke, J., Jänsch, S., & Didden, W. (2005). The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2), 249-265.
- Römbke, J., & Amorim, M. (2004). Tackling the heterogeneity of soils in ecotoxicological testing an euro-soil based approach. *Journal of Soils and Sediments*. 4. 276-281.
- Römbke, J., Jänsch, S., Junker, T., Pohl, B., Scheffczyk, A., & Schallnaß, H. J. (2006). Improvement of the applicability of ecotoxicological tests with earthworms. springtails. and plants for the assessment of metals in natural soils. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 25(3). 776-787.
- Römbke, J., Jänsch, S., Junker, T., Pohl, B., Scheffczyk, A., & Schallnaß, H. J. (2007a). The effect of tributyltin-oxide on earthworms. springtails. and plants in artificial and natural soils. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 52. 525-534.

- Roscoe, R., & Machado, P. D. A. (2002). Fracionamento físico do solo em estudos de matéria orgânica.
- Ross, D. S., Knowles, M. E., Juillerat, J. I., Görres, J. H., Cogbill, C. V., Wilmot, S., & D'Agati, K. (2021). Interaction of land use history, earthworms, soil chemistry and tree species on soil carbon distribution in managed forests in Vermont, USA. *Forest Ecology and Management*, 489, 119049.
- Salloum, M. J., Dudas, M. J., & McGill, W. B. (2001). Variation of 1-naphthol sorption with organic matter fractionation: the role of physical conformation. *Organic Geochemistry*, 32(5), 709-719.
- Sánchez-del Cid, E. L., Rendón-von Osten, J., González-Chávez, M. D. C. Á., Torres-Dosal, A., & Huerta-Lwanga, E. (2025). Pesticide residues in tropical agricultural soils: Distribution, seasonality, and earthworm ecological risk. *Emerging Contaminants*, 11(1), 100436.
- Santos, A., Gorte, T., Demetrio, W. C., Ferreira, T., Nadolny, H., Cardoso, G. B., Tonetti C., Ralisch R., Nunes AP., Coqueiro ACP., Leandro HCL., Wandscheer CAR., Bortoluzzi J., Brown GG & Bartz, M. L. (2018). Earthworm species in no-tillage agroecosystems and native Atlantic forests in Western Paraná, Brazil. *Zootaxa*, 4496(1), 517-534
- Santos, A., Gorte, T., Demetrio, W. C., Ferreira, T., Nadolny, H., Cardoso, G. B., Tonetti C., Ralisch R., Nunes AP., Coqueiro ACP., Leandro HCL., Wandscheer CAR., Bortoluzzi J., Brown GG & Bartz, M. L. (2018b) Earthworm species in no-tillage agroecosystems and native Atlantic forests in Western Paraná, Brazil. *Zootaxa*, 4496(1), 517-534.
- Santos, HG dos, Jacomine, PKT, Anjos, LHCdos, Oliveira, VA, Lumbreras, JF, Coelho, MR, Almeida, JA, Filho, JCA, Oliveira, JB, Cunha, TJF. (2018a) Sistema Brasileiro de Classificação de Solos – 5. ed. Embrapa, Brasília. 356 p.
- Sanyal, S., Dasgupta, R., Kaviraj, A., & Chakravorty, P. P. (2015). Comparative toxicity studies of four pesticides on the epigeic earthworm *Perionyx excavatus* in two different soil media. *EM International*, 34(1), 47-51.
- Sapbamrer, R., & Chittrakul, J. (2022). Determinants of consumers' behavior in reducing pesticide residues in vegetables and fruits, Northern Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(20), 13033.

- Schäfer. R. B., Liess. M., Altenburger. R., Filser. J., Hollert. H., Roß-Nickoll. M., ... & Scheringer. M. (2019). Future pesticide risk assessment: narrowing the gap between intention and reality. *Environmental Sciences Europe*. 31(1). 1-5.
- Schiedeck, G., Pasini, A., Alves, P.R.L., Niva, C.C., Cantelli, K., Buch, A.C., Brown, G.G., Martin, J.D. (2019). Criação e manutenção dos organismos. In: *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Niva, C.C.; Brown, G.G. (Eds.), Embrapa, Brasília, p. 81-132.
- Schirrmann, M., Joschko, M., Gebbers, R., Kramer, E., Zorner, M., Baarkusky, D., Timmer, J. (2016) Proximal Soil Sensing – A Contribution for Species Habitat Distribution Modelling of Earthworms in Agricultural Soils? *PlosOne*, 11, e0158271
- Séquaris, J. M., Lavoretti, A., & Burauel, P. (2005). Equilibrium partitioning of ¹⁴C-benzo (a) pyrene and ¹⁴C-benazolin between fractionated phases from an arable topsoil. *Environmental Pollution*, 135(3), 491-500
- Sharma, P., Laor, Y., Raviv, M., Medina, S., Saadi, I., Krasnovsky, A., Vager, M., Levy, G., Bar-Tal, A., & Borisover, M. (2017). Compositional characteristics of organic matter and its water-extractable components across a profile of organically managed soil. *Geoderma*, 286, 73-82. <https://doi.org/10.1016/J.Geoderma.2016.10.014>.
- Silva, E. R. (2022). Solos com fragipã em região subtropical do Brasil: da paisagem à mineralogia. Tese de doutorado no programa de ciência do solo, UFRGS, Porto Alegre –RS. 89p.
- Silva, M. D. S., Cocenza, D. S., Rosa, A. H., & Fraceto, L. F. (2012). Efeito da associação do herbicida clomazone a nanoesferas de alginato/quitosana na sorção em solos. *Química Nova*, 35, 102-107.
- Silva, M. L. N., Portela, J. C., Sobrinho, F. E., Cavalcante, J. S. J., Rebouças, C. A. M., & da Silva Dias, N. (2014). Topossequência de Neossolos na zona rural de Florânia, Rio Grande do Norte. *Agropecuária Científica No Semiárido*, 10(1), 22-32.
- Silva, S. H. G., Ribeiro, D., Dijair, T. S. B., Silva, F. M., Teixeira, A. F. D. S., Andrade, R., Mancini, M., Guilherme, L. R. G., Curi, N. (2023). Different Quartz Varieties Characterized by Proximal Sensing and Their Relation to Soil Attributes. *Minerals*, 13(4), 529.
- Silva, V., Mol, H. G., Zomer, P., Tienstra, M., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2019). Pesticide residues in European agricultural soils—A hidden reality unfolded. *Science of the Total Environment*, 653, 1532-1545.

- Singer, A. C., W. Jury, E. Luepromchai, C.-C. Yahng & D. E. Crowley. 2001. Contribution of earthworms to PCB bioremediation. *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 765–776.
- Singh J, Cameron E, Reitz T, Schädler M, Eisenhauer N (2020) Grassland management effects on earthworm communities under ambient and future climatic conditions. *Euro J Soil Sci* 72(1):343–355
- Sisinno. C. L. S., Niemeyer. J. C., Segat. J. C., Oliveira Filho. L. C. I., Niva. C. C., & Brown. G. G. (2019). Importância e aplicações dos ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas. In: Niva. C.C. Brown. G.G. editors. *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasilia. DF: Embrapa; 2019. p. 258.
- Six, J., Feller, C., Denef, K., Ogle, S., de Moraes Sa, J. C., & Albrecht, A. (2002). Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils-Effects of no-tillage. *Agronomie*, 22(7-8), 755-775.
- Smith, R. G., McSwiney, C. P., Grandy, A. S., Suwanwaree, P., Snider, R. M., & Robertson, G. P. (2008). Diversity and abundance of earthworms across an agricultural land-use intensity gradient. *Soil and Tillage Research*, 100(1-2), 83-88.
- Smith, P., Poch, R. M., Lobb, D. A., Bhattacharyya, R., Alloush, G., Eudoxie, G. D., ... & Hallett, P. (2024). Status of the World's Soils. *Annual Review of Environment and Resources*, 49.
- Soares, K., Mariano, W., & Paulino, M. (2020). Avoidance test with earthworms (*Eisenia andrei*) in natural soil treated with a *Bacillus thuringiensis*-based biopesticide to soil quality evaluation. *Research, Society and Development*, 9. <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I8.5774>.
- Soulas, G., & Lagacherie, B. (2001). Modelling of microbial degradation of pesticides in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 33, 551-557. <https://doi.org/10.1007/s003740100363>.
- Spadotto, C. A., Gomes, M. A. F., Luchini, L. C., & De Andréa, M. M. (2004). Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações.
- Spurgeon, D. J., Keith, A. M., Schmidt, O., Lammertsma, D. R., & Faber, J. H. (2013) Land-use and land-management change: relationships with earthworm and fungi communities and soil structural properties. *BMC ecology*, 13, 1-13.
- Stephenson, G. L., Kaushik, A., Kaushik, N. K., Solomon, K. R., Steele, T., & Scroggins, R. P. (1998). Use of an avoidance-response test to assess the toxicity of contaminated soils to earthworms. In: Sheppard, S.; Bembridge, J.; Holmstrup, M.;

- Posthuma, L. (Ed.). Advances in earthworm ecotoxicology. Pensacola: Setac Press, p. 67-81.
- Suthar, S. (2007) Nutrient changes and biodynamics of epigeic earthworm *Perionyx excavatus* (Perrier) during recycling of some agriculture wastes. Bioresource Technology, 98(8), 1608-1614.
- Sutri, M., Ivask, M., Kuu, A., Escuer-Gatius, J., Reintam, E., & Shanskiy, M. (2024). The effects of agricultural practices on earthworm communities in Estonia. European Journal of Soil Biology. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2024.103662>.
- Szoboszlay, M., Dohrmann, A. B., Poeplau, C., Don, A., & Tebbe, C. C. (2017). Impact of land-use change and soil organic carbon quality on microbial diversity in soils across Europe. FEMS Microbiology Ecology, 93(12), fix146.
- Taheri, S., Decaëns, T., Cunha, L., Brown, G. G., Da Silva, E., Bartz, M. L. C., ... & Dupont, L. (2020). Genetic evidence of multiple introductions and mixed reproductive strategy in the peregrine earthworm *Pontoscolex corethrurus*. Biological Invasions, 22, 2545-2557.
- Taheri, S., James, S., Roy, V., Decaëns, T., Williams, B. W., Anderson, F., Rougerie, R.; Chang, C.-H.; Brown, G. G.; Cunha, L.; Stanton, D. W. G.; Da Silva, E.; Chen, J.-H.; Lemmon, A. R.; Moriarty Lemmon, E.; Bartz, M.; Baretta, D.; Barois, I.; Lapied, E.; Coulis, M.; Dupont, L. (2018). Complex taxonomy of the 'brush tail' peregrine earthworm *Pontoscolex corethrurus*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 124, 60-70. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.02.021.
- Tang, F. H., & Maggi, F. (2021). Pesticide mixtures in soil: a global outlook. Environmental Research Letters, 16(4), 044051.
- Tariq, M., Afzal, S., & Hussain, I. (2006). Degradation and persistence of cotton pesticides in sandy loam soils from Punjab, Pakistan.. Environmental research, 100 2, 184-96 . <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2005.05.002>.
- Tiberg, E. (1998). Nordic Reference Soils: 1. Characterisation and Classification of 13 Typical Nordic Soils; 2. Sorption of 2. 4-D. Atrazine and Glyphosate (No. 537). Nordic Council of Ministers.
- Van Capelle, C., Schrader, S., & Brunotte, J. (2012) Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota—A review with a focus on German data. European Journal of Soil Biology, 50, 165-181.

- Van de Weerd, H., Leijnse, A., & Van Riemsdijk, W. H. (1998). Transport of reactive colloids and contaminants in groundwater: effect of nonlinear kinetic interactions. *Journal of Contaminant Hydrology*, 32(3-4), 313-331.
- Van Der Ent, A., & Lambers, H. (2016) Plant-soil interactions in global biodiversity hotspots. *Plant and Soil*, 403, 1 - 5. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2919-9>.
- van Dijk M, Morley T, Rau ML, Saghai Y (2021) A metaanalysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nat Food* 2:494–501. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>.
- Van Gestel. C. A. M., & Weeks. J. M. (2004). Recommendations of the 3rd international workshop on earthworm ecotoxicology. Aarhus. Denmark. August 2001. *Ecotoxicology and environmental safety*. 57(1). 100-105.
- Van Groenigen, J. W., Lubbers, I. M., Vos, H. M., Brown, G. G., De Deyn, G. B., & Van Groenigen, K. J. (2014). Earthworms increase plant production: a meta-analysis. *Scientific reports*, 4(1), 6365. <https://doi.org/10.1038/srep06365>.
- Venter, J. M., & Reinecke, A. J. (1988). The life-cycle of the compost worm. *African Zoology*, 23(3), 161-165.
- Vezzani FM, Mielniczuk J. (2011) *O Solo como Sistema*. Curitiba. 104 p.
- Vieira, F. C. B., Bayer, C., Zanatta, J. A., Dieckow, J., Mielniczuk, J., & He, Z. L. (2007). Carbon management index based on physical fractionation of soil organic matter in an Acrisol under long-term no-till cropping systems. *Soil and Tillage Research*, 96(1-2), 195-204.
- Vijver, M. G., Vink, J. P., Miermans, C. J., & van Gestel, C. A. (2003). Oral sealing using glue: a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms. *Soil biology and biochemistry*, 35(1), 125-132.
- Voelz, J. L., Arnold, W. A., & Penn, R. L. (2018). Redox-induced nucleation and growth of goethite on synthetic hematite nanoparticles. *American Mineralogist*, 103(7), 1021-1029.
- Voltr, V., Menšík, L., Hlisnikovský, L., Hruška, M., Pokorný, E., & Pospíšilová, L. (2021). The Soil Organic Matter in Connection with Soil Properties and Soil Inputs. *Agronomy*, 11, 779. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11040779>.
- Vos, H., Koopmans, G., Ferron, L., Oenema, O., & Van Groenigen, J. (2022). `Do earthworms increase grass biomass production and phosphorus uptake under field conditions?. *Applied Soil Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104598>.

- Vršič S, Breznik M, Pulko B, Rodrigo-Comino J (2021) Earthworm abundance changes depending on soil management practices in Slovenian Vineyards. *Agronomy* 11:1241. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061241>
- Wall, D., Nielsen, U., & Six, J. (2015) Soil biodiversity and human health. *Nature*, 528, 69-76. <https://doi.org/10.1038/nature15744>.
- Wang, L., Huang, X., Laserna, A. K. C., & Li, S. F. Y. (2018). Untargeted metabolomics reveals transformation pathways and metabolic response of the earthworm *Perionyx excavatus* after exposure to triphenyl phosphate. *Scientific Reports*, 8(1), 16440.
- Wang, P., & Keller, A. A. (2009). Sorption and desorption of atrazine and diuron onto water dispersible soil primary size fractions. *Water Research*, 43(5), 1448-1456.
- Weber, O. L. D. S., Chitolina, J. C., Camargo, O. A. D., & Alleoni, L. R. F. (2005). Cargas elétricas estruturais e variáveis de solos tropicais altamente intemperizados. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29, 867-873.
- White, B. P., Pilgrim, E. M., Boykin, L. M., Stein, E. D., & Mazor, R. D. (2014). Comparison of four species-delimitation methods applied to a DNA barcode data set of insect larvae for use in routine bioassessment. *Freshwater Science*, 33(1), 338-348.
- WRB - World Reference Base for Soil Resource. (2015). International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Rome: FAO, 2015. 192 p. (World Soil Resources Reports, 106). Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i3794en/i3794en.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2024.
- Xie T, Wang M, Chen W, Uwizeyimana H (2018) Impacts of urbanization and landscape patterns on the earthworm communities in residential areas in Beijing. *Sci Total Environ* 626:1261–1269
- Yan, Y., Zhai, J., Wang, L., & Wang, X. (2024). Response and defense mechanisms of the earthworms *Eisenia foetida* to natural saline soil stress. *Science of The Total Environment*, 951, 175480. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175480>
- Yasmin, S., & D' Souza, D. (2010). Effects of pesticides on the growth and reproduction of earthworm: a review. *Applied and Environmental soil science*, 2010(1), 678360.
- Zanello, S. (2016). Metais HPAs em matrizes ambientais ao longo do trecho rodoviário entre Curitiba e Ponta Grossa-PR. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, UFPR, Curitiba-PR. 137p.

- Zhang, C., Zhou, T., Du, Z., Juhasz, A., Zhu, L., Wang, J., Wang, J., & Li, B. (2019). Applying fungicide on earthworms: Biochemical effects of *Eisenia fetida* exposed to fluoxastrobin in three natural soils.. *Environmental pollution*, 113666 . <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113666>.
- Zhang, H., Yang, X. D., Du, J., & Wu, Y. X. (2008) Influence of soil temperature and moisture on the cocoon production and hatching of the exotic earthworm *Pontoscolex corethrurus*.
- Zhang, H., Yang, X. D., Du, J., & Wu, Y. X. (2008). Influence of soil temperature and moisture on the cocoon production and hatching of the exotic earthworm *Pontoscolex corethrurus*.
- Zhang, X., Wang, H., He, L., Lu, K., Sarmah, A., Li, J., ... & Huang, H. (2013). Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 8472-8483.
- Zinn, Y. L., Lal, R., & Resck, D. V. (2005). Texture and organic carbon relations described by a profile pedotransfer function for Brazilian Cerrado soils. *Geoderma*, 127(1-2), 168-173.