

Revista de Monografias Ambientais – REMOA, Santa Maria, v.14, n.3, p.18-26, Set-Dez, 2015.

ONOFRE, Yasmin Silva et al. Adequação dos municípios de pequeno porte à lei da política nacional de resíduos sólidos (pnrs): um estudo em cinco municípios mineiros (barbacena, antonio carlos, ibertioga, juiz de fora e santos dumont). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 5, 2014. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: IBEAS, 2014. Disponível em: < <http://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2014/III-035.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2015.

PAULILLO, Luiz Fernando. **Redes de poder & Territórios Produtivos**. São Carlos: RIMA, 2000.

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE JAHU. **Plano Municipal de Saneamento Básico**: Abastecimento de água potável - esgotamento sanitário - drenagem urbana e manejo de águas pluviais - gestão integrada de resíduos sólidos. Jahu, 2013. Disponível em: < <http://www.jau.sp.gov.br>>. Acesso em: 25 Agos.2015.

PUPIN, Patrícia Lopes Ferreira; BORGES, Ana Claudia Giannini. Acertos e contradições na interpretação da Lei 12.305/2010 nos Planos Municipais de Gestão Integrada de Resíduos Sólidos da Microrregião de Jaboticabal. **Revista Nacional de Gerenciamento de Cidades**, Tupã, v.3, n.15, pp. 158-175, 2015.

REZENDE, J. H. et al. Composição gravimétrica e peso específico dos resíduos sólidos urbanos em Jaú (SP). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.18 n.1, p. 01-08, jan/mar 2013. Disponível em < <http://www-periodicos-capes-gov-br>> Acesso em: 22 dezembro 2015.

TEIXEIRA, Saulo Silva; BOAVENTURA, Camila Porto. Políticas Públicas Municipais e Gestão de Resíduos Sólidos Urbanos: Um estudo na cidade de Vitória da Conquista – BA à luz da Política

Nacional de Resíduos Sólidos. In: SEMANA DO ADMINISTRADOR DO SUDOESTE DA BAHIA (SEMAD), 17. **Anais..** Salvador, v. 2, n.2, 2014.

ZANINI, Sandra Rejane Dias; LESSA, Viviane Nunes. Gestão de Resíduos Sólidos: O Resíduo Urbano e sua alocação no Município de Pelotas. **Revista Eletrônica Academicus –REA**, v.1,n.1, Jan-Jun. 2013.

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO FUNGICIDA PIRIMETANIL, UTILIZANDO A ESPÉCIE *Eisenia fetida* (OLIGOCHAETA: LUMBRICIDAE)

FUTENMA DE LIMA, Mariana.^{1*} – Mestranda em P.P.G. em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente – Universidade de Araraquara (UNIARA).

GORNI, Guilherme Rossi.²; RIBEIRO, Maria Lúcia.² – Docentes do P.P.G. em Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente – Departamento de Ciências Biológicas da Saúde – Universidade de Araraquara (UNIARA).

*Autor para correspondência e-mail: futenma19@gmail.com

Recebido em: 17/11/2017
Aprovação final em:20/03/2018

RESUMO

Devido às ações antrópicas o nível de poluição vem se tornando cada vez mais preocupante; por esse motivo estudos vêm sendo realizados a fim de amenizar os impactos causados ao meio ambiente nos seus três compartimentos: água, ar e solo. Dentre os fatores que agravam a poluição do solo, os fungicidas são citados como um dos produtos químicos mais utilizados na agricultura convencional. Este trabalho toma como base conceitos da ecotoxicologia, visando avaliar a toxicidade aguda do fungicida Pirimetanil (PIR), por meio de bioensaios, utilizando organismos terrestres da espécie *Eisenia fetida* (SAVIGNY, 1826). Esse organismo foi escolhido por apresentar grande importância ecológica ao ambiente, sensibilidade a substâncias químicas e facilidade de ser mantido em laboratório. O primeiro resultado observado foi o comportamento de ‘evitação’ dos organismos, descrito em testes denominados ‘*Avoidance*’. Resultados referentes à toxicidade aguda demonstraram uma taxa de mortalidade, após 72h de exposição, de 100, 80, 60, 60 e 4 % respectivamente para as concentrações de 1,0; 0,7; 0,5; 0,3; 0,1 mg L⁻¹. O controle experimental apresentou 0% de mortalidade. Os resultados apontam que o fungicida PIR promove ação deletéria aos organismos da espécie *E. fetida*, contribuindo para o avanço dos estudos sobre esse tema e abre caminhos para novas pesquisas, com o intuito de apontar soluções para amenizar o impacto dessa substância ao meio ambiente e aos os organismos ali presentes.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicologia; Fauna terrestre; Agrotóxico.

TOXICITY EVALUATION OF FUNGICIDE PYRIMETHANIL ON *EISENIA FETIDA* (OLIGOCHAETA: LUMBRICIDAE)

ABSTRACT

Several studies have been applied to decrease impacts to air, soil and water caused by human activities, since level of pollution is a concern. Among the worsen factors to soil pollution is the use of fungicides, widely applied in the conventional agriculture. Taking into account ecotoxicological concepts, this work aims to evaluate acute toxicity of fungicide pyrimethanil (PYR) through bioassays with the terrestrial organism *Eisenia fetida* (SAVIGNY, 1826). *Eisenia fetida* was chosen due to its considerable ecological importance to the environment and chemical sensitivity and it is easy to maintain under laboratory conditions. The first observed result was the ‘escape’ behavior of the organisms, described in tests defined as ‘*Avoidance*’. After 72 hours of exposure, results of acute toxicity showed a mortality rate of 100, 80, 60, 60 and 4% respectively for the concentrations of 1.0, 0.7, 0.5, 0.3 and 0.1 mg L⁻¹. Control conditions did not showed mortality. As observed, the PYR fungicide promotes deleterious action to the *E. fetida* organisms. The results contribute to studies on this theme and open opportunities for new research projects to point out solutions to decrease the impact of fungicides to the environment and to *Eisenia fetida*.

KEYWORDS: Ecotoxicology; Terrestrial fauna; Pesticide.

INTRODUÇÃO

O nível de poluição vem sendo cada vez mais preocupante, considerando que quanto mais uma cidade evolui, cresce e se expande aumentam, em consequência, os resíduos poluentes por serem proporcionais ao crescimento. Por este motivo estudos vêm sendo realizados a fim de amenizar o impacto da poluição em nosso planeta (DERISIO, 2012).

Segundo a legislação brasileira, poluição é a degradação da qualidade ambiental, resultante de atividades que direta ou indiretamente prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população, criando condições adversas às atividades sociais e econômicas, afetando desfavoravelmente a biota, as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente e lançando materiais ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos no artigo 3º, inciso III, da Lei 6.938/81 (BRASIL, 1981). O solo é uma das áreas mais afetadas pela poluição, que pode ser causada por motivos naturais, mas em grande maioria é ocasionada por ações antrópicas como, por exemplo, desmatamentos, fertilização, monocultura, mineração e o uso abusivo de agrotóxicos, como pesticidas e fungicidas (GUNTHER, 2005). Segundo Araújo e Monteiro (2007) os usos e as atividades praticadas no solo, associados ao sistema de manejo utilizado e a aplicação indiscriminada de pesticidas e fertilizantes, tem causado grandes alterações nas propriedades físicas e químicas do mesmo.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o mercado brasileiro de pesticidas cresceu 190%, ritmo muito mais acentuado do que o registrado pelo mercado mundial (93%) entre 2000 e 2010 (BRASIL, 2012). Estudos em várias regiões do país e do mundo evidenciam os problemas relacionados aos efeitos adversos dessas substâncias para a saúde humana e para o meio ambiente (MOREIRA et al., 2002; BARBOSA, 2014; RIGOTTO; VASCONCELOS; ROCHA, 2014). Dentre os grupos de produtos

químicos utilizados na agricultura contra patógenos, os fungicidas correspondem ao o terceiro grupo mais aplicado, representando aproximadamente 23% das vendas no mercado de agroquímicos (GRUBE et al., 2011).

Com bases nos dados da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) uma substância química muito utilizada, da classe dos fungicidas, presente como princípio ativo do fungicida Mythos® é o Pirimetanil (PIR) (Figura 1). Segundo registro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) esse fungicida é classificado como muito perigoso ao meio ambiente (CLASSE II) e é considerado um produto altamente persistente no meio ambiente. Esse princípio ativo afeta a biossíntese de metionina fúngica, é amplamente utilizado contra o mofo cinzento *Botrytis cinerea* e outros fungos fitopatogênicos em videiras, porém também é muito aplicado em culturas de diversas frutas e legumes (EFSA, 2011; MÜLLER et al., 2012).

Para alguns pesquisadores o PIR é considerado de baixo risco ecológico quando aplicado de acordo com as práticas agrícolas recomendadas. No entanto, o potencial de toxicidade dessa substância para a biota, incluindo os seres humanos, é motivo de preocupação (COLEMAN et al., 2012; ORTON et al., 2011; SEELAND; OEHLMANN; MÜLLER, 2012). O risco de toxicidade desse fungicida tende a aumentar, segundo alguns pesquisadores, em situações de derramamentos acidentais, armazenamento inadequado, mistura, carregamento

ou o descarte inadequado de sua embalagem contendo resíduos da substância (GIGER, 2009; VEGA; COVELO; ANDRADE, 2007). É possível encontrar dados registrados pela ANVISA de Limite Máximo de Resíduo (LMR) permitido nos alimentos cultivados com o uso do fungicida, porém pouco se sabe sobre a concentração máxima permitida que possa ser encontrada nos solos (BRASIL, 2016).

Devido a crescente preocupação dos efeitos de substâncias químicas, desenvolvidas para uso nos diferentes ramos, como o da agricultura e agropecuária sobre os organismos vivos, surge a linha de pesquisa denominada ecotoxicologia, uma ferramenta auxiliar na análise de impactos ambientais causados por contaminantes (WALKER, 2006).

Visto que, a preocupação com o uso indiscriminado de substâncias químicas em diferentes cultivos é crescente, métodos para a determinação da biodisponibilidade dessas substâncias e contaminantes no solo vêm sendo desenvolvidos. Um exemplo desses métodos é o ensaio de comportamento denominado 'Avoidance', que consiste em submeter os organismos teste a diferentes concentrações da substância a ser analisada, onde os mesmos podem apresentar um comportamento de evitação ao solo contaminado. Estes estudos possuem grande importância ecológica, pois apontam o potencial tóxico das substâncias aos organismos que compõem a biota local, portanto podem ser utilizados como indicadores da qualidade do solo (ISO, 2008). Existem também estudos, como por exemplo, o de Santorufo, Gestel e Maisto (2012), que objetivam avaliar a toxicidade de solos já contaminados localizados em centros urbanos.

Os ensaios para a determinação de toxicidade de algumas substâncias são realizados com organismos de espécies diferentes, selecionados de acordo com o tipo de ambiente em que esse ensaio será realizado. A metodologia é padronizada por órgãos ou institutos ambientais, que visam sua importância ecológica, e a estabilidade dos organismos em laboratório.

No caso dos solos, a Classe Oligochaeta tem

sido largamente utilizada como organismos-teste em ensaios ecotoxicológicos (NAHMANI; HODSON; BLACK, 2007). Seu amplo emprego em bioensaios se justifica pelo fácil cultivo em laboratório; por ingerirem grande quantidade de solo, por representarem mais de 90% da pedobiomassa (quando presentes); por servirem de alimento a diversas espécies de animais (sendo, portanto, elo importante da cadeia trófica terrestre); e por serem sensíveis à presença de agentes tóxicos (LIU et al., 2013). Existem, portanto, estudos como o de Wang et al. (2012) os quais visam avaliar a toxicidade de inseticidas para macro invertebrados utilizando bioensaio de toxicidade aguda com papel filtro e de toxicidade crônica em solo, onde é possível identificar se o organismo é suscetível aos diferentes tipos de pesticidas, e também determinar a concentração letal de cada substância que, quando exposta em um dado período de tempo matará 50% dos animais do teste (CL 50).

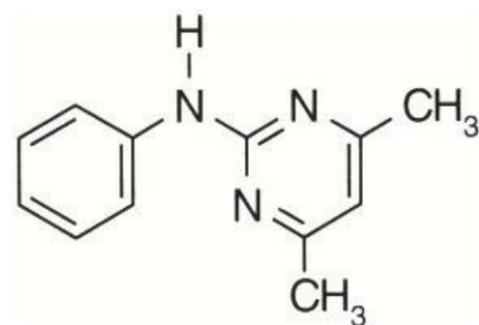
Os oligoquetos apresentam extrema importância na formação do solo, pois, em grande maioria dos ecossistemas tropicais correspondem 40 a 90% de sua biomassa (FRAGOSO et al., 1999; RIGHI, 1997). Dentre as atuações desses organismos no solo estão: decomposição de resíduos de plantas e ciclagem de nutrientes, formação do húmus e de agregados de solo, melhoramento da fertilidade e porosidade do solo, aumento da capacidade de infiltração, drenagem, retenção de água e ar e no transporte de microrganismos e nutrientes do solo por meio dos canais formados por sua escavação (INGHAM, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda do princípio ativo Pirimetanil (PIR) para a espécie terrestre *Eisenia fetida* (SAVIGNY, 1826) por meios de bioensaios, bem como determinar a CL50 da substância e analisar o comportamento dos organismos quando expostos a diferentes concentrações deste composto.

MATERIAL E MÉTODOS

A fim de encontrar concentrações que possibilitem um teste confiável, baseado nos procedimentos

Figura 1 - Fórmula estrutural do PIR



Fonte: ANVISA (2016).

estabelecidos pela OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) com relação a testes de toxicidade aguda utilizando oligoquetos terrestres, as soluções teste foram preparadas em três concentrações diferentes para a realização dos testes preliminares; posteriormente mais duas concentrações foram preparadas para o teste definitivo, totalizando assim, cinco concentrações do PIR (1; 0,7; 0,5; 0,3 e 0,1 mg) e água deionizada como substância controle.

Os testes de toxicidade aguda preliminares, assim como os definitivos, foram realizados segundo os procedimentos adaptados do protocolo 207 da OECD (Organization for Economic Cooperation and Development, 1984). Organismos da espécie *E. fetida* foram mantidos e cultivados em solo vegetal, armazenados em caixas plásticas, em laboratório com foto período de 12 horas e temperatura $22 \pm 2^\circ\text{C}$. A umidade, controlada através de análise gravimétrica e mantida entre 60 e 80%. Para a manutenção da cultura o solo foi umedecido, uma vez por semana, e revolvido para manter um nível de aeração ideal. Os organismos utilizados nos experimentos foram espécies adultas com clitelo desenvolvido (> 2 meses).

Os organismos teste passaram por processo de purgação 24h antes do início dos testes. Este processo consiste em condicionar os organismos em papel absorvente umedecido com água deionizada e mantê-los no escuro em câmara de germinação com temperatura controlada entre $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Dessa forma os organismos eliminam seu conteúdo intestinal. Posteriormente, os organismos foram lavados, secos e colocados (individualmente) em recipientes plásticos de 5,0 cm de altura por 8,5 cm de diâmetro recobertos por papel filtro umedecido com 5 ml de cada concentração da solução-teste (PIR) e do controle (água deionizada). Os recipientes foram vedados, com tampas perfuradas para possibilitar a circulação de ar e, em seguida transferidos para uma bandeja e mantidos durante 72h em ambiente aclimatado. Os ensaios foram desenvolvidos compreendendo dez réplicas para cada concentração e controle.

As avaliações foram realizadas em intervalos de 24h, sendo contabilizada a mortalidade dos indivíduos expostos. Ademais, o comportamento de “Avoidance” foi observado e registrado ao longo do período de exposição.

A diferença estatística da mortalidade entre as diferentes faixas de concentração do PIR foi testada aplicando a Análise de Variância (One-way ANOVA; $\alpha=0,05$). O cálculo da CL50 foi realizado com auxílio do pacote “drc” (RITZ & STREIBIG, 2005). Ambas as análises foram realizadas no software “R” (R Core Team, 2017).

Este experimento conferiu ao organismo uma exposição direta e obrigatória com a substância, portanto trata-se de um teste de extrema importância, pois tem a capacidade de demonstrar a real toxicidade da substância ao organismo.

RESULTADOS

A avaliação do PIR, além de seus objetivos estabelecidos, como obter resultados em relação a sua toxicidade aguda para espécies terrestres, bem como determinar a CL50 e analisar o comportamento dos organismos expostos a diferentes concentrações do composto, pôde fornecer subsídios para utilização adequada do mesmo. Um dos efeitos dessa substância foi avaliado por meio de uma variável biológica, a letalidade. O experimento conferiu ao organismo uma exposição direta e obrigatória com a substância sendo que os resultados referentes à toxicidade aguda demonstraram taxa de mortalidade dos organismos terrestres da espécie *E. fetida* de 100% para $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, 80% para $0,7 \text{ mg L}^{-1}$, 60% para $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, 60% para $0,3 \text{ mg L}^{-1}$, 4% para $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ 0% para o controle e CL50 (concentração letal para 50% dos organismos expostos) de $0,56 \text{ mg L}^{-1}$ para testes com duração de 72h. Contudo o teste apresentou um erro padrão de $0,025 \text{ mg L}^{-1}$ o que demonstra alta confiabilidade do experimento.

Com base nas observações comportamentais fica claro que espécimes de *E. fetida*, quando expostos às concentrações mais elevadas da solução teste ($1,0$; $0,7$ e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$) tiveram reação negativa

evidente (Tabela 1). Os organismos tiveram reação de evitação, tentando subir na lateral do recipiente plástico visando evitar o contato direto com a substância. Além disso, após 24h de teste, observou-se severa deterioração em partes corporais dos organismos expostos à maior concentração de PIR ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) (Figura 2).

Tanto para os testes preliminares de toxicidade aguda quanto para os testes definitivos, os resultados demonstraram que a toxicidade da substância ao organismo teste varia de acordo com sua concentração, aumentando o nível da taxa de

mortalidade à medida que aumenta a concentração da solução-teste ao final de 72h. (Figura 3). Esses resultados são de extrema importância, visto que, se apresentarem o mesmo efeito aos organismos em seu ambiente natural, ocasionarão riscos ecológicos com relação a sobrevivência dessas espécies, promovendo a redução da diversidade da fauna terrestre.

Dados do manual de pesticidas (THE BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL AND THE ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, 1994), apresentam resultados obtidos para organismos

Tabela 1 – Teste de evitação.

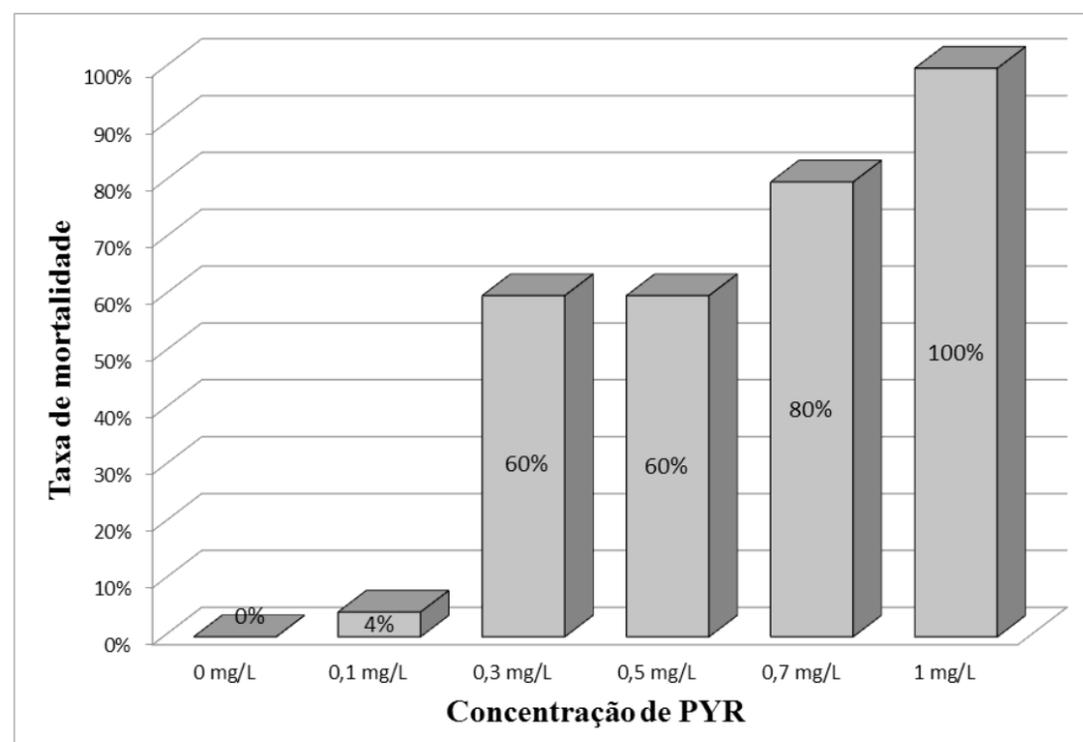
Concentração	Reação do organismo (n° indivíduos)		Taxa de evitação
	Evitou	Não Evitou	
	Controle (0,0 mg L ⁻¹)	3	
Concentração 1 (0,1 mg L ⁻¹)	4	6	40%
Concentração 2 (0,3 mg L ⁻¹)	6	4	60%
Concentração 3 (0,5 mg L ⁻¹)	8	2	80%
Concentração 4 (0,7 mg L ⁻¹)	9	1	90%
Concentração 5 (1,0 mg L ⁻¹)	10	0	100%

Figura 2 - Organismos da espécie *E. fetida* após 24h de teste



Fonte: Dados de pesquisa (2017).

Figura 3 - Teste toxicidade aguda



Fonte: Dados de pesquisa (2017).

pertencentes a outros ambientes. Para ratos o CL50 encontrado foi de 1,98 mg L⁻¹ e para peixes como a Truta arco-íris o valor foi de 10,56 mg L⁻¹ mostrando assim variação dos níveis de concentração da substância que podem afetar negativamente diferentes espécies.

Segundo registro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) o fungicida Mythos®, não se mostrou irritante para os olhos e pele de coelhos, porém nos testes de toxicidade aguda foram observadas redução da atividade motora, prostração e postura arcada. Nos testes de toxicidade crônica, com a administração de diferentes concentrações de PIR, foi possível observar intolerância do produto para os organismos teste, ocorrendo vômitos com consequente perda de peso e queda no consumo de água.

Considerando o limite de concentração permitido para a aplicação nas culturas do fungicida Mythos®, onde 30% de sua composição corresponde ao

princípio ativo PIR, é possível relacionar estes dados com os valores das concentrações selecionadas para este estudo. Assim, pode-se inferir que ocorrem efeitos potencialmente deletérios ao organismo *E. fetida* em concentrações inferiores ao permitido pela legislação.

CONCLUSÃO

Os ensaios de toxicidade aguda realizados neste estudo indicam que o princípio ativo do fungicida Mythos® (PIR) promove ação deletéria aos organismos da espécie *E. fetida*, bem como a ação de evitação do mesmo, resultando na redução da diversidade da fauna terrestre.

Do ponto de vista ecotoxicológico, deve-se ressaltar que os organismos foram submetidos a testes realizados em laboratório, onde as variáveis que ocorrem em ambiente natural não estão presentes. Estudos com amostras coletadas em locais onde essas substâncias são aplicadas devem

ser realizados a fim de avaliar as consequências que esses organismos sofrem em seu habitat natural.

Os resultados aqui demonstrados contribuem para o avanço dos estudos sobre esse tema, abrindo caminhos para novas pesquisas, com o intuito de apontar soluções que amenizem o impacto dessa substância ao meio ambiente e aos organismos ali presentes. Estes ensaios oferecem subsídios para novos estudos como testes de toxicidade crônica, resultados mais detalhados sobre o comportamento de evitação em *E. fetida* e avaliações dos riscos ecotoxicológicos que essa substância pode oferecer ao ambiente.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A.; MONTEIRO, R. Indicadores Biológicos de Qualidade do solo. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v.23, n. 3, p. 66-75, 2007.

BARBOSA, L. **Uso de agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ao meio ambiente: um estudo com agricultores da microbacia hidrográfica do Ribeirão Arara no Município de Paranavaí, PR**. Monografia (Pós-Graduação em Gestão Ambiental em Municípios) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Campus Medianeira, 2014.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Seminário volta a discutir mercado de agrotóxicos em 2012**. Brasília, DF, 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?x=0&y=0&_3_ywords=Semi%C3%A1rio+volta+a+discutir&_3_formDate=1441824476958&p_p_id=3&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&_3_groupId=0&_3_struts_action=%2Fsearch%2Fsearch&_3_cur=1&_3_format>. Acesso em: 30 jul. 2016.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 231**, de 27 de julho de 2016 D.O.U de 28/07/2016, de 02/12/16, Seção 1, página 63.

BRASIL. Lei Federal nº. 6.938 de 31 de agosto de 1981. **Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L6938.htm>. Acesso em: 30 jul. 2016.

CHAZIN, A.; PEDROZO, M.; O estudo da Ecotoxicologia. In: CHAZIN, A.; AZEVEDO, F. (Org.) **As Bases Tecnológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: Ed. Rima. 2003. 322p.

COLEMAN, M.; O'NEIL, J.; WOEHLING, E. K.; NDUNGE, O.B.A.; HILL, E.J.; MENACHE, A.; REISS, C. A preliminary investigation into the impact of a pesticide combination on human neuronal and glial cell lines in vitro. **PLoS One**, v. 7, n. 8, p. 1-8, 2012.

DERISIO, J. C. **Introdução ao controle de poluição ambiental**. 4. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2012. 224p.

EFSA. European Food Safety Authority. Review of the maximum residue levels (MRLs) for pyrimethanil according to Article 12 of Regulation (EC) N° 396/2005. **EFSA Journal**, v. 9, n. 11, p. 1-65, 2011.

FRAGOSO, C.; LAVELLE, P.; BLANCHART, E.; SENAPATI, B.; JIMÉNEZ, J.; MARTÍNEZ, M.; DECAËNS, T. & TONDOH, J. Earthworm communities of tropical agroecosystems: origin, structure and influence of management practices. Pp. 27-55. In: LAVELLE, P.; BRUSSAARD, L.; HENDRIX, P. F. (Eds). **Earthworm management in tropical agroecosystems**. CABI, Wallingford, 1999.

GIGER, W. The Rhine red, the fish dead the 1986 Schweizerhalle disaster, a retrospect and long-term impact assessment. **Environmental science and pollution research international**, v. 16, p. 98-111, 2009.

GRUBE, A.; DONALDSON, D.; KIELY, T.; WU, L. **Pesticides Industry Sales and Usage: 2006 and 2007 Market Estimate**. United States Environmental Protection Agency, USA:EPA, 2011. 33p.

GÜNTHER, W.M.R. Poluição do solo. In: Philippi Jr. Pelicioni, M.C.F. (ed.). **Educação ambiental e sustentabilidade**, Barueri: Manole, 2005. p. 195-215.

HIROOKA, T.; ISHII, H. Chemical control of plant diseases. **Journal of General Plant Pathology**, v. 79, p. 390 – 401, 2013.

INGHAM, E. R. 2006. **The soil biology primer**. Disponível em: <<http://www.envirothonpa.org/wp-content/uploads/2014/04/7-Soil-Biology-Primer.pdf>> Acesso em: 02 jul. 2017.

ISO. International Organization for Standardization. **ISO 17512-1:2008: Soil quality – avoidance test for testing The quality of Soils and of chemical – test with earthworms (*Eisenia foetida*)**, 2008.

LARINI, L. Avaliação Toxicológica. In: LARINI, L. (Org.) **Toxicologia**. São Paulo. Ed. Manole Ltda. 1997. p. 43-58.

LIU, C.; LU, D.; WANG, Y.; WAN, K.; HUANG, J.; WANG, F. Pyrimethanil residue and dissipation in tomatoes and soil under field conditions. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 11, p. 9397–9402, 2013.

MOREIRA, J.; JACOB, S.; PERES, F.; Lima, J.; MEYER, A.; SILVA, J.; BATISTA, P.; EGLER, M.; FARIA, M.; ARAÚJO, A.; KUBOTA, A.; SOARES, M.; ALVES, S.; MOURA, C.; CURI, R. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, p. 299-311, 2002.

MÜLLER, R.; SEELAND, A.; JAGODZINSKI, L.S.; DIOGO, J. B.; NOWAK, C.; OEHLMANN, J. Simulated climate change conditions unveil the toxic potential of the fungicide pyrimethanil on the midge *Chironomus riparius*: a multigeneration experiment. **Ecology and Evolution**, v. 2, n.1, p. 196–210, 2012.

NAHMANI, J.; HODSON, M.E.; BLACK, S. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. **Environmental Pollution**, v. 145, p. 402-424, 2007.

OECD. Organization for Economic Cooperation and Development. **Earthworm acute toxicity tests**. In: OECD Guideline for the testing of chemicals N°. 207, Paris, 1984.

TEAM, . R, TEAM., R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Austria, 2017.

RIGHI, G. Minhocas da América Latina: diversidade, função e valor. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, p. 794–800, 2011. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO-SBCS., 26. Rio de Janeiro, 1997. CD-ROM. 28 pp.

RIGOTTO, R.; VASCONCELOS, D. ROCHA, M. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cad. Saúde Publ** .Rio de Janeiro, v. 30, n.7, p. 1360-1362, Jul. 2014.

RITZ, C.; STREIBIG, J. C. Bioassay Analysis using R. **Journal of Statistical Software**, v. 12, n.5, p. 1-22, 2005.

SANTORUFO, L.; GESTEL, C.; MAISTO, G. Ecotoxicological assessment of metal-polluted urban soils using bioassays with three soil invertebrates. **Chemosphere**, v. 88, n.4, p. 418-425, 2012.

THE BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL AND THE ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. **The Pesticide Manual: Incorporating The Agrochemicals Handbook**. 10 ed. 1994. 1341p.

VEGA, F.; COVELO, E.; ANDRADE, M. Accidental organochlorine pesticide contamination of soil in Porrino, Spain. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, p. 272–279, 2007.

WALKER, C. H.; SIBLY, R. M.; HOPKIN, S. P.; PEAKALL, D. B. **Principles of ecotoxicology**. 3. ed. New York: CRC Press, 2006, 386p.

WANG, Y.; CANG, T.; ZHAO, X.; YU, R.; CHEN, L.; WU, C.; WANG, Q. Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm, *Eisenia foetida*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 79, n.1, p. 122-128, 2012.

PPDB: Base de Dados de Propriedades de Pesticidas. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/573.htm>>. Acesso em: 19 out. 2017.