

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

**MIRIANE DE ALMEIDA STOCK**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA ASSOCIAÇÃO DOS HERBICIDAS  
IMAZETAPIR E METSULFUROM METÁLICO, NO MODELO *Eisenia fetida*.**

**Caçapava do Sul  
2018**

**MIRIANE DE ALMEIDA STOCK**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DA ASSOCIAÇÃO DOS HERBICIDAS  
IMAZETAPIR E METSULFUROM METÍLICO, NO MODELO *Eisenia fetida*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Caroline Wagner

**Caçapava do Sul  
2018**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos  
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do  
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

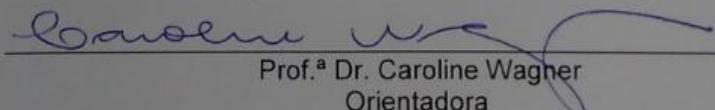
S864a Stock, Miriane de Almeida  
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA ASSOCIAÇÃO DOS HERBICIDAS  
IMAZETAPIR E METSULFUROM METÍLICO, NO MODELO Eisenia fetida. /  
Miriane de Almeida Stock.  
864 p.  
  
Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade  
Federal do Pampa, ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA, 2018.  
"Orientação: Caroline Wagner".  
  
1. Toxicidade. 2. Herbicidas. 3. Eisenia fetida. I. Título.

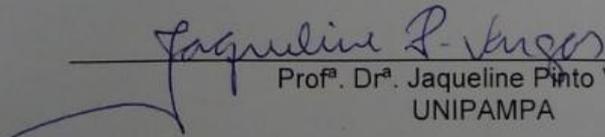
MIRIANE DE ALMEIDA STOCK

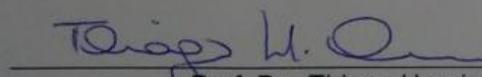
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DA ASSOCIAÇÃO DOS HERBICIDAS  
IMAZETAPIR E METSULFUROM METÁLICO, NO MODELO *Eisenia fetida*.

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Engenharia  
Ambiental e Sanitária da Universidade  
Federal do Pampa, como requisito parcial  
para obtenção do Título de Bacharel em  
Engenharia Ambiental e Sanitária.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 14/12/ 2018.  
Banca examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr. Caroline Wagner  
Orientadora  
UNIPAMPA

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr. Jaqueline Pinto Vargas  
UNIPAMPA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Thiago Henrique Lugokenski  
UNIPAMPA

*Á minha mãe, Elisandra e ao meu pai, Daniel.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me permitido concluir a graduação, por sempre estar comigo, guardando e guiando meus passos.

À minha família pelo apoio, compreensão e suporte que me deram durante esta caminhada. Em especial meus pais, Elisandra e Daniel, por todos os ensinamentos, princípios e valores que me transmitiram ao longo da vida, os quais foram imprescindíveis para minha formação como ser humano.

Ao meu namorado Jônatas, por todo carinho e confiança.

A meus colegas de graduação, que tornaram meus dias mais leves durante os cinco anos.

A minha colega e amiga Aline Rosa, minha “irmã gêmea”, por sua amizade que sempre esteve disposta a me ajudar durante as dificuldades nas quais me deparei neste percurso.

A Prof.<sup>a</sup> Dra. Caroline Wagner, pela orientação e auxílio durante a realização deste trabalho.

A todos os professores, por compartilharem o conhecimentos, pelas amizades, ensinamentos e convivência.

Aos funcionários da Universidade Federal do Pampa, os quais estão nos bastidores, mas que são de suma importância.

Enfim, a todos que contribuíram para minha formação de alguma forma, tanto profissional quanto pessoal.

## RESUMO

Com a crescente demanda por alimentos, o modelo tradicional de agricultura foi substituído por plantio com aplicações de adubos químicos e agrotóxicos em sistemas de monoculturas a fim de aumentar a sua produtividade. O uso exacerbado além de contaminar os vários compartimentos do meio ambiente, contribui diretamente na desestruturação da biodiversidade. A espécie *E. fetida* adotada para esse estudo é recomendada e aceita em protocolos internacionais de testes de toxicidade. Com isso o objetivo foi avaliar o efeito dos herbicidas comerciais Vezir e Ally e sua associação na sobrevivência, comportamento e reprodução do organismo teste *E. fetida*. O método consistiu na exposição de indivíduos da espécie *E. fetida* a varias concentrações dos herbicidas Vezir, Ally e sua associação. As diretrizes estabelecidas para os ensaios de toxicidade aguda, reprodução e fuga respectivamente, foram realizados de acordo com as normas ISO 11268-1 (ISO, 2012), ISO 11268-2 (ISO, 2012), ISO 17512- 1 (2007) e ABNT NBR 15537 (2014). Os indivíduos foram divididos em oito grupos: Controle, dois CL<sub>50</sub> individualmente (1000 mg de Ally /kg e 2388,89 mg de Vezir /kg, três grupos expostos com a associação da CL<sub>50</sub> (25, 50 e 100%) dos dois herbicidas, dois grupos com as concentrações recomendadas para aplicação para a cultura de arroz e mais a associação esta concentração . Os animais foram expostos por um período de 42 dias. Os resultados sugerem que a adição destas substâncias podem acarretar na diminuição de casulos, eclosão, e aparição de indivíduos novos, mesmo em doses recomendada, as quais não apresentaram diminuição significativa a curto prazo, porém a longo prazo poderá resultar em perdas expressivas da população; E principalmente em doses elevadas, as quais apresentaram de forma mais imediata seus efeitos negativos sobre a reprodução. Os organismos expostos as concentrações CL<sub>50</sub> e CL<sub>50</sub> de Ally + Vezir (mg/kg) respectivamente, 250 + 597,22 (25%), 500 + 1194,445 (50%) e 1000 + 2388,89 (100%), apresentaram um índice significativo de mortalidade e perda de biomassa quando comparados ao controle. As doses associadas tanto da CL<sub>50</sub>, quanto a recomendada superaram as dosagens individuais negativamente, no que diz respeito a ganho de biomassa, e reprodução. Não foi observado comportamento de fuga nas doses recomendadas, no entanto apresentaram: Lentidão, rigidez, e insensibilidade a estímulos mecânicos. Por fim, este estudo fornece uma importante contribuição para o conhecimento da toxicidade dos herbicidas Ally e Vezir, visto que esses produtos, muitas

vezes são aplicados em conjunto. Salienta-se também que na aplicação destes herbicidas deve se ter muita cautela, visto que na prática não há garantias de que a dosagem recomendada é de fato a aplicada pelos agricultores sendo que o uso irresponsável do mesmo, pode prejudicar o ecossistema local.

**Palavras- Chave:** Herbicidas, *Eisenia fetida*, toxicidade.

## ABSTRACT

By the increasing demand for food, the traditional model of agriculture has been replaced by planting with applications of chemical fertilizers and agrochemicals in monoculture systems in order to increase their productivity. The exacerbated use, besides contaminating the various compartments of the environment, contributes directly to the destructuring of biodiversity. The *E. fetida* species adopted for this study is recommended and accepted in international protocols for toxicity testing. The objective of this study was to evaluate the effect of the commercial herbicides Vezir and Ally and their association on the survival, behavior and reproduction of the *E. fetida* test organism. The method consisted of the exposure of *E. fetida* individuals to various concentrations of the herbicides Vezir, Ally and their association. The guidelines established for the acute toxicity, reproduction and leakage tests were performed in accordance with ISO 11268-1 (ISO, 2012), ISO 11268-2 (ISO, 2012), ISO 17512-1 (2007) and ABNT NBR 15537 (2014). The individuals were divided into eight groups: Control, two LC50s individually (1000 mg Ally / kg and 2388.89 mg Vezir / kg, three groups exposed with LC50 association (25, 50 and 100%) of the two herbicides, two groups with the concentrations recommended for application to the rice culture and the association with this concentration. The animals were exposed for a period of 40 days. , The results suggest that the addition of these substances may lead to egg reduction, hatching, and appearance of new individuals, even at recommended doses, which did not present significant decrease in the short term, but in the long term may result in significant population losses; And mainly in high doses, which presented more immediately its negative effects on reproduction. The organisms exposed to Ally + Vezir LC50 and LC50 concentrations, respectively, 250 + 597.22 (25%), 500 + 1194,445 (50%) and 1000 + 2388.89 (100%) had a significant mortality rate and loss of biomass when compared to control. The associated doses of both the LC50 and the recommended exceeded the individual dosages negatively, with respect to biomass gain, and reproduction. No leakage behavior was observed at the recommended doses, however they presented: Slowness, rigidity, and insensitivity to mechanical stimuli. Lastly this study provides an important contribution to the knowledge of the toxicity of the herbicides Ally and Vezir, since these products are often applied together. It should also be noted that in the application of these herbicides caution should be exercised, since in

practice there is no guarantee that the recommended dosage is in fact applied by farmers and that the irresponsible use of the herbicide may harm the local ecosystem.

**Key words:** Herbicides, *Eisenia fetida*, toxicity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fórmula estrutural do Imazetapir.....	23
<b>Figura 2.</b> Fórmula estrutural do Metsulfurom Metílico.....	25
<b>Figura 3.</b> Caminho do herbicida de fora para dentro das folhas.....	27
<b>Figura 4.</b> Herbicidas inibidores da síntese de aminoácidos.....	27
<b>Figura 5.</b> Locais de atuação dos herbicidas inibidores da enzima ALS, interrompendo a síntese de alguns aminoácidos.....	28
<b>Figura 6.</b> Esquema do teste de evitamento.....	40
<b>Figura 7.</b> Relação entre as dosagens dos herbicidas versus o numero de sobreviventes encontrados (média dos tratamentos $\pm$ desvio padrão amostral).....	42
<b>Figura 8.</b> Relação entre as dosagens dos herbicidas e a distribuição dos organismos no recipiente (média $\pm$ desvio padrão).....	44
<b>Figura 9.</b> Relação entre as dosagens dos herbicidas e o ganho/perda de biomassa dos organismos (média $\pm$ desvio padrão).....	45
<b>Figura 10.</b> Relação entre as dosagens dos herbicidas e o surgimento de casulos..	47
<b>Figura 11.</b> Relação entre as dosagens dos herbicidas e o surgimento dos indivíduos casulos.....	48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Informações comerciais do herbicida Vezir.....	23
<b>Tabela 2.</b> Informações comerciais do herbicida Ally.....	26
<b>Tabela 3.</b> Informação comparativa dos herbicidas.....	29
<b>Tabela 4.</b> Concentrações dos herbicidas.....	38
<b>Tabela 5.</b> Resumo para realizar o ensaio ecotoxicológicos de efeito agudo de minhocas. .....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT- Associação Brasileira de Normas Técnicas  
AHAS- Acetohidroxiácido Sintase  
ALS- Acetolacto Sintase  
ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
CADs- Concentrações Ambientais  
CAEs- Comportamentos Ambientais  
CAS- Chemical Abstracts Service  
CL- Concentração Letal  
DNA- Ácido Desoxirribonucleico  
EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
EPA- Environmental Protection Agency  
ETEERG- Escola Técnica Estadual Dr. Rubens da Rosa Guedes  
EUA- Estados Unidos da América  
FAO- Food and Agriculture Organization  
IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis  
IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
IMI- Imidazolinonas  
ISO- International Standard Organization  
IUPAC- International Union of Pure and Applied Chemistry  
MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
NBR- Norma Brasileira de Regulamentação  
NRR- Norma Regulamentadora Rural  
OECD- Organization for Economic Co-operation and Development  
ONU- Organização das Nações Unidas  
PAN- Pesticide Action Network  
PND- Plano Nacional de Desenvolvimento  
RV- Revolução Verde  
SNCR- Sistema Nacional de Crédito Rural  
SU- Sulfonilureia  
WG- Granulado desprezível

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1 Objetivos.....</b>	<b>17</b>
1.1.1 Objetivo Geral.....	17
1.1.2 Objetivo Específico.....	17
1.2 Justificativa.....	17
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>18</b>
2.1 Agrotóxico.....	18
2.2 Agrotóxicos no Brasil.....	19
2.3 Herbicidas.....	21
2.4 Agentes Tóxicos.....	22
2.4.1 Imazetapir.....	22
2.4.1.1 Imazetapir no Ambiente.....	24
2.4.2 Metsulfurom Metílico.....	25
2.4.2.1 Metsulfurom metílico no Ambiente.....	26
2.4.3 Mecanismo de Ação dos Herbicidas.....	26
2.4.4 Agrotóxicos em animais.....	29
2.4.4.1 Efeito tóxicos do Imazetapir em animais.....	29
2.4.4.2 Efeito tóxicos do Metsulfurom Metílico em animais.....	30
2.5 Agrotóxicos e o Meio Ambiente.....	30
2.6 Modelo.....	32
2.6.1 Características Gerais.....	32
2.6.2 Ciclo de Vida.....	33
2.6.3 Por que <i>Eisenia fetida</i> foi escolhida como modelo:.....	34
<b>3. METODOLOGIA.....</b>	<b>35</b>
3.1 Manutenção do Organismo-teste.....	35
3.2 Preparo do Solo.....	36

<b>3.3 Recipiente de testes.....</b>	<b>37</b>
<b>3.4 Concentrações.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5 Preparo das amostras.....</b>	<b>38</b>
<b>3.6 Testes de toxicidade aguda.....</b>	<b>38</b>
<b>3.7 Teste de Fuga.....</b>	<b>39</b>
<b>3.8 Testes de ganho de biomassa.....</b>	<b>40</b>
<b>3.9 Testes de reprodução.....</b>	<b>41</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1 Testes de toxicidade aguda.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2 Teste de Fuga.....</b>	<b>43</b>
<b>4.3 Testes de ganho de biomassa.....</b>	<b>45</b>
<b>4.4 Testes de reprodução.....</b>	<b>47</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>51</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Há mais de dez mil anos a agricultura é praticada pela humanidade, mas o uso intensivo de agrotóxicos utilizado para o controle de plantas indesejáveis e pragas, existe há pouco mais de meio século. O qual teve origem durante as grandes guerras mundiais, quando as indústrias fabricantes de armas químicas encontraram na agricultura um casulo mercado para seus produtos (LONDRES, 2011). Com o aumento da população e a crescente demanda por alimentos, fez-se necessário buscar alternativas eficientes na agricultura para que suprissem as necessidades da população (CASTRO, 2005). Com isso o modelo tradicional de agricultura foi substituído por plantio com aplicações de adubos químicos e agrotóxicos em sistemas de monoculturas altamente mecanizados (SPADOTTO *et al.*, 2004). A partir da década de 1960, tal modelo agrícola foi difundido para as regiões do Terceiro Mundo, num processo conhecido como Revolução Verde (RV) (BALSAN, 2006), considerado fundamental para derrotar a fome da população mundial (SPADOTTO *et al.*, 2004).

Do total dos agrotóxicos, os herbicidas representam cerca de 50%, os inseticidas 25% e fungicidas 22% (PELAEZ *et al.*, 2010). Os herbicidas inibidores da ALS (Acetolactato Sintase) são muito usados no controle de ervas daninhas de culturas de arroz, porém várias destas espécies de ervas daninhas foram identificadas como resistentes a herbicidas inibidores de ALS (EBERHARDT, 2016). Uma das alternativas que Martins *et al.* (2017) traz, é a combinação de herbicidas diferentes para potencializar os efeitos sobre as pragas (POLEZA, *et al.* 2008).

Quando inseridos no ambiente, cerca de 55% do total dos agrotóxicos aplicados na cultura, não atingem o alvo, dispersando-se para a água, o solo e para a atmosfera (GAVRILESCU, 2005). O aquecimento do setor agrícola tem sido prejudicial ao meio ambiente devido vários fatores, sendo eles: o declínio da biodiversidade, o comprometimento da disponibilidade da água, a qualidade da água do ar e dos alimentos e crescentes problemas fitossanitários relacionados com o desequilíbrio ecológico causado por esses agentes tóxicos (NUNES, 2007).

As aplicações com dosagens acima das recomendadas são muito comuns na maioria dos cultivos, exercendo grande pressão no ecossistema, contribuindo diretamente na desestruturação da biodiversidade. Esses produtos têm sido muito questionados pela comunidade científica quanto seus efeitos tóxicos a organismos não alvos (BASTOS *et*

*al.*, 2007). Segundo Oliveira *et al.* (2009) aplicações sequenciais das associações de agrotóxicos podem apresentar efeito sinérgicos, alterando a comunidade microbiana presente no solo.

Atualmente, as ferramentas de avaliação de contaminação ambiental, se baseiam em métodos químicos tradicionais, sem o auxílio de avaliações com parâmetros biológicos ou ecotoxicológicos. Esses parâmetros buscam entender e prever efeitos de substâncias químicas em seres vivos, verificando efeito das variáveis ambientais que podem interferir na toxicidade de substâncias nocivas a comunidades naturais. Desta forma, somente a utilização de métodos químicos não é capaz de avaliar a contaminação ambiental (CHAPMAN, 2002; SISINNO, *et al.* 2006).

Procedimentos para execução de ensaios ecotoxicológicos com organismos aquáticos são bem estabelecidos e descritos nas normas brasileiras da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). No entanto, existem poucos estudos que tratam da toxicidade de poluentes químicos sobre a fauna do solo, pois no Brasil ainda é pouco aplicado, devido aos testes com organismos de solo ainda não estejam estabelecidos pelas normas da ABNT (SISINNO *et al.*, 2004). O padrão estabelecido para avaliação da contaminação de amostras de solos são métodos internacionalmente aceitos, como os da ISO (International Organization for Standardization), OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) e EPA (Environmental Protection Agency – USA) (SISINNO *et al.*, 2004). No Brasil, o IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) solicita apenas o teste de toxicidade aguda (ABNT, 2007) e aceita resultados obtidos por meio das metodologias dos testes estabelecidos pelas organizações internacionais já citadas.

Carvalho *et al.* (2009), cita que os testes padronizados apresentam como organismos indicadores de contaminação, algumas espécies representantes de ambientes terrestres, entre as citadas pelo autor estão as minhocas. Segundo ele, a escolha do bioindicador deve atender alguns critérios, como: representar o ambiente em que ocupa, ser sensível a uma ampla variedade de agentes químicos, ser abundante e de fácil cultivo e manipulação em laboratório.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo Geral**

Avaliar os efeitos tóxicos dos herbicidas Imazetapir e Metsulfurom Metílico em dosagens  $CL_{50}$  para *Eisenia fetida* e a recomendada para uso comercial de forma individual e na associação dos mesmos, na sobrevivência e reprodução organismo teste *Eisenia fetida*.

### 1.1.2 Objetivo Específico

- Determinar a concentração letal da associação dos herbicidas Imazetapir e Metsulfurom Metílico em modelo de *E. fetida*.
- Avaliar o efeito dos herbicidas Imazetapir e Metsulfurom Metílico, nas concentrações individuais e sua associação, na reprodução e desenvolvimento da *E. fetida*.
- Determinar alterações comportamentais (comportamento de fuga) causadas pelos herbicidas Imazetapir e Metsulfurom Metílico, nas concentrações individuais e sua associação nos indivíduos *E. fetida*.
- Determinar as doses mínimas capazes de desencadear o comportamento de evitamento nos organismos modelo.

## 1.2 Justificativa

Como já citado, a associação dos herbicidas é amplamente utilizado na agricultura, sendo que os herbicidas correspondem cerca de 48% do total dos agrotóxicos, entretanto o desconhecimento sobre a aplicação de um mesmo herbicida por um longo período ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação, contribuem para a seleção de plantas daninhas resistentes. Nos últimos anos tem se tornado um assunto de crescente abordagem, devido ao surgimento de espécies resistentes a herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) (GAZZIERO *et al.*, 1998).

Além disso, ocorre a carência de materiais informativos à população sobre os riscos do uso dos agrotóxicos no Brasil, principalmente, a falta de dados na literatura sobre a toxicidade nos animais do solo com associação dos herbicidas estudados no presente trabalho.

Segundo Food and Agriculture Organization – FAO, a Ásia é o maior produtor de arroz no mundo, sendo responsável por 90% da produção do grão. O continente

americano, segundo colocado no ranking, é responsável por 5% (37 milhões de toneladas aproximadamente). Deste, o Brasil é o maior produtor, com 12 milhões e Estados Unidos com 10 milhões. Entre os estados federais, o Rio Grande do Sul é o maior produtor de arroz em casca do Brasil. O Rio Grande do Sul detém a maior produção nacional de arroz (68,7% do total), produziu 8.099,357 toneladas, numa área colhida de 1.083,863 hectares (IBGE, 2013). Com isso, reforça-se a necessidade de estudos sobre o possível impacto gerados nos organismos do solo, causado pelo uso desses herbicidas. O estado do Rio Grande do Sul apresentou, nos últimos anos, elevação dos níveis de produtividade média devido às melhorias de manejo da lavoura e aumento do uso de agrotóxicos (MARCHEZAN *et al.*, 2010).

Consideramos os objetivos deste estudo, que envolve a caracterização tóxica da associação dos herbicidas Imazetapir e Metsulfurom Metílico para organismos do solo, esse trabalho poderá contribuir com dados e informações que corroborem para o uso consciente desses defensivos agrícolas.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Agrotóxico**

Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Programa da Organização das Nações Unidas (ONU), os agrotóxicos são definidos como:

Qualquer substância, ou mistura de substâncias, usadas para prevenir, destruir ou controlar qualquer praga – incluindo vetores de doenças humanas e animais, espécies indesejadas de plantas ou animais, causadoras de danos durante (ou interferindo na) a produção, processamento, estocagem, transporte ou distribuição de alimentos, produtos agrícolas, madeira e derivados, ou que – ou que deva ser administrada para o controle de insetos, aracnídeos e outras pestes que acometem os corpos de animais de criação. (FAO, 2003)

De acordo com a Lei Federal no 7.802, em seu Artigo 2, Inciso I, que trata sobre esse grupo de substâncias/agentes:

Agrotóxicos e afins são os produtos e os componentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso no setor de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbano, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a

fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento. (BRASIL, 1989)

O Decreto 4.074/02 revogou o Decreto 98.816, de 11 de janeiro de 1990, que regulamentava a Lei de Agrotóxicos. Assim, a NRR 5, que trata de Produtos Químicos acompanha a mencionada Lei Federal, define agrotóxicos da seguinte maneira:

Entende-se por agrotóxicos as substâncias, ou mistura de substâncias, de natureza química quando destinadas a prevenir, destruir ou repelir, direta ou indiretamente, qualquer forma de agente patogênico ou de vida animal ou vegetal, que seja nociva às plantas e animais úteis, seus produtos e subprodutos e ao homem (BRASIL, 2008).

## 2.2 Agrotóxicos no Brasil

O modelo de agricultura que atualmente há no Brasil foi consequência da chamada “Revolução Verde”. A qual discutia-se a forma mais eficiente de aumentar a produtividade de alimento através do desenvolvimento de sementes geneticamente modificadas, fertilizantes e maquinários, e várias modernizações na agricultura. Assim, acreditava-se que ela seria fundamental para derrotar a fome de boa parte da população mundial (BEZERRA, 2018).

A partir dos anos 50, com a RV, o processo tradicional de produção agrícola sofreu drásticas mudanças, com a inclusão de novas tecnologias, buscando a produção extensiva de *commodities* agrícolas (BRASIL, 2018). Os agrotóxicos fazem parte do conjunto de tecnologias associadas ao processo de modernização da agricultura.

Em 1965 foi criado o Sistema Nacional de Crédito Rural (SNCR), que vinculava a obtenção de crédito agrícola à obrigatoriedade de aquisição de insumos químicos pelos agricultores (LONDRES, 2011). Em 1975, o Programa Nacional de Defensivos Agrícolas, foi inserido no II Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), onde previa a instalação de indústrias de agrotóxicos no país. Os incentivos do governo federal determinaram a enorme disseminação de agrotóxicos no Brasil, pois o PND facilitou registro de inúmeras substâncias tóxicas, inclusive químicos já proibidos em países desenvolvidos. Segundo a ANVISA, dos 50 agrotóxicos mais utilizados nas lavouras do Brasil, 22 são proibidos na União Europeia, o que faz do Brasil o maior consumidor de agrotóxicos já banidos de outros países (CARNEIRO et al., 2010; OLIVEIRA, 2016; SANTOS e POLINARSKI, 2012).

A partir dos anos 70, a utilização de agrotóxicos ocorreu em larga escala, principalmente no sul do país, aplicados nas monoculturas de soja, arroz e trigo (LUCCHESI, 2005). Nas últimas décadas, o Brasil tem assumido proporções preocupantes com o uso crescente de agrotóxicos. Em 1987, o Brasil já liderava, sendo o maior mercado de agrotóxico dos países em desenvolvimento e o quinto maior do mundo, depois do EUA, do Japão, da França e da União Soviética. No período de 2001 e 2008, a venda de venenos agrícolas teve um aumento de US\$ 2 bilhões para mais de US\$ 7 bilhões, assumindo quarto lugar no ranking de maior consumidor de agrotóxicos (LONDRES, 2011; MOREIRA *et al.*, 2002).

Atualmente, tramita no congresso um projeto de Lei que flexibiliza as leis vigentes. Projeto de Lei 6299/02, propõe expressamente a revogação da atual Lei de Agrotóxicos (7802/1989). A mesma propõe que os agrotóxicos passem a ser chamados de “defensivos fitossanitários”, para diminuir a carga negativa, aferida a ele. Também visa facilitar o registro de casulos venenos (BRASIL 2015). Não há dúvidas que esse projeto é em grande retrocesso nas conquistas já adquiridas ao longo dos anos, colocando em risco a soberania alimentar, a saúde, a qualidade do meio ambiente entre outros.

A legislação do Brasil é exigente e restritiva, pois além da comprovação da eficiência agrônômica, ela requer garantias para minimizar o perigo ao ser humano, a sobre os riscos ao meio ambiente. Porém, o Decreto 4.074/02 adotou critérios de equivalência dos agrotóxicos, definidos pelo manual da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação – FAO, a qual estabelece que produtos equivalentes são produtos que, se comparados com outro produto formulado já registrado, possui a mesma indicação de uso, produtos técnicos equivalentes entre si, a mesma composição qualitativa e cuja variação quantitativa de seus componentes não o leve a expressar diferença no perfil toxicológico e ecotoxicológicos frente ao do produto em referência (SPADOTTO *et al.*, 2006; BRASIL, 2002).

Segundo Spadotto, (2006) agrotóxicos são produtos de misturas ou pré- misturas de produtos formulados, e possuem na sua composição diferentes níveis e teores de ingredientes ativos e impurezas, não considerar todos os componentes originais e o subproduto da sua degradação pode levar erros na avaliação ambiental. Essa avaliação deve ser considerada nos diferentes comportamentos ambientais (CAEs) e determinar as concentrações ambientais (CADs). Segundo ele estimar as concentrações nos diferentes compartimentos ambientais é um componente fundamental da avaliação de risco.

Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o Brasil é considerado o maior consumidor de agrotóxicos do mundo. De acordo com o boletim anual em 2016, o país produziu mais de 510 milhões toneladas de ingredientes ativos para agrotóxicos e importou mais de 400 milhões. O consumo anual tem sido superior a 130 mil toneladas; que representa um aumento de 700% nos últimos quarenta anos, e sua área agrícola aumentou cerca de 78% (SPADOTTO *et al.*, 2004). Além disso, esses números não levam em conta a enorme quantidade de agrotóxico contrabandeado para o país (ALMEIDA, 2010). Segundo Londres (2011), o Brasil também tem se tornado o principal destino de produtos banidos no exterior.

O uso exorbitante de agrotóxicos tem se revelado também através dos níveis acima do máximo permitido em resíduos de alimentos, muitos deles proibidos no Brasil (ANVISA, 2011). A aplicação indiscriminada de agrotóxicos pode causar a degradação ao meio ambiente que ao longo prazo pode ter seus efeitos irreversíveis, podendo trazer prejuízos à saúde e alterações significativas ao ecossistema (VEIGA *et al.*, 2006).

## **2.3 Herbicidas**

Os herbicidas, conhecidos também de controle químico, sendo agentes biológicos ou substâncias químicas “capazes de matar ou suprimir o crescimento de espécies específicas” são o grupo de pesticidas, mais utilizados e aplicados na agricultura como forma mais comum de controlar plantas indesejáveis, (SCHERER *et al.*, 2005; ARAÚJO *et al.*, 2008).

Estes são classificados quanto à seletividade, divididos em dois grupos: seletivos e não seletivos. Os seletivos atingem especificamente as plantas que podem causar dano na produção da cultura, já o não seletivo afeta e elimina sem discriminação qualquer forma de vegetação, sendo utilizadas somente em áreas não cultivadas (SAAD, 1985).

Além disso, também são classificados em pré-plantio ou pós-plantio. Os pré-plantios ou pré-emergentes são usados para controlar plantas daninhas antes da emergência da mesa, ou seja, são aplicados antes da plantação da cultura de interesse, geralmente são não seletivos. Herbicidas pós-plantios ou pós-emergentes são aplicados após a emergência das plantas daninhas, ou seja, é realizado após o plantio da cultura de

interesse, nesses casos, é necessária à aplicação de herbicidas seletivos para que não eliminem a cultura cultivada (SILVA & SILVA, 2007).

Quanto à translocação, existem os não sistêmicos e sistêmicos. Os não sistêmicos atuam na área ou próximos do local onde houve o contato com a planta. Os sistêmicos se translocam via xilema e/ou floema, causando danos em locais distantes da aplicação (SILVA & SILVA, 2007).

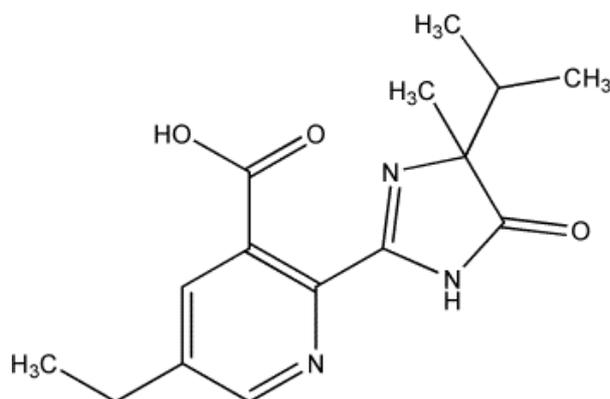
O mecanismo de ação diz respeito ao processo bioquímico que é interrompido na presença do herbicida. Atualmente, existem herbicidas que atuam em 26 locais de ação distintos. Os herbicidas inibidores da enzima ALS constituem o mecanismo de ação com maior número de ingredientes ativos disponíveis, os quais são subdivididos em cinco grupos químicos os quais Imidazolinonas e Sulfonilureia fazem parte (GILIARDI, 2018).

## 2.4 Agentes Tóxicos

### 2.4.1 Imazetapir

Imazetapir é um composto de Imidazol, usado como herbicida seletivo. Sua fórmula molecular é  $C_{15}H_{19}N_3O_3$  e sua fórmula estrutural é ilustrada na figura 1, disponível no banco de dados de pesticidas: Pesticide Action Network (PAN).

**Figura 1.** Fórmula estrutural do Imazetapir



Fonte: [www.pesticideinfo.org](http://www.pesticideinfo.org)

Imazetapir é o ingrediente ativo de herbicidas do grupo imidazolinonas. Sua nomenclatura segundo a IUPAC é (RS)-5-etil-2-(4-isopropil-4-metil-5-oxo-2-imidazolin-2-

yl) ácido nicotínico. Seu nome comum é Imazethapyr; N° CAS 81335-77-5; Registrado pela ANVISA com N° I10. Modalidade de emprego: aplicação em pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz, feijão e soja. Aplicação em pré e pós-emergência das plantas infestantes na cultura de arroz (BRASIL, 2018).

A principal formulação comercial do Imazetapir é o Vezir®, Concentrado solúvel. Sua composição compreende 106 g/L de ingrediente ativo, 100g/L de equivalente ácido, e 975 g/L de ingredientes ativos inertes. De acordo com a ANVISA, a Classificação Toxicológica o Vezir se enquadra como um herbicida de classe IV - Pouco Tóxico. Quanto à classificação do potencial de periculosidade ambiental (CPPA) é considerado classe III- Produto Perigoso ao meio ambiente.

Vezir é um herbicida formulado a partir do princípio ativo imazetapir. A tabela 1 especifica as informações comerciais do Vezir, de acordo com o registro (N° 6697) no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

**Tabela 1.** Informações comerciais do herbicida Vezir.

Marca Comercial	Titular do Registro	N° Registro	Ingrediente ativo (%)	Ingrediente inerte (%)
Vezir® (Herbicida)	Adama Brasil S.A. - Londrina	6697	10,6	89,4

**Fonte:** Autora (2018)

Imazetapir é utilizado como herbicida seletivo. É aplicado pré-implante incorporado, pré-emergência, na fissuração e pós-emergência. O composto controla as ervas daninhas reduzindo os níveis de três aminoácidos alifáticos de cadeia ramificada, isoleucina, leucina e valina. Ele atua através da inibição da acetolactato sintase (ALS), também conhecida como aceto hidroxíácido sintase (AHAS), uma enzima comum à via biossintética para estes aminoácidos. Essa inibição causa uma ruptura na síntese de proteínas que, por sua vez, leva a uma interferência na síntese de DNA e no crescimento celular (CHRISTOFFOLETI, 2001).

#### 2.4.1.1 Imazetapir no Ambiente

Segundo Silva, (1996) a persistência desse herbicida no solo depende de vários fatores, entre eles estão os fatores relacionados ao solo e ao clima. O Imazetapir é um

herbicida similar a um ácido orgânico fraco, que possui solubilidade em água (VENCILL, 2002), e alta mobilidade em solos com pH alcalino, tende a lixiviar para camadas mais profundas do perfil do solo e possui baixa degradação microbiana em condições anaeróbia (SILVA *et al.*, 2011), já a degradação microbiana em condições aeróbicas é um dos principais mecanismos de degradação (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Possui alta susceptibilidade a foto - decomposição (SHANER 1991), especialmente quando expostos à luz ultravioleta (MALLIPUDI, 1991). Segundo Holloway *et al.* (2006), o imazetapir pode permanecer no solo por mais de três anos e alcançar profundidade de até 40cm. Na água em condições normais de pH e temperatura a hidrólise é extremamente lenta. Já a fotólise na água é extremamente rápida. As perdas por volatilização são insignificantes (OLIVEIRA JUNIOR *et al.*, 2011). Estima-se que a meia-vida do imazetapir no solo, varie de 2,6 a 10,6 meses (GOETZ *et al.*, 1990; VISCHETTI, 1995)

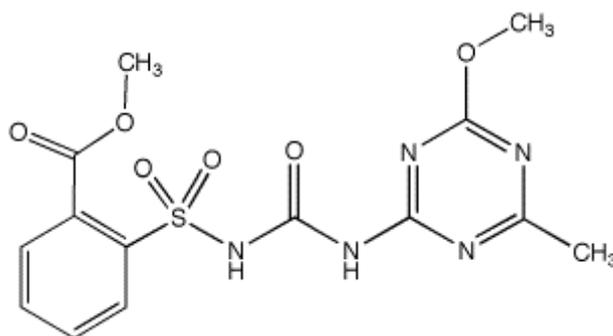
Segundo a ficha de informações de segurança do ADAMA, o herbicida Vezir possui toxicidade para organismos do solo: CL<sub>50</sub> (14 dias): 2388,89 mg/Kg do peso seco de solo artificial.

De acordo com o fabricante do Vezir, testes de toxicidade estabeleceram a (dose letal em 50% dos organismos) DL50 oral aguda e dérmica para ratos, maior que 2000 mg/kg de peso vivo. A (concentração letal em 50% dos organismos) CL50 inalatória, no teste de toxicidade inalatória aguda, para o produto foi superior a 20 mg/L, em ratos.

#### **2.4.2 Metsulfurom Metílico**

Metsulfurom Metílico pertence ao grupo químico das Sulfoniluréias (SU), usado como herbicida seletivo. Sua fórmula molecular é C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S e sua estrutura está ilustrada conforme a figura 2, disponível no banco de dados de pesticidas, Pesticid Action Network (PAN).

**Figura 2.** Fórmula estrutural do Metsulfurom Metílico



Fonte: adaptado de: [www.pesticideinfo.org](http://www.pesticideinfo.org)

Sua nomenclatura de acordo com a IUPAC é metil 2-(4- metoxi-6-metil-1, 3,5-triazin-2-il carbamoil sulfamoil) benzoato, seu nome comum é metsulfuron-methyl; N° CAS é 74223-64-6; Registrado na Anvisa N° M26.1. Modalidade de emprego: aplicação em pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz, aveia, aveia preta, cevada, pastagens e trigo. Aplicação em pré-emergência das plantas infestantes na cultura de cana-de-açúcar. (BRASIL, 2018).

Um dos produtos formulados a partir do ingrediente ativo metsulfurom metílico é o produto comercial Ally®, Granulado desprezível. De acordo com a ANVISA, a Classificação Toxicológica do Ally se enquadra como um herbicida de classe I – Extremamente Tóxico. Quanto à classificação do potencial de periculosidade ambiental (CPPA) é considerado classe III- Produto Perigoso Ao Meio Ambiente. Ally é formulado a partir do princípio ativo Metsulfurom Metílico. A tabela 2 traz as informações comerciais do Ally, os ingredientes e o registro (N° 2492) no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

**Tabela 2.** Informações comerciais do herbicida Ally.

Marca Comercial	Titular do Registro	N° Registro	Ingrediente ativo (%)	Ingrediente inerte (%)
Ally® (Herbicida)	Du Pont do Brasil S.A. Barueri (Alphaville)	2492	60	40

Fonte: Autora (2018)

O metsulfurom metílico é um composto residual de Sulfonilureia utilizado como herbicida seletivo pré e pós-emergência para ervas daninhas de folhas largas e algumas gramíneas anuais. É um composto sistêmico que funciona rapidamente após ser absorvido pela planta. Seu modo de ação é inibir a enzima ALS, pois a síntese destes

aminoácidos de cadeia lateral depende diretamente dessa enzima, que participa da fase inicial do processo metabólico, catalisando a reação de condensação (Durner *et al.*, 1991).

#### 2.4.2.1 Metsulfurom metílico no Ambiente

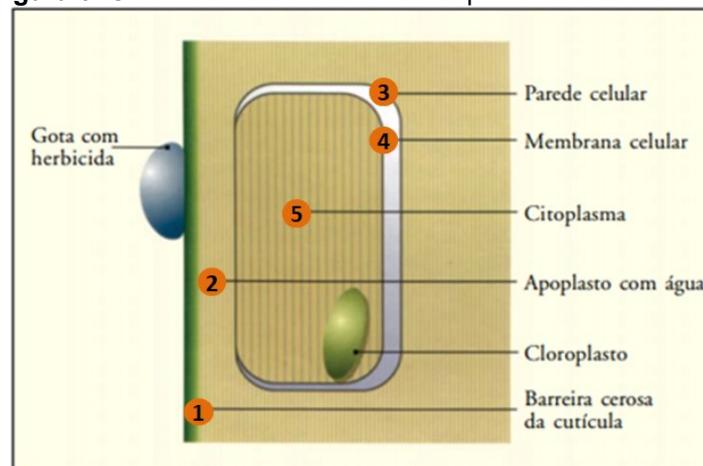
A quebra do metsulfurom metílico nos solos é amplamente dependente da temperatura do solo, umidade e pH. (Durner *et al.*, 1991). (EXTONET, 2018). O produto químico se degradam mais rapidamente sob condições ácidas e em solos com maior teor de umidade e temperatura devido ao grupo químico (SMITH, 1986). O produto químico tem maior potencial de mobilidade em solos alcalinos do que em solos ácidos, por ser mais solúvel em condições alcalinas. É estável à fotólise, mas se decompõe em luz ultravioleta. Estimativas de meia-vida para o Metsulfurom Metílico no solo variam de 14 a 180 dias, com uma média geral de valores reportados de 30 dias (WAUCHOPE, 1992).

#### 2.4.3 Mecanismo de Ação dos Herbicidas

Segundo Giliardi (2018), os herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) constituem o mecanismo de ação com maior número de ingredientes ativos disponíveis, os quais são subdivididos em cinco grupos químicos, entre eles estão os Sulfonilureia (SU), Imidazolinonas (IMI).

A figura 3 apresenta as barreiras encontradas pelo herbicida para atingir a célula da planta. As três principais barreiras a serem vencidas pelas moléculas para entrar na célula são: a cutícula, a parede celular e a membrana plasmática (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

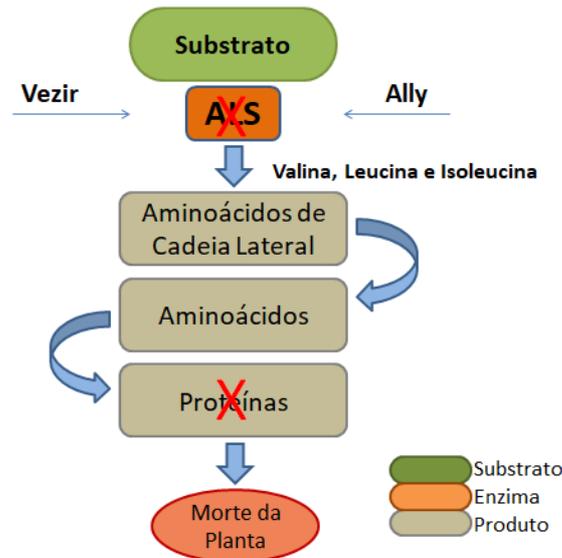
**Figura 3.** Caminho do herbicida de fora para dentro das folhas.



Fonte: Adaptado Roman (2007).

A enzima ALS atua na síntese de três aminoácidos de cadeia ramificada: leucina, lisina e isoleucina. A inibição causa uma interferência na síntese de proteínas, que consequentemente resulta na ruptura na síntese do DNA e no crescimento celular. Assim, as plantas acabam morrendo devido à incapacidade de produzir os aminoácidos essenciais de que necessitam (EXTONET, 2018). A figura 4 ilustra de forma esquematizada o modo de ação dos inibidores de ALS.

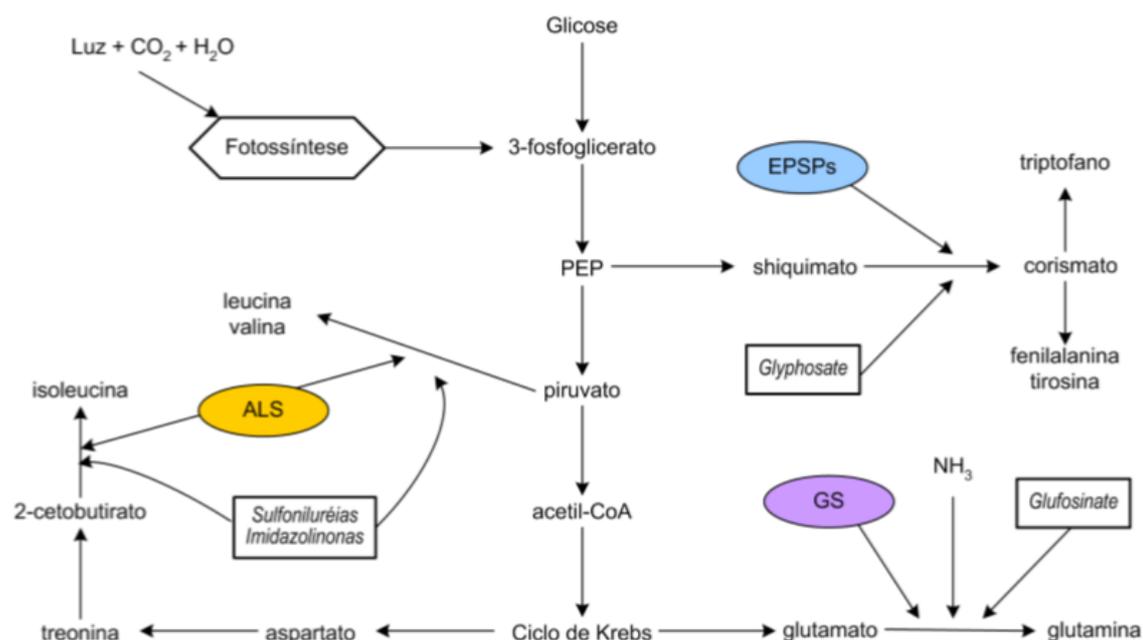
Figura 4. Herbicidas inibidores da síntese de aminoácidos.



Fonte: Adaptado Roman (2007).

Os herbicidas destes grupos químicos atuam no controle das ervas daninhas, através da inibição da síntese, da enzima - ALS essencial à via biossintética para os aminoácidos, ilustrado na Figura 5.

Figura 5. Locais de atuação dos herbicidas inibidores da enzima ALS, interrompendo a síntese de alguns aminoácidos.



Fonte: Vargas (1999).

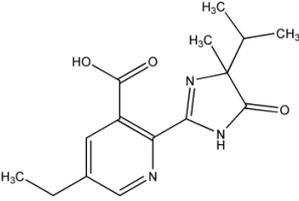
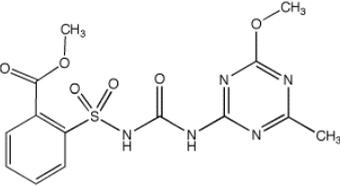
Segundo Giliardi (2018), a mistura de duas imidazolinonas aumenta o espectro de controle e também a eficiência. Embora elas possuam os mesmos mecanismos de ação, pertençam ao mesmo grupo químico e sejam responsáveis por inibir a mesma enzima-ALS, as ligações herbicidas-enzima não ocorrem da mesma maneira em todas as espécies, o que justifica o motivo desse tipo de mistura. A autora ainda cita que a seletividade dos herbicidas inibidores da ALS não pode ser prevista apenas pelo grupo químico, pois dentro de um mesmo grupo existem herbicidas indicados somente para algumas espécies, que se dá pelo fato da diferente capacidade que cada cultura metaboliza um herbicida em particular.

Giliardi afirma que a associação do uso exacerbado e a capacidade com que plantas daninhas desenvolvem resistência a este grupo, corroborou para a seleção de um grande número de espécies resistentes aos inibidores da acetolactato sintase (ALS).

Na tabela 3 estão dispostos de forma comparativa as informações dos herbicidas e para que culturas cada um é recomendado.

**Tabela 3.** Informação comparativa dos herbicidas.

Produto	Ingrediente ativo (Grupo Químico)	Fórmula Bruta	Fórmula Estrutural	Indicação

Vezir	Imazetapir (Imidazolinonas)	$C_{15}H_{19}N_3O_3$		Culturas de arroz, feijão e soja.
Ally	Metsulfurom Metílico (Sulfonilureia)	$C_{14}H_{15}N_5O_6S$		Culturas de arroz, aveia, aveia preta, cevada, pastagens, trigo, cana-de-açúcar.

Fonte: Autora (2018)

## 2.4.4 Agrotóxicos em animais

### 2.4.4.1 Efeito tóxicos do Imazetapir em animais

Segundo a ficha de informações de segurança do Adama, o herbicida Vezir possui toxicidade para organismos do solo:  $CL_{50}$  (14 dias): 2388,89 mg/Kg do peso seco de solo artificial.

De acordo com o fabricante do Vezir, testes de toxicidade estabeleceram a (dose letal em 50% dos organismos)  $DL_{50}$  oral aguda e dérmica para ratos, maior que 2000 mg/kg de peso vivo. A (concentração letal em 50% dos organismos)  $CL_{50}$  inalatória, no teste de toxicidade inalatória aguda, para o produto foi superior a 20 mg/L, em ratos.

Após administração oral em ratos, 92% da dose administrada foi excretada na urina e 5% nas fezes, dentro de 24 horas. Os níveis de resíduos no sangue, rins, músculo e tecido adiposo foram < 0,01 ppm após 48 horas (ADAMA, 2018)

### 2.4.4.2 Efeito tóxicos do Metsulfurom Metílico em animais

De acordo com a PAN (2018), Ally apresenta leve toxicidade e provável contaminação água. Segundo a ficha de informações de segurança de produtos químicos Dupont, o Ally apresentou toxicidade para organismos do solo:  $CL_{50}$  (14 dias) > 1000 mg/kg.

Este herbicida tem baixa toxicidade em mamíferos, baseado em testes de clínicos laboratório, a DL<sub>50</sub> oral de metsulfon-metil é > 5.000 mg/kg em ratos e DL<sub>50</sub> aguda dérmica (ratos) maior que 2.000 mg/kg de massa corporal. Em testes com coelhos tem baixa DL<sub>50</sub> dermal > 2.000 mg/kg e baixa toxicidade de inalação em ratos, com uma concentração letal mediana > 5 mg/L.

A avaliação após administração oral, em diferentes doses nos animais, indicou que o produto e seus metabólitos foram rapidamente excretados, no período de 96 horas, principalmente por urina (média 87,4%) e fezes (média 7,9%). Menos que 1% da dose administrada foi retida em órgãos e tecidos (DUPONT, 2018).

## 2.5 Agrotóxicos e o Meio Ambiente

O Instituto brasileiro IBGE (2013) constatou que os resíduos de agrotóxicos são a segunda principal fonte de contaminação das águas brasileiras, perdendo apenas pela contaminação por esgoto sanitário. A contaminação por essas substâncias pode se dar de duas formas, as diretas que é da própria aplicação do produto, derramamento ou uso de forma inadequada. Ou de forma indireta a partir do contato solo-agrotóxico, que se dá através da percolação. Atingindo os lençóis freáticos subterrâneos que podem ser contaminados através da lixiviação da água e da erosão dos solos; através da volatilização sendo transportado e depositado em locais distantes da área de aplicação e atingir solo, água e espécies sensíveis a essas substâncias. Um exemplo, os polinizadores, que são fundamentais para a produção agrícola, estes são impactados tanto na diversidade quanto na abundância (PINHEIRO; FREITAS, 2010; BARREIRA; PHILIPPI, 2002).

Ao atingirem o solo, os agrotóxicos são submetidos a várias reações e processos, físicos, químicos e biológicos, podendo levar a formação de subprodutos com propriedades absolutamente distintas do produto inicial. Uma vez adsorvidos pelas partículas do solo, ocorrem os processo de degradação, transporte por lixiviação, escoamento superficial ou volatilização (MARTINII *et al.*, 2012; BRASIL, 2018).

Oliveira *et. al.*, (2009) relata que além da aplicação do produto isolado, é comum a mistura de agrotóxicos seja por manipulação comercial ou pelo próprio agricultor, o qual manipulado muitas vezes de forma inadequada. As aplicações sequenciais de associação de agrotóxicos, já realizadas para causar efeito sinérgico nas pragas da lavoura, podem

potencializar os efeitos negativos alterando o equilíbrio da comunidade microbiana do solo; além de contribuir no desenvolvimento de imunidade e resistência a esses agrotóxicos (RODRIGUES, 2007).

Estudos comprovam que o uso de produtos como os agrotóxicos e a intensificação da agricultura acaba prejudicando a biodiversidade do solo, resultando em um desequilíbrio ecológico, comprometendo a qualidade dos compartimentos ambientais, tal como o solo, a água, o ar e até mesmo a qualidade dos alimentos (NUNES, 2007). O modelo de agricultura estabelecido no Brasil demanda uma elevada quantidade de agrotóxicos, sendo estes, de efeitos variáveis, podendo atingir facilmente organismos não alvos e ocasionar desequilíbrio ecológico. Diversos estudos têm demonstrado a nocividade de agrotóxicos sobre predadores naturais, sensíveis a esses químicos (COSTA *et al.*, 2012; POLETTI *et al.*, 2008).

Quanto aos organismos do solo, Morais (2010), salienta que a maioria dos agrotóxicos, sendo usado dentro dos limites estabelecidos, é considerado inofensivo. Entretanto, se o uso das dosagens for acima da permitida, a toxicidade dependerá das características do solo, sendo elas tanto químicas, quanto físicas e biológicas, podendo afetar ou não a micro e macrofauna ali presente. Alisson (2016) salienta que além da contaminação do solo e da água, o uso de agroquímicos podem atingir organismos vivos que não são prejudiciais à lavoura e extinguir determinadas espécies fundamentais para o equilíbrio ambiental, levando ao aparecimento de pragas secundárias. O destino de agrotóxicos no ambiente é governado por processos de retenção (sorção, absorção), de transformação (degradação química e biológica) e de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e por interações desses processos.

Um entendimento dos processos do comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente é essencial para direcionar planos de monitoramento dos riscos ambientais. A variedade de agrotóxicos usados representa muitas classes de substâncias químicas orgânicas e os tipos de interações desses compostos no ambiente são enormes (SPADOTTO, 2004).

## **2.6 Modelo**

### **2.6.1 Características Gerais**

As características da minhoca as classificam como membro de suma importância nos processos do solo, alterando habitats já existentes e proporcionando condições para que outros grupos de organismos se estabeleçam através da sua atividade (BROWN, 1995; MARAUN *et al.* 1999). Quando algum contaminante atinge o solo elas são diretamente afetadas, sendo que são animais que dependem da qualidade desse ambiente, pois ingerem a maior parte da biomassa existente (LIU, 2005).

As minhocas são grandes responsáveis pela decomposição da matéria orgânica. Elas afetam diretamente a taxa de decomposição alimentando-se e digerindo a matéria orgânica e microrganismos presentes no solo (AIRA *et al.*, 2007). Além disso, podem sobreviver em ambientes com ampla variação de umidade e temperatura, de 70% a 90% e de 0°C a 35°C respectivamente (SCHIEDECK, 2010).

São essenciais na dinâmica do solo e na ciclagem dos nutrientes, são responsáveis pela regulação da disponibilidade de recursos e por proporcionar um ambiente propício para as demais espécies, causando mudanças físicas em materiais bióticos e abióticos. São comumente chamados de engenheiros do ecossistema, pois afetam as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, através do seu papel, como fundição e escavação (JONES, 1994).

A minhoca *Eisenia fetida* apresenta listras evidentes ao longo do corpo e despigmentação na área que circunda o sulco entre seus segmentos, mostrando-se amarela ou pálida. Em diversos países essas características fizeram-na ser vulgarmente conhecidas por “minhoca-listrada” ou “minhoca tigre”. Pertencem ao filo Annelida (constituído por mais de 8.700 espécies). Essas minhocas são saprófagas, ou seja, alimentam-se unicamente de substratos decompostos ou em decomposição, quer seja animal ou vegetal (LOURENÇO, 2010).

Lourenço (2010) relata que as minhocas apresentam segmentação, externa e interna, possuem cinco pares de coração, dois pares de rins, o sangue percorre através de um canal capilar e vasos sanguíneos que estão presentes ao longo do corpo. Tipicamente mede 2-6 mm de largura e 26-130 mm de comprimento (DISMORE, 2016). A respiração é cutânea, feita através da pele por ramificações capilares, para que esta ocorra à pele deve estar úmida, sendo assim existe uma necessidade de umidade no seu habitat.

São animais fotofóbicos, tendo assim a necessidade de afastar-se da luz solar, seja natural ou artificial. Embora as minhocas não possuam olhos, possuem células foto receptoras em sua epiderme, as quais são sensíveis à luz (principalmente a solar) e

permite a distinção entre a luz e a escuridão, identificar vibrações para encontrar alimento e parceiro de reprodução (LOURENÇO, 2010).

Ao entrarem em contato com poluentes que podem estar na solução do solo ou adsorvidos nas partículas minerais e na matéria orgânicas, elas podem absorver os contaminantes por meio de contato direto e pela passagem pela cutícula (CASTELLANOS e HERNANDEZ, 2007). A partir desse contato, as minhocas podem se intoxicar sobreviver ou morrer, incorporar e até bioacumular esses poluentes em seus tecidos (CURRY, 2004).

### 2.6.2 Ciclo de Vida

Com o ambiente e a temperatura favoráveis, a reprodução das minhocas se dá ao longo de todo o ano, principalmente nos períodos quentes e úmidos e, preferencialmente, à noite. Como essa espécie é hermafrodita incompleta, ou seja, não existe autofecundação, dependendo sempre da união com outro para que os casulos de ambas sejam fecundados o que é chamado de fecundação cruzada. Entre sete a dez dias as minhocas produzem um casulo, semelhante a uma cabeça de alfinete com formato de grão de arroz com aproximadamente 3 mm de diâmetro, eles podem conter 8 a 20 minhocas embrionárias, no entanto, apenas 1 a 5 geralmente emergem (LOURENÇO, 2010; DISMORE, 2016).

O período de incubação do casulo gira em torno de 18 a 26 dias e, após a eclosão, a maturidade sexual é atingida ao redor de 28 a 30 dias. A puberdade da espécie é identificada pela presença de clitelo, semelhante a uma cita de cor alaranjada clara, em torno de seu corpo, localizando-se 1/3 do seu comprimento. Cada minhoca, em condições ideais, pode originar mais de 500 descendentes durante um ano. Logo após seu nascimento, as minhocas são brancas passando a ter a cor pela a qual são conhecidas à medida que se crescimento vai se intensificando (LOURENÇO, 2010; SCHIEDECK, 2010).

Segundo Tripathi & Bhardwa (2004), as espécies de minhocas *E. fétida* completaram seu ciclo de vida em 4 meses. Para Guimarães (2018), a *Eisenia fetida* alcançam a idade máxima de seis anos. A expectativa de vida de *Eisenia fetida* sob condições controladas varia, de acordo com diferentes autores, de um a seis anos (REYNOLDS, 1977; EDWARDS & LOFTY 1977).

### **2.6.3 Por que *Eisenia fetida* foi escolhida como modelo:**

A espécie do gênero *Eisenia fetida*, de acordo com os padrões da OECD, são qualificadas para testes de toxicidade para fins de registro de agrotóxicos, junto aos órgãos regulamentadores de diversos países, sendo que são testes internacionalmente aceitos e permitem padronização de estudos e comparações internacionais, (OECD, 1984), além da facilidade do cultivo em laboratório.

As minhocas são muito utilizadas como bioindicadores devido suas características, sua importância para a saúde do solo (PAPINI e ANDREA, 2004), e sua distribuição cosmopolita. Assim sendo, elas compreendem 40% a 90 % da biomassa da macrofauna da maioria dos ecossistemas tropicais (FRAGOSO *et al.* 1999).

A espécie adotada para esse estudo é a *Eisenia fetida*, recomendada e aceita em protocolos internacionais de testes de toxicidade (OECD, 1984), além do fácil cultivo em laboratório.

## **3. METODOLOGIA**

O método consiste na exposição de organismos adultos da espécie *Eisenia fetida* a várias concentrações dos herbicidas (Vezir, Ally, Vezir + Ally), durante um período de 14 dias para análise de sobrevivência e comportamental. Para a análise de reprodução os animais serão acompanhados por um período de 40 dias. Para a avaliação da toxicidade foi utilizado às diretrizes estabelecidas para os ensaios de toxicidade aguda, reprodução e teste de fuga respectivamente, de acordo com as normas ISO 11268-1 (ISO, 2012), ISO 11268-2 (ISO, 2012), ISO 17512- 1 (2007) e ABNT NBR 15537 (2014). Os resultados obtidos foram calculados a partir da média aritmética entre as triplicatas.

### **3.1 Manutenção do Organismo-teste**

Os organismos foram sincronizados, a fim que todos os indivíduos tivessem diferença de idade de no máximo de 30 dias e na fase de puberdade. A sincronização

consiste em deixar minhocas adultas e com clítelo desenvolvido dentro de um substrato por 30 dias, após esse período as minhocas serão retiradas, sendo deixadas nos recipientes somente os casulos, que permanecerão por aproximadamente 60 dias, tempo necessário para as minhocas atingirem a fase adulta (clítelo desenvolvido).

Os organismos sincronizados possuíam idade superior a dois meses, estando na fase da puberdade, que é caracterizada pela presença de clítelo. Apresentaram massa individual entre 300 mg e 600 mg. Os organismos foram avaliados de acordo com o peso, tamanhos, mortalidade e comportamento a cada sete dias durante o período de quatorze dias. Para a análise de postura e eclosão de casulos, os animais foram acompanhados por 42 dias.

A matriz dos organismos testes utilizados nos ensaios foram adquiridos por doação da vermicompostagem da Escola Técnica Estadual Dr. Rubens da Rosa Guedes (ETEERG). Ao longo dos ensaios, não foi fornecido nenhum tipo de suplemento às minhocas, pois será utilizado solo natural já adubado.

### 3.2 Preparo do Solo

Seguindo a norma da ABNT NBR 15537 (2014) para a realização dos testes, o solo foi seco naturalmente em local sombreado, em seguida passou por dois ciclos de congelamento, em um freezer, por um período de 48h, posteriormente por iguais períodos de temperatura ambiente, eliminando possíveis casulos de minhocas e de outros organismos invertebrados. Após esse processo o solo foi peneirado em peneira com 2,00 mm de abertura, para a retirada de qualquer casulo presente.

Para o cálculo da umidade inicial foi utilizado a equação 1, a qual está expressa a seguir:

$$Umidade\ inicial(\%) = \frac{(P_u - P_s)}{P_s} \times 100 \text{ Equação (1)}$$

$P_u$  é a massa da amostra do solo;

$P_s$  é a massa após a secagem (temperatura 105°C durante 24h).

A norma da ABNT NBR 15537 indica que a umidade seja ajustada em 35% do peso seco do substrato, de modo que quando comprimido não apareça água. Caso não se

obtenha essa umidade do solo natural, a mesma será calculada pela equação 2 a qual é expressada:

$$\text{Volume de água necessária (ml)} = \frac{(\text{Umidade final} - \text{Umidade inicial}) \times M}{100} \text{ Equação (2)}$$

Onde: M é a massa total de solo.

Após o tratamento do solo, a umidade foi ajustada em 35% com adição de aproximadamente 20 ml de água. O teor ótimo de água foi atingido quando verificou-se a ausência de água parada ou água livre, ou seja, não se visualizou água quando comprimido (ISO 17512-1, 2008). Ao longo do experimento se fez necessária a adição de água, através de um borrifador, para manter a umidade em 35%.

### 3.3 Recipiente de testes

Foram utilizados 400 g de solo em recipientes redondos de plásticos, com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas, evitar o ressecamento do solo, e também impedir que as minhocas se acumulem nas bordas, devido à presença dos contaminantes.

Os mesmos foram revestidos de papel alumínio lateralmente a fim de evitar a interferência e fotodecomposição dos herbicidas. Os recipientes foram mantidos na bancada do laboratório em temperatura ambiente.

### 3.4 Concentrações

As concentrações dos herbicidas que foram utilizadas, conforme descritas na tabela 4, foram estipuladas a partir da concentração letal CL<sub>50</sub> (14 dias) baseadas em dados obtidos nas bulas, sendo elas, 1000 mg de Ally /kg e 2388,89 mg de Vezir /kg (B). O mesmo foi considerado para realizar as dosagens para a associação dos herbicidas, partir da CL<sub>50</sub> do Ally e Vezir.

Para a estimativa de concentração aplicada em áreas de cultivo de arroz, foram calculadas as concentrações individuais dos herbicidas a partir dos dados de aplicações indicados na bula. Para encontrar a concentração do produto ativo em 1 ha, utilizou-se uma relação de 1 L/ha onde se levou em consideração 20 cm de profundidade e densidade do solo de 1,2 para o cálculo de concentração em mg/kg de solo. As diluições aplicadas em solo foram feitas a partir da formulação comercial dos Herbicidas Ally e Vezir das Empresas Dupont e Adapar, respectivamente.

**Tabela 4.** Concentrações dos herbicidas.

<b>Grupo</b>	<b>Amostra</b>	<b>Concentrações (mg/kg )</b>
<b>CTRL</b>	Controle	–
<b>A</b>	Ally CL <sub>50</sub>	1000
<b>B</b>	Vezir CL <sub>50</sub>	2388,89
<b>C</b>	Ally + Vezir 25% CL	250 + 597,22
<b>D</b>	Ally + Vezir 50% CL	500 + 1194,445
<b>E</b>	Ally + Vezir 100% CL	1000 + 2388,89
<b>F</b>	Ally (recomendado)	0,00072
<b>G</b>	Vezir (recomendado)	0,439
<b>H</b>	Ally + Vezir (recomendado)	0,00072+ 0,439

Fonte: Autora 2018.

### 3.5 Preparo das amostras

Para o experimento foram utilizadas 144 minhocas, sendo que em cada recipiente foi posto 6 minhocas ao longo dos ensaios, não foi fornecido nenhum tipo de suplemento às minhocas. Foram utilizados 400 g de solo em cada recipiente. As concentrações foram divididas em sete grupos mais controle, todos realizados em triplicatas.

### 3.6 Testes de toxicidade aguda

Os ensaios de toxicidade foram realizados com base nas normas ISO 11268-1 (ISO, 2012) e ABNT NBR 15537 (2014). Todos os ensaios foram realizados em triplicata, o resultado é a média aritmética dessas repetições. Foi realizada apenas uma aplicação dos contaminantes durante todo experimento. O teste durou 14 dias, na qual a letalidade foi registrada no 7º dia e no final do experimento. A letalidade foi avaliada através da transferência do solo teste para uma bandeja, permitindo a contagem dos organismos mortos. Os organismos-teste mortos foram retirados do ensaio.

Após a contagem os organismos foram realocados nos recipientes-testes de origem, e foram mantidos até o final do experimento, onde passaram pelo mesmo processo descrito anteriormente. Na tabela 5, estão descritas as informações necessárias para realização do teste de toxicidade aguda em minhocas.

**Tabela 5.** Resumo para realizar o ensaio ecotoxicológicos de efeito agudo de minhocas.

<b>Dados</b>	<b>Condição</b>
Tipo de ensaio	Estático
Duração	14 dias
Organismo- teste	Adultos de <i>Eisenia fetida</i> ente 300mg e 600mg de massa corporal
Tipo de solo	Natural
Quantidade de solo- teste/ recipiente- teste	400g de solo/ redondo plástico
Numero de concentrações	Sete mais controle
Numero de réplicas	Três
Número de organismos por replicas	Seis
Alimentação	Nenhuma
Efeito observado	Letalidade

**Fonte:** Adaptado de ABNT NBR 15537 (2014).

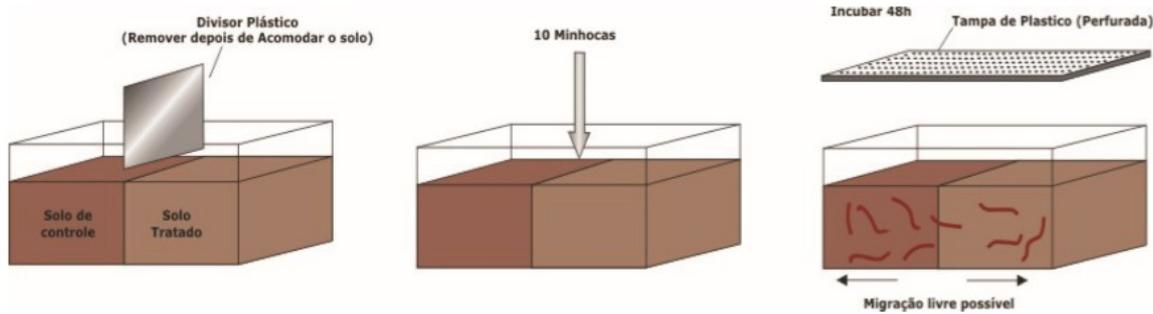
### 3.7 Teste de Fuga

O teste de fuga baseia-se na ISO 17512-1 (2011), esse teste consiste na análise da tendência do organismo de evitar o solo-teste contaminado, chamado de teste de fuga ou comportamento de fuga, onde será detectada a capacidade de reconhecer o solo contaminado. As minhocas foram colocadas, ao mesmo tempo, em câmaras com duas seções nos solos- controle e no solo-teste, as quais puderam escolher entre os ambientes.

Em um recipiente foram postos 200 g do solo-teste e 200 g do solo-controle separados por um divisor (plástico ou papelão). Após a retirada do separador, foram colocadas 6 minhocas na fenda, possibilitando que elas cavassem para um dos lados, os

testes foram realizados em triplicata de cada amostra (solo-controle e solo teste). Ao final do teste (48h), foi posto o separador novamente (Figura 6).

**Figura 6.** Esquema do teste de evitamento.



**Fonte:** Garcia (2004)

Ao término do teste, foi realizada a contagem de contagem os indivíduos em ambos os lados, o resultado é expresso pela Equação 3:

$$X = \frac{(nc - nt)}{N} \cdot 100 \text{ Equação (3)}$$

$x$  é a fuga, expressa em porcentagem;

$n_c$  é o número de minhocas no solo-controle;

$n_t$  é o número de minhocas no solo-teste;

$N$  é o número total de minhocas (geralmente 10).

Se 80% das minhocas tiverem preferência pelo solo controle caracterizamos o solo teste como apresentando “função de habitat limitada”, ou seja, a substância pode provocar impacto no ambiente, dificultando o desenvolvimento e manutenção da vida naquele ambiente.

### 3.8 Testes de ganho de biomassa

A ISO 11268-2 (2012) foi a diretriz seguida para o teste de ganho de biomassa. É um teste que consistiu no monitoramento do ganho e perda de massa corpórea das minhocas, o qual é avaliado num período de 14 dias. O peso foi registrado no 1º dia (início do experimento) e no 14º dia (final do experimento), sendo registrado e analisado a

perda e/ou ganho de biomassa. Todas as concentrações foram realizadas em triplicatas, o resultado é expresso através da média aritmética dessas repetições.

### **3.9 Testes de reprodução**

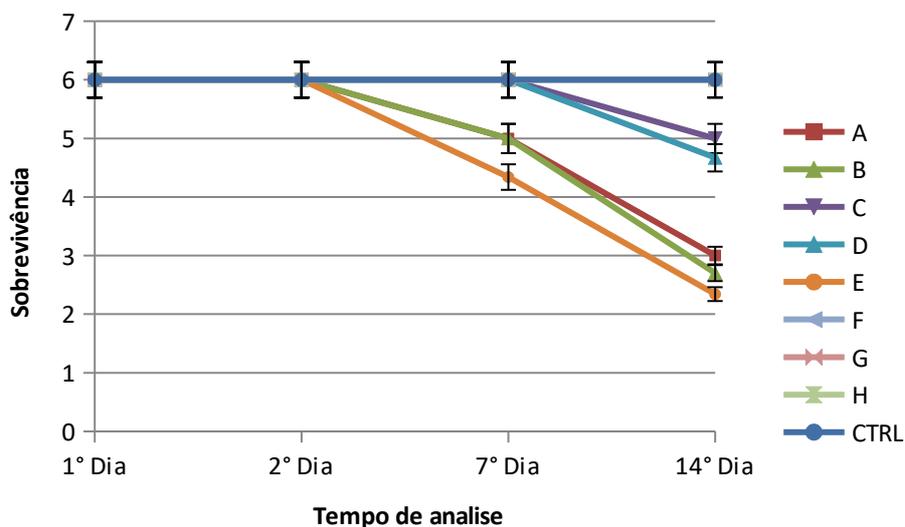
O teste de reprodução foi realizado após os testes anteriores, as minhocas sobreviventes foram observadas e monitoradas durante o período de 42 dias. Posteriormente, ao término do ensaio foi feita a contagem dos casulos e de indivíduos casulos. Os resultados serão expressos através da média dos indivíduos casulos e casulos encontrados nos recipientes.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **4.1 Testes de toxicidade aguda**

A figura 7, demonstra a média de sobrevivência das minhocas *E. fetida* quando expostas à um gradiente de concentração das formulações dos herbicidas, durante 14 dias. O gráfico demonstra o número de indivíduos sobreviventes encontrados.

**Figura 7.** Relação entre as dosagens dos herbicidas versus o número de sobreviventes encontrados (média dos tratamentos  $\pm$  desvio padrão amostral).



\*A - Ally CL<sub>50</sub> (1000 mg/kg); B - Vezir CL<sub>50</sub> (2388,89 mg/kg); C - Ally + Vezir 25% CL (250 + 597,22) mg/kg; D - Ally + Vezir 50% CL (500 + 1194,445); E - Ally + Vezir 100% CL<sub>50</sub> (1000 + 2388,89) mg/kg; F - Ally recomendado (0,00072 mg/kg); G - Vezir recomendado (0,439 mg/kg); H - Ally + Vezir recomendado (0,00072 + 0,439) mg/kg. Para N igual a 3

No período de 14 dias, houve a morte de mais de 50% dos indivíduos, nas doses individuais estabelecidas como CL<sub>50</sub>, sendo elas: 2388,89 mg Ally.kg<sup>-1</sup>(A); 1000 mg Vezir.kg<sup>-1</sup> (B), com mortalidade de 55,56%; 50,02%, respectivamente. Nas concentrações de associação (Ally + Vezir), a mortalidade total registrada nas dosagens, (1000 +2388,89) mg.kg<sup>-1</sup>(E); (500 + 1194,445) mg.kg<sup>-1</sup>(D); (250 + 597,22) mg.kg<sup>-1</sup>(C), foi de 66,68%; 22,24%; 16,67%, respectivamente. Assim os resultados sugerem que a associação dos herbicidas potencializa seu efeito sobre a mortalidade dos organismos do solo.

Foi possível averiguar que não houve morte dos indivíduos durante o período dos ensaios nas doses recomendadas, F, G, H e CTRL. Sendo que através do gráfico podemos verificar que o numero de sobreviventes não apresentou queda. Assim, os resultados sugerem que concentrações recomendadas não apresentaram risco à vida dos organismos testes.

Nos sete primeiros dias de experimento, não houve morte maior que 50% dos indivíduos, porém nota-se que a concentração (E), registrou o maior índice de mortalidade com cerca de 28% (7º dia). A mesma dosagem apresentou maior taxa de mortalidade com mais de 65% (14º dia), assim a mortalidade teve uma acentuação em relação às dosagens individuais da CL<sub>50</sub>.

Em estudos realizados com camundongos de laboratório utilizando o herbicida Alteza® 30 SL, composto por dois herbicidas (Imazetapir + Glifosato), apresentou DL<sub>50</sub> aguda oral (ratos) superior a 5.000 mg/kg de peso (BASF, 2018).

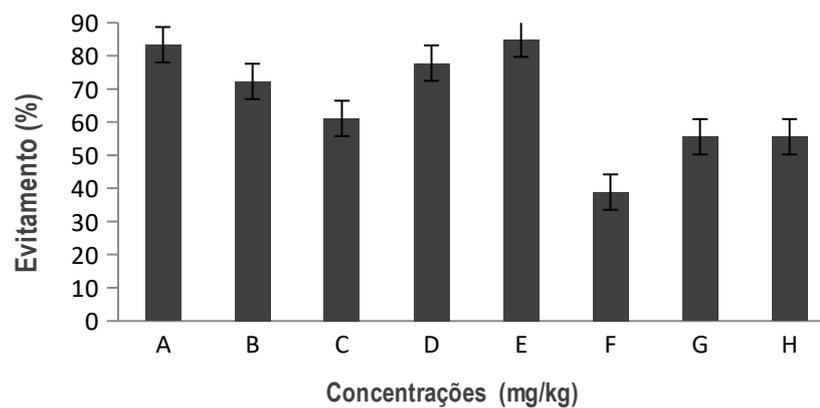
Estudos semelhantes realizados com o herbicida 2,4 D e Glifosato resultaram na morte aproximadamente 70% das minhocas em todas as concentrações avaliadas. Os organismos foram expostos a concentrações de 1, 10, 100, 500, 1000 mg.Kg<sup>-1</sup> (OECD 2004). Segundo constatou, Santos (2018), por meio de teste de letalidade com minhocas, o herbicida Ally apresentou mortalidade apenas em altas concentrações, bem superior à dose prevista em campo. Ressaltando assim, que as doses recomendadas não oferecem riscos a vida da espécie em estudo.

Nota-se que a concentração (E), obteve uma diferença, cerca de 15% a mais, quando comparado com a porcentagem da menor mortalidade da CL<sub>50</sub> das concentrações individuais (dosagem 1000 mg Vezir. kg<sup>-1</sup> (B)), a qual apresentou cerca de 50% de mortalidade, em contrapartida a dosagem E, registrou o maior índice de mortalidade com cerca de 65% (14° dia), indicando assim que a associação dos herbicidas potencializou o efeito tóxico sobre a mortalidade da espécie.

#### 4.2 Teste de Fuga

A figura 8, expressa os resultados obtidos para o teste comportamental de fuga. Percebe-se que as concentrações 1000 mg.kg<sup>-1</sup> do herbicida Ally (A) e a associação dos herbicidas Ally e Imazetapir respectivamente, 1000 mg.kg<sup>-1</sup> + 2388,89 mg.kg<sup>-1</sup> (E), apresentaram mais de 80% de preferência pelo solo controle, ou seja essas concentrações mostram-se críticas para a manutenção da vida. No entanto a concentração E, apresentou números mais elevados de fuga, em relação às doses individuais. Sugerindo que a combinação dos mesmos favorece o comportamento de evitação do solo contaminado.

**Figura 8.** Relação entre as dosagens dos herbicidas e a distribuição dos organismos no recipiente (média ± desvio padrão)



\*A - Ally CL50 (1000 mg/kg); B - Vezir CL50 (2388,89 mg/kg); C - Ally + Vezir 25% CL (250 + 597,22) mg/kg; D - Ally + Vezir 50% CL (500 + 1194,445); E - Ally + Vezir 100% CL50 (1000 + 2388,89) mg/kg; F- Ally recomendado (0,00072 mg/kg); G - Vezir recomendado (0,439 mg/kg); H - Ally + Vezir recomendado ( 0,00072+ 0,439) mg/kg. Para N igual a 3

Nas demais concentrações (B), (C), (D), os indivíduos não apresentaram comportamento de fuga, sendo o resultado expresso por porcentagem, 72,24%; 61,13%; 77,8%, respectivamente. Observando o gráfico vemos que o comportamento de fuga acompanhou o aumento das dosagens. Segundo Schiedeck et. al. (2010), esse fato pode ser observado em situações de intoxicação aguda, onde as minhocas podem apresentar dificuldades de fugir do meio contaminado, induzindo a resultados errôneos.

Nas doses recomendadas não desencadeou o comportamento de fuga nas minhocas, apresentando 38,88% (F), 55,56 (G), 55,56 (H) respectivamente. Desta forma, não foi possível observar a manifestação do comportamento de fuga em minhocas quando submetidas a concentração inferior a CL<sub>50</sub> indicada.

Em testes de avaliação da toxicidade ambiental do agrotóxico Glifosato as concentrações de 8.000 mg.kg<sup>-1</sup> e 10.000 mg.kg<sup>-1</sup> apresentaram o mesmo índice de fuga ao contaminante (84%). A concentração de 4.000 mg.kg<sup>-1</sup> foi a dosagem que apresentou o menor valor de evitamento ao contaminante (76%) (MACHADO, 2016).

Foram observadas mudanças comportamentais nas minhocas expostas as maiores dosagens, elas apresentavam rigidez, movimentos lentos, e insensibilidade ao estímulo produzido com auxílio de uma pinça. As minhocas submetidas às menores dosagens, por sua vez, mostraram-se mais ativas e sensíveis ao estímulo. O mesmo comportamento foi relatado por Machado (2016).

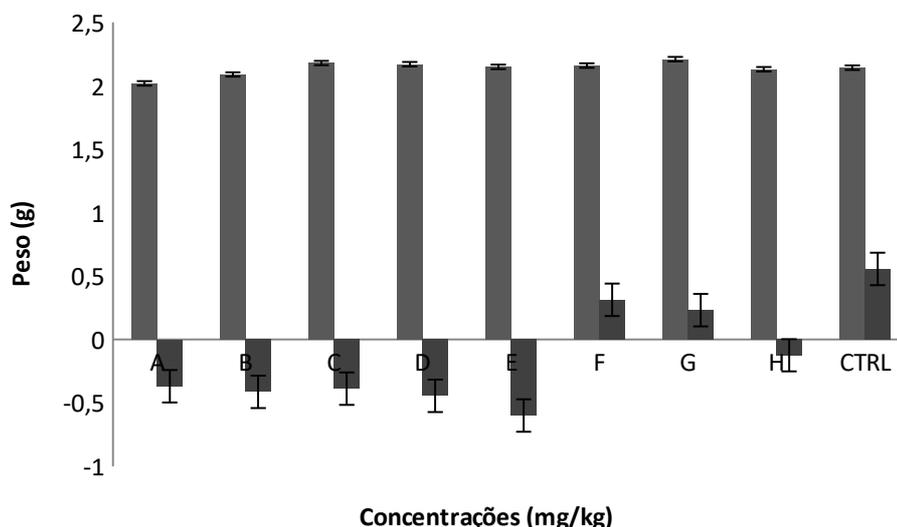
Contudo, mesmo que não sejam notados comportamentos de fuga em baixas concentrações à substância tóxica, não se pode afirmar com certeza que em exposição prolongada não haja efeitos deletérios aos organismos (BURATINI e BRANDELLI, 2006).

Faz-se necessária a ampliação dos estudos, simulando várias situações de contaminação, como exposições múltiplas, combinação de herbicidas e adjuvantes e também a utilização de testes que atuem no que tange ao entendimento de efeito notórios à longo prazo nos organismos terrestres.

#### 4.3 Testes de ganho de biomassa

Para o monitoramento do ganho de biomassa, foram calculadas e analisadas as porcentagens de ganho e perda de biomassa total e entre cada semana até o 14º dia, os resultados estão expressos na figura 9.

**Figura 9.** Relação entre as dosagens dos herbicidas e o ganho/perda de biomassa dos organismos (média  $\pm$  desvio padrão).



\*A - Ally CL50 (1000 mg/kg); B - Vezir CL50 (2388,89 mg/kg); C - Ally + Vezir 25% CL (250 + 597,22) mg/kg; D - Ally + Vezir 50% CL (500 + 1194,445); E - Ally + Vezir 100% CL50 (1000 + 2388,89) mg/kg; F- Ally recomendado (0,00072 mg/kg); G - Vezir recomendado (0,439 mg/kg); H - Ally + Vezir recomendado (0,00072+ 0,439) mg/kg. CTRL solo sem tratamento. Para N igual a 3

Após o registro dos pesos foi possível averiguar o ganho e a perda de biomassa dos indivíduos. Através do gráfico podemos verificar que houve uma perda de peso nas concentrações: A, B, C, D, E, H. Nas concentrações F, G e CTRL, observou-se um ganho de peso, sendo que o controle apresentou um ganho mais expressivo que os demais, sugerindo assim que esses herbicidas representam um obstáculo na obtenção de biomassa.

Os organismos das dosagens E, demonstraram ser os mais afetados com a substância, pois obteve a maior variação de biomassa. Em seguida estão as concentrações B e C, comprovando que a combinação dos herbicidas possui um efeito sobre a perda de biomassa acentuada, visto que a dosagem C prevaleceu dose A, com uma leve vantagem. Devemos observar que a concentração H “superou” em perda de biomassa, as dosagens recomendadas individuais, sugerindo mais uma vez, que a associação potencializa seus efeitos tóxicos.

As variações negativas na biomassa podem representar um indicador de estresse químico, a qual afeta quimicamente a dinâmica de obtenção de alimento orgânico, acarretando na perda de energia, conseqüentemente, reduzindo sua massa corpórea. De acordo com Shi *et. al*, (2014), as minhocas apresentam características estratégicas para garantir a sobrevivência em locais inóspitos, elas reduzem a ingestão de alimentos, a fim de evitar contaminação com produtos tóxicos, como produtos químicos, metais pesados entre outros.

Estudos realizados por Adama (2018), no qual o Vezir foi testado em ratos num período de 24 meses em diferentes concentrações, nas doses de 5.000 e 10.000 ppm observou-se redução do peso corporal e redução do ganho cumulativo de peso corporal nas fêmeas. O mesmo teste foi realizado num período menor, de 18 meses em diferentes concentrações. Na dose de 10.000 ppm observou-se redução do peso corporal e redução do ganho corporal em ambos os sexos. A ficha de segurança do herbicida Ally apresenta resultados de testes realizados em coelhos e ratos e, adverte que a exposição crônica a esta substancia leva a redução do peso corporal.

Outro teste realizados por Correia *et. al*, (2015), com organismos expostos (56 dias) a concentrações de glifosato de 1, 10, 100, 500, 1000 mg.Kg-1, mostraram redução de peso (perda de até 50%), Estes resultados sugerem que estes organismos estão sob-risco e podem inclusive desaparecer de plantações que usam este agrotóxico.

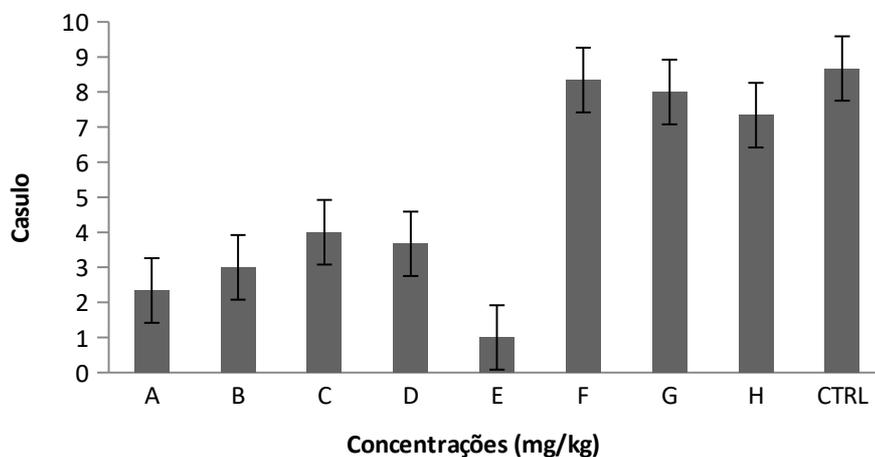
Segundo Daruich (2001), o mesmo foi observado em camundongos prenhes expostos à associação do ácido 2,4 diclorofenoxiacético e glifosato, os organismos experimentais expostos tiveram um decréscimo no consumo de água e comida, como consequência, houve uma redução no peso corporal. Em outro estudo similar, notou-se, nos ensaios com a formulação de Deltametrina quanto com glifosato, todas as dosagens apresentaram comportamentos distintos do controle. Em todos os experimentos com as substancias presentes, os organismos teste perderam biomassa com relação ao início do

ensaio; sendo que foram observado uma maior perda de biomassa a medida que aumentava a concentração de pesticidas aplicados (KANASHIRO, 2015)

#### 4.4 Testes de reprodução

Com este teste podemos verificar a influência dos contaminantes sobre o ciclo reprodutivo das minhocas, assim, podemos constatar com mais precisão os efeitos indiretos que são ameaças à vida destes organismos. Este trabalho fornece informações úteis para avaliar o risco potencial desses produtos químicos para os invertebrados do solo. Na figura 10, poderemos analisar os resultados deste ensaio.

**Figura 10.** Relação entre as dosagens dos herbicidas e o surgimento de casulos.



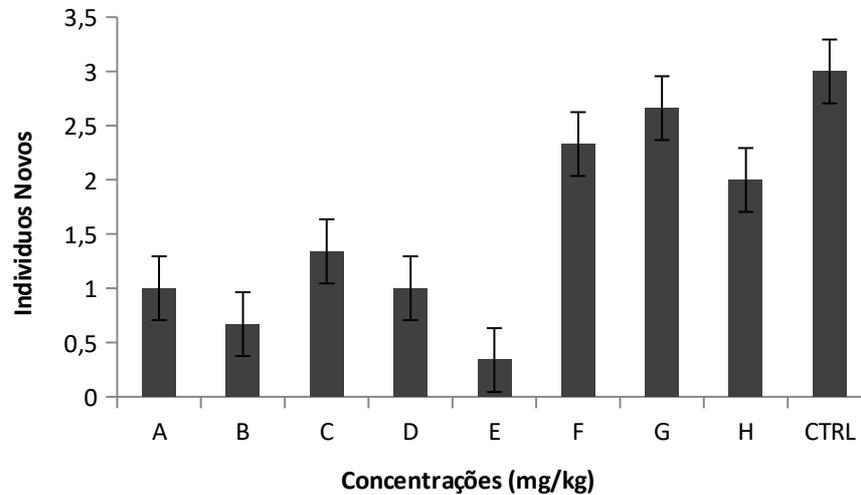
\*A - Ally CL50 (1000 mg/kg); B - Vezir CL50 (2388,89 mg/kg); C - Ally + Vezir 25% CL (250 + 597,22) mg/kg; D - Ally + Vezir 50% CL (500 + 1194,445); E - Ally + Vezir 100% CL50 (1000 + 2388,89) mg/kg; F- Ally recomendado (0,00072 mg/kg); G - Vezir recomendado (0,439 mg/kg); H - Ally + Vezir recomendado ( 0,00072+ 0,439) mg/kg. CTRL solo sem tratamento. Para N igual a 3.

Analisando a figura 10, podemos notar, que nas amostras que continham maior concentração dos herbicidas, houve a redução significativa de casulos. A dosagem que mais mostrou-se afetada negativamente em comparação com o CTRL, foi a E, que apresentou em torno de 1 casulo, já o grupo CTRL, apresentou cerca de 10 casulos, ou seja, o grupo E representou aproximadamente 10% dos organismos presentes no CTRL.

O decréscimo dos índices de casulos nas concentrações mais altas não está restrito somente ao aumento das dosagens de agrotóxico, considerando que foram utilizadas apenas as minhocas sobreviventes dos testes anteriores, resultando conseqüentemente, na redução de reprodutores presentes nas amostras mais

concentradas, levando a números desfavoráveis de casulos casulos nas concentrações mais altas.

**Figura 11.** Relação entre as dosagens dos herbicidas e o surgimento dos indivíduos e casulos.



\*A - Ally CL50 (1000 mg/kg); B - Vezir CL50 (2388,89 mg/kg); C - Ally + Vezir 25% CL (250 + 597,22) mg/kg; D - Ally + Vezir 50% CL (500 + 1194,445); E - Ally + Vezir 100% CL50 (1000 + 2388,89) mg/kg; F - Ally recomendado (0,00072 mg/kg); G - Vezir recomendado (0,439 mg/kg); H - Ally + Vezir recomendado ( 0,00072+ 0,439) mg/kg. CTRL solo sem tratamento. Para N igual a 3

A figura 11 demonstra que a quantidade de indivíduos Novos não foram expressivos. Observou-se que o número de casulos encontrados nas amostras decrescia conforme a dosagem dos herbicidas aumentava. Sendo mais agravado com a associação das CL<sub>50</sub> em relações a as doses individuais. Portanto, evidenciou-se que os herbicidas podem influenciar negativamente a reprodução das minhocas *E. fetida*, tanto na formação de casulos, quanto na eclosão dos mesmos, acarretando na redução de minhocas.

Nas concentrações indicadas, houve uma leve redução na reprodução em comparação ao grupo CTRL. Com base nos resultados, sugere-se que as doses recomendadas não afetam de forma tão expressiva na reprodução da espécie a curto prazo. As concentrações F, G, e H, apresentaram índices similares, com números de casulos muito próximos, visto que a aparição de casulos foi mais significativa quando comparado com a aparição de indivíduos novos, onde F e H apresentaram índices menores em relação a G, sugerindo assim que a substancia tóxica não afeta tão diretamente na reprodução de casulos, mais sim na eclosão dos mesmos, reduzindo em longo prazo de forma significativa, o nascimento de indivíduos da espécie em análise.

A concentração H (associação das concentrações recomendadas), apesar de não apresentar números tão distintos das concentrações recomendadas e do CTRL, no que tange ao número de casulos. Parece diminuir a viabilidade na eclosão de casulos e assim na aparição de indivíduos novos. Indicando que a associação recomendada apresenta-se como um obstáculo na reprodução, especificamente na eclosão dos mesmos.

De acordo com Lourenço (2010), uma minhoca produz um casulo em cada sete a dez dias, cada casulos contendo em media 7 casulos. Kanashiro (2015), relata que nos ensaios de toxicidade do Glifosato e da Deltametrina no modelo *E. fetida*, nas concentrações 6000 mg kg<sup>-1</sup> e 500 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente os número de indivíduos novos e casulos, decresciam a medida que aumentava a substância tóxica.

Testes realizados por Correia *et. al*, (2015), com organismos expostos por um período de 56° dias a concentrações de glifosato de 1, 10, 100, 500, 1000 mg.Kg-1, apresentaram parada reprodutiva.

Os resultados obtidos mostram que a adição dessas substâncias em doses elevadas propõem efeitos subletais e podem em um curto prazo levar à extinção da população local. A redução de casulos e eclosão dos mesmos se deve também, a mortalidade dos indivíduos, o cenário real que ocorre em campo; Onde as minhocas passam pelo processo de intoxicação e outros efeitos deletérios para o desenvolvimento das mesmas, e num curto prazo de tempo acabam acentuando a mortalidade da espécie em locais onde aplicadas substâncias nocivas para elas.

## 5. CONCLUSÃO

Com este estudo foi possível avaliar os efeitos causados pela associação e uso das doses recomendadas dos herbicidas Ally e Vezir. Os resultados demonstraram que associação potencializa o efeito tóxico sobre a mortalidade dos organismos do solo. Sendo que a concentração E, registrou o maior índice de mortalidade com cerca de 67%. Já com relação às doses recomendadas, os resultados sugerem que as mesmas não apresentaram risco à vida dos organismos testes, visto que não houve ocorrência de mortalidade nessas concentrações.

No comportamento de Fuga apenas as concentrações 1000 mg.kg-1 do herbicida Ally (A) e a associação dos herbicidas Ally +Imazetapir, 1000 mg.kg-1 + 2388,89 mg.kg-1

(E), apresentaram mais de 80% de preferência pelo solo controle. As doses recomendadas não apresentaram este comportamento.

Houve uma perda massa corporal nas concentrações: A, B, C, D, E, H, sendo que a H apresentou uma perda menos significativa com relação às outras concentrações. Sugerindo assim que esses herbicidas representam um obstáculo na obtenção de biomassa.

Os resultados sugerem que a adição destas substâncias pode acarretar na diminuição de casulos, eclosão, e aparição de indivíduos novos, mesmo em doses recomendada, as quais não apresentaram diminuição significativa a curto prazo, porém a longo prazo poderá resultar em perdas expressivas da população; E principalmente em doses elevadas, as quais apresentaram de forma mais imediata seus efeitos negativos sobre a reprodução. A dose H (associação das concentrações recomendadas), parece diminuir a viabilidade na eclosão de casulos e assim na aparição de indivíduos novos. Indicando que a associação recomendada apresenta-se como um obstáculo na reprodução, especificamente na eclosão dos casulos.

Este estudo fornece uma importante contribuição para o conhecimento da toxicidade dos herbicidas Ally e Vezir, visto que esses produtos, muitas vezes são aplicados em conjunto. Salienta-se também que na aplicação destes herbicidas deve se ter muita cautela, visto que na prática não há garantias de que a dosagem recomendada é de fato a aplicada pelos agricultores sendo que o uso irresponsável do mesmo pode prejudicar o ecossistema local.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) 2007. NBR15537 - Ecotoxicologia **terrestre - Ecotoxicidade aguda** - Método de ensaio com minhocas.

ADAMA, 2018. **Companhia de Agroquímicos Adama Brasil**. Disponível em:<<https://www.adama.com/brasil/pt/>>. Acesso 15 junho 2018

AIRA, M., Monroy, F. e Domínguez, J. 2007. Eisenia fetida (Oligochaeta: **Lumbricidae**) **Modifies The Structure And Physiological Capabilities Of Microbial Communities Improving Carbon Mineralization During Vermicomposting Of Pig Manure**. Microbial Ecology (2007) 54: 662.

ALMEIDA, V. E. S. de; CARNEIRO, F. 2010. **Brasil é o país que mais usa agrotóxicos no mundo**. Eco debate Cidadania e Meio Ambiente, Mangaratiba, Disponível em: < <http://www.ecodebate.com.br/2010/07/08/brasil-e-o-pais-que-mais-usa-agrotoxicos-no-mundo-artigo-de-fernando-ferreira-carneiro-e-vicente-eduardo-soares-e-almeida>>. Acesso em: 16 maio 2018

ANDRÉA, M. M. & S. PAPINI. 2010. **Influence Of Soil Properties On Bioaccumulation of 14c-simazine In Earthworms Eisenia fetida**. Journal of Environmental Science and Health, Part B. 40: 55-58.

ANTUNES, Paulo de Bessa. 2010. **Direito Ambiental**. 12<sup>o</sup>ed. Rio de Janeiro: Lumen Juris. P. 645

ANVISA (2012) **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu++noticias+anos/2012+noticias/seminario+volta+a+discutir+mercado+de+agrotoxicos+em+2012>> Acesso 04 junho 2018.

ARAÚJO, R. S.; GARCIA, M. V. B.; GARCIA, T. B. 2008. **Toxicidade aguda do herbicida Glifosato (Roundup) para Danio rerio (Teleostei, Cyprinidae), em condições tropicais**. Embrapa,

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – 2014. ABNT. NBR 15537: Ecotoxicologia terrestre. **Ecotoxicologia aguda**. Método de ensaio para minhocas. Rio de Janeiro. ABNT, 11 f.

BALSAN, R. 2006. **Impactos decorrentes da modernização da agricultura brasileira**. In: Campo e território: Revista de Geografia Agrária. Rio Grande, v. 1, n. 2, p. 123- 151, ago.

BASF, 2018. **Alteza® 30 SL Herbicida**. Disponível em: < <http://www.adapar.pr.gov.br> > Acesso 27 novembro 2018

BASTOS, C. S.; DANIELLE, J.; MARIA, R. **Seletividade de pesticidas à Chrysoperla externa (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae)**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007. (Comunicado técnico, 346).

BEZERRA, Juliana.2018. **Revolução Verde: O Que Foi**. Disponível em: <<https://www.todamateria.com.br/revolucao-verde/>>. Acesso em: 14 maio 2018.

BRASIL,2002. **Decreto Nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002 Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989.**

BRASIL,1934. **Decreto Nº 24.114 de 12 de abril de 1934.** .Brasília, DF

BRASIL,1989. **Lei nº 7802, de 11 de junho de 1989.** . Brasília, DF

BRASIL,2010. Luis Eduardo Pacifici Rangel. 2010. Secretaria de Defesa Agropecuária - Sda Departamento de Fiscalização de Insumos Agrícolas - Dfia Coordenação-geral de Agrotóxicos e Afins - Cgaa. **Agrotóxicos E Afins Legislação Federal e Fiscalização**. Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Color.

BRASIL,2018. **Ministério da Agricultura e Produção Agrícola**. Banco De Informações De Agrotóxicos E Indicação De Uso Para Combate A Pragas, Plantas Daninhas E Doenças. Disponível em:<[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/ap\\_produto\\_form\\_detalhe\\_cons?p\\_id\\_produto\\_formulado\\_tecnico=7706&p\\_tipo\\_janela=NEW](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_produto_form_detalhe_cons?p_id_produto_formulado_tecnico=7706&p_tipo_janela=NEW)> Acesso: 31 maio 2018

BRASIL 2018. **Ministério da Agricultura e Produção Agrícola**. Banco De Informações De Agrotóxicos E Indicação De Uso Para Combate A Pragas, Plantas Daninhas E Doenças. Disponível em:<[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/ap\\_ing\\_ativo\\_detalhe\\_cons?p\\_id\\_ingrediente\\_ativo=176](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_ing_ativo_detalhe_cons?p_id_ingrediente_ativo=176)>. Acesso: 31 maio 2018

BRASIL, 2018. **Ministério da Agricultura e Produção Agrícola**. Banco De Informações De Agrotóxicos E Indicação De Uso Para Combate A Pragas, Plantas Daninhas E Doenças ,2018. Disponível em:<[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/ap\\_ing\\_ativo\\_detalhe\\_cons?p\\_id\\_ingrediente\\_ativo=148&p\\_id\\_ingrediente\\_ativo=148&p\\_id\\_ingrediente\\_ativo=148&p\\_id\\_ingrediente\\_ativo=148](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_ing_ativo_detalhe_cons?p_id_ingrediente_ativo=148&p_id_ingrediente_ativo=148&p_id_ingrediente_ativo=148&p_id_ingrediente_ativo=148)>. Acesso: 31 maio 2018

BRASIL, 2018. **Ministério da Agricultura e Produção Agrícola**. 2018 Banco De Informações De Agrotóxicos E Indicação De Uso Para Combate A Pragas, Plantas Daninhas E Doenças, . Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/)>

ap\_produto\_form\_detalhe\_cons?  
p\_id\_produto\_formulado\_tecnico=7508&p\_tipo\_janela=NEW >. Acesso: 31 maio 2018

BRASIL, 2018. **Ministério do Meio Ambiente**. Agrotóxicos. Disponível em:<<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>>. Acesso em: 26 maio 2018.

BRASIL, 2008. **Portaria nº 191, de 15 de abril de 2008**. Portaria Ministro de Estado do Trabalho e Emprego. Nrr5. Brasília, DF

BRASIL, 2015. **Projeto de Lei 3200 de 2015** (Câmaras dos deputados) Revoga a atual Lei de Agrotóxicos (7802/1989), Brasília,DF.

BRASIL, 2015. Projeto de Lei 3200 de 2015 (Câmaras dos deputados) **Revoga a atual Lei de Agrotóxicos** (7802/1989) , Brasília,DF, maio 2015. Disponível em:<<http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=1295930&ord=1>> Acesso em: 06 junho 2018

BROWN, 1995. G. G. **How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity?**. Plant and Soil, The Hague, v. 170, 209-231.

BURATINI, S. V.; BRANDELLI, A. 2006. **Bioacumulação**. In: Zagatto, p. A; Bertoletti, (Eds). Ecotoxicologia Aquática. São Carlos: Editora Rimma, p. 56-88.

CARVALHO, A. E. F.; LEONEL, L. F.; MATSUBARA, K. G.; SILVA, E. M. F.; SASAKI, T. H.; MONZANE, P. V. G. **2009.Avaliação Ecotoxicológica De Ecossistemas Aquáticos Da Bacia Hidrográfica Do Rio Itaqueri (Itirapina/ Brotas, SP): uma análise espacial**. in: jornada científica e tecnológica da ufscar, anais.. são carlos: ufscar.

CASTELLANOS, L. R. & J. C. A. HERNANDEZ. 2007. **Earthworm Biomarkers Of Pesticide Contamination: Current Status And Perspectives**. Journal of Pesticide Science. 32: 360-371.

CASTRO, S. A. 2005. **Avaliação pontual da degradação e transporte do herbicida glifosato no solo da bacia do Arroio Donato – Pejuçara (RS)**. 102 f. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

CHAPMAN, P. M. -2006. **Emerging substances** Environmental Toxicology and Chemistry, v.25, n.6, p.1445-1447. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232005000500006>> Acesso em: 30 maio 2018

CHRISTOFFOLETI P. J. 2001. **Bioensaio Para Determinação Da Resistência De Plantas Daninhas Aos Herbicidas Inibidores Da Enzima ALS**. Bragantia, Campinas, 60(3), 261-265.

CORREIA F. V. et. al., 2015. **Glifosato, Superplantas e Subminhocas**. v. 6 n. 1 (2015): Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais.

CURRY, J. P. 2004. **Factors Affecting The Abundance Of Earthworms In Soils**. Pp. 91-113. In: C. A. Edwards (Ed.). Earthworm ecology. 2nd Ed. CRC Press, Boca Raton.

DARUICH, J; ZIRULNIK, F.; GIMENEZ, M. S. 2001. **Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats on their fetuses**. Environmental Research Section.

DISMORE, Francis. 2016. **Going on a worm hunt: Eisenia fetida, a stripy worm**. Disponível em: <<https://www.earthwormwatch.org/blogs/going-worm-hunt-eisenia-fetida-stripy-worm>>. Acesso em: 06 jun. 2018.

DUPONT do Brasil S.A. **Ally®** Cadastro Estadual nº 040 (Secretaria da Agricultura - SP) Disponível em: <[http://www.dupont.com.br/content/dam/dupont/products-and-services/crop-protection/documents/pt\\_br/Ally\\_Bula.pdf](http://www.dupont.com.br/content/dam/dupont/products-and-services/crop-protection/documents/pt_br/Ally_Bula.pdf)>Acesso em 31 maio 2018es\_pde/2012/2012\_unioeste\_cien\_artigo\_juliana\_piana.pdf>.Acesso em: 26 maio 2018.

DURNER, J.; GAILUS, V. & BOGER, P.1991. **New Aspects On Inhibition Of Plant Acetolactate Synthase Depend On Avin Adenine Dinucleotide**. Plant Physiol, 95:1144-1149.

EDWARDS, C.A. & LOFTY, J.R. 1977. **Biology of Earthworms**. Chapman and Hall, London.

EMBRAPA. 2011.**Manual de Métodos de Análise do Solo**. Rio de Janeiro, RJ, 2ª edição revisada

EXTONET. **Imazethapyr**. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/imazetha.htm>>. Acesso em: 10 maio 2018

EXTONET. **Metsulfuron**. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/metsulfu.htm>>. Acesso: 31 maio 2018

FAO (Food and Agriculture Organization). 2018. **Agricultural database**. Disponível em: <http://www.fao.org> Acesso em: 29 maio 2018

FAOSTAT, 2018 – **Food And Agriculture Organization Of The United Nations Statistics**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/> >Acesso em: 28 maio 2018

GARCIA, M. 2004. **Effects Of Pesticides In Soli Fauna: Development Of Ecotoxicological Reste Methods For Tropical Regions**. 2004. 291 f Tese (Doutorado)-Hohen Landwirthchaftlichen Faultat, Universidade de Bonn.

GAVRILESCU, M. 2005. **Fate of pesticides in the environment and its bioremediation**. Engineering in Life Sciences, v.5, n.6, p.497- 526, 2005. Disponível em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/elsc.200520098/pdf>> Acesso em: 22 maio. 2018

GAZZIERO, D.L; BRIGHENTI, A; MACIEL, C.D.G. CHRISTOFOLLETI, P; ADEGAS, F; VOLL, E. 1998. **Resistência de amendoim - bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS**. Planta daninha.

GILIARDI DALAZEN (São Paulo). Arysta Lifescience. **Mecanismos De Ação Dos Herbicidas: Inibidores Da Enzima ALS**. Disponível em:<[http://www.manejoderesistencia.com.br/uploads/ebooks/1491589671\\_ebook\\_arysta\\_mecanismos\\_de\\_a\\_o\\_dos\\_herbicidas.pdf](http://www.manejoderesistencia.com.br/uploads/ebooks/1491589671_ebook_arysta_mecanismos_de_a_o_dos_herbicidas.pdf)>. Acesso em: 31 maio 2018.

GOETZ, A.J., LAVY, T.L., GBUR, E.E., JR. 1990.**Degradation and field persistence of imazethapyr**. Weed Sci., v.38, n.4-5, p.421- 428.

GUIMARÃES A. A. Minhobox .2018. **Por quanto tempo vive uma minhoca?** Disponível em: <<http://www.minhobox.com.br/minhoquiz/post/pt/por-quanto-tempo-vive-uma-minhoca>>. Acesso em: 06 jun. 2018.

HOLLAWAY, K.L. et al , 2006. **Persistence and leaching of imazethapyr and flumetsulam herbicides over a 4-year period in the highly alkaline soils of south-eastern Australia.** Australian Journal of Experimental Agriculture, v.46, n.5, p.669-674.

IBGE. 2013. **IBGE Investiga o Meio Ambiente de 5.560 Municípios Brasileiros.** Disponível em:< <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br>> Acesso 04 junho 2018.

IBGE.2013. **Produção Agrícola Municipal: Comentários.** Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\_Agricola/Producao\_Agricola\_Municipal\_[anual]/2013/pam2\_013\_comentarios.pdf>.Acesso em: 28 maio 2018.

INCA. **Posicionamento Público do INCA a Cerca do Uso de Agrotóxicos.** Disponível em:<[http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/posicionamento\\_do\\_inc\\_a\\_sobre\\_os\\_agrotoxicos\\_06\\_abr\\_15.pdf](http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/posicionamento_do_inc_a_sobre_os_agrotoxicos_06_abr_15.pdf)> Acesso 04 junho 2018.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2012 – **ISO. 11268-1.** Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms -- Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2012 – **ISO. 11268-2** Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms -- Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2007 - **ISO. 17512-1.** Soil quality: Avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behavior. Part 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneva.

JONES, CG, Lawton, JH, Shachak, M. 1994. **Organismos Como Engenheiros Do Ecossistema.** Oikos 69: p. 373–386

KANASHIRO, Michelle Miyuki. 2015. **Avaliação Da Toxicidade Do Glifosato E Da Deltametrina Em Solo.** 2015. 66 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos.

LIU, X.; CHENGXIAO, H.; ZHANG, S. , 2005. **Effects on earthworm activity on fertility and heavy metals bioavailability in sewage sludge.** Environment International, Amsterdam, v. 31, p. 874-879.

LONDRES, F , 2011. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida.** – Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura. Alternativa 190 p.

LOURENÇO, N. M. G. 2010. **Características Da Minhoca Epígea Eisenia Foetida – Benefícios, Características E Mais-Valias Ambientais Decorrentes Da Sua Utilização.** Lisboa. 5p.

LUCCHESI, G, 2005. **Agrotóxicos–Construção Da Legislação.** Brasília, DF: Consultoria Legislativa.

MACHADO, Bettina Rodrigues. 2016. **Avaliação da toxicidade ambiental do agrotóxico Glifosato em solo utilizando como bioindicador minhocas da espécie Eisenia andrei.** 2016. 64 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MALLIPUDI, N.M. et al .1991. **Photolysis of imazapyr (AC 243997) Herbicide in aqueous media.** J. Agric. Food Chem., V.39, p412-417.

MARAUN, M.; ALPHEI, J.; BONKOWSKI, M.; BURYN, R.; MIGGE, S.; PETERS, M.; SCHAEFER, M.; SCHEU, S.1999. **Middens of the earthworm Lumbricus terrestris (Lumbricidae): microhabitats for micro-and mesofauna in forest soil.** Pedobiologia, Jena, v. 43, 276-287.

MARCHEZAN, E. et al .2010. **Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** Ciência Rural, v.40, p.1053-1059, . Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/cr/v40n5/a574cr2775.pdf>> Acesso em: 23 maio 2018.

MARTINS, M. B.; CORADIN, M. C.; ALVES, Y. S.; SCHREIBER, F.; ANDRES, A.; CONCENCO, G.; PITOL, A.; BEHENCK, J. P. 2017. **Controle de capim-arroz e arroz-daninho no arroz irrigado com herbicidas pré-emergentes.** In: Congresso Brasileiro De Arroz Irrigado, Gramado. Intensificação sustentável: anais. Gramado: Sosbai.

MOREIRA, J. C. et al, 2002. **Avaliação Integrada Do Impacto Do Uso De Agrotóxicos Sobre A Saúde Humana Em Uma Comunidade Agrícola De Nova Friburgo, Rj.** Ciência e Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, v. 2, n. 7, p. 299-311.

NETTO, Mariana. 2015. **A Legislação Ambiental Brasileira E O Uso De Agrotóxicos Proibidos No Exterior.**: Permissibilidade Da Lei Ou Falta De Efetividade? Disponível em: <<https://marianacnetto.jusbrasil.com.br/artigos/184178028/a-legislacao-ambiental-brasileira-e-o-uso-de-agrotoxicos-proibidos-no-exterior>>. Acesso em: 30 maio 2018.

NUNES, S. P. 2007. **O Desenvolvimento Da Agricultura Brasileira E Mundial E A Ideia De Desenvolvimento Rural.** Conjuntura Agrícola, v. 157. Disponível em: <<http://www.deser.org.br/documentos/doc/DesenvolvimentoRural.pdf>> Acesso em: 18 maio 2018.

OECD(Organization for Economic Cooperation and Development). 2004. **Guidelines for testing of chemicals. Test 222: Earthworm reproduction test (Eisenia fetida/ Eisenia andrei).** Paris: Organization for Economic Cooperation and Development.

OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). 1984. **Guideline 208: Terrestrial Plants, Growth Test.** OECD Guidelines for testing of chemical. OECD Paris.

OLIVEIRA J. S. 2016. **Blocos no poder, aparelhos de estado e o consumo de agrotóxicos no Brasil.** 117f. Dissertação (Mestrado em Economia) - Programa De Pós-Graduação Em Economia, Universidade Federal Da Bahia Faculdade De Economia, Salvador.

OLIVEIRA JUNIOR, Rubem Silvério de; CONSTANTIN, Jamil; INOUE, Miriam Hiroko. 2011. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas: Mecanismos de Ação de Herbicidas.** 8. ed. Brasil: Omnipax Editora, 348 p.

OLIVEIRA, T. A. de; LÁZARI, T. M. de; NUNES, G. 2009. **Efeito Da Interação Do Nicosulfuron Chlorpyrifos Sobre O Banco De Sementes E Os Atributos Microbianos Do Solo.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 33, n. 3, p. 563-570, maio/jun.

PAN- **Pesticide Action Network.** [[www.pesticideinfo.org](http://www.pesticideinfo.org)] Disponível em:<[http://www.pesticideinfo.org/Detail\\_Chemical.jsp?Rec\\_Id=PC33042](http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33042)> Acesso em: 11 maio 2018

PAN- **Pesticide Action Network.** [[www.pesticideinfo.org](http://www.pesticideinfo.org)] Disponível em:<[http://www.pesticideinfo.org/Detail\\_Chemical.jsp?Rec\\_Id=PC32809](http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC32809)> Acesso em: 31 maio 2018

PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. R. Da.2010. **A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente.** Revista de Economia, v. 36, n. 1, p. 27-48, jan./abr.

POLEZA, F; Souza, R. C; Stramosk, C. A; Rorig, L. Rubi; Resgalla Jr. 2008. **Avaliação Da Toxicidade Aguda Para O Organismo-Teste Vibrio Fischeri Dos Principais Herbicidas E Inseticidas Aplicados Na Lavoura De Arroz Irrigado Dos Estados De Santa Catarina E Rio Grande Do Sul.** Pesticidas: Ecotoxicologia e meio ambiente. Curitiba, v. 18, p. 107-114, jan./dez.

REYNOLDS, J.W. 1977. **The earthworms (Lumbricidae and Sparganophilidae) of Ontario.** Royal Ontario Museum, Toronto.

RIBEIRO, Luís Carlos. 2011. **Curso sobre agrotóxicos** ENFISA - Encontro de Fiscalização e Seminário Nacional sobre Agrotóxicos. Vídeo-aula publicada em 25 de maio de 2011. Disponível em: <[http://inovadefesa.ning.com/group/enfisa/forum/topics/curso-sobreagrototoxicos?xg\\_source=msg\\_mes\\_network](http://inovadefesa.ning.com/group/enfisa/forum/topics/curso-sobreagrototoxicos?xg_source=msg_mes_network)> Acesso:03 junho 2018.

ROMAN, E. S.; BECKIE, H.; VARGAS, L.; HALL, L.; RIZZARDI, M. A.; WOLF, T. M. 2007. **Como Funcionam Os Herbicidas: Da Biologia À Aplicação** / Editado por Erivelton Scherer Roman, Leandro Vargas. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier. Ed. 21. 152p.

SANTO, Fernanda. et. al. (2018). **Screening Effects Of Metsulfuron-Methyl To Collembolans And Earthworms: the role of adjuvant addition on ecotoxicity.** environmental science and pollution research. 25. 10.1007/s11356-018-2481-5.

SANTOS, Juliana Piana dos; POLINARSKI, Celso Aparecido. 2012. **Ação Local Efeito Global: Quem São Os Agrotóxicos?** In O professor PDE e os desafios das escolas públicas paranaenses. Paraná. Disponível em:<[http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/cadernospde/pdebusca/producoes\\_pde/2012/2012\\_unioeste\\_cien\\_artigo\\_juliana\\_piana.pdf](http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/cadernospde/pdebusca/producoes_pde/2012/2012_unioeste_cien_artigo_juliana_piana.pdf)> Acesso 04 junho 2018.

SCHERER E.R; Vargas L; Rizzardi M A.; Hall L; 2005. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação** / Editado por Erivelton Scherer Roman,. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 152p. : il.

SCHIEDECK, G. 2010. **Espécies De Minhocas Para Minhocultura**. Artigo em Hypertexto. Disponível em:<[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_4/minhocultura/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/minhocultura/index.htm)>. Acesso em: 04 junho 2018

SHANER, D.L.; O'CONNOR, S. Eds. 1991 **Imidazolinones Herbicides**. Boca Raton: CRC, 290p

SILVA, A. A.; SILVA, J. F.2007. **Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas. Viçosa**. Editora UFV, 367p.

SILVA, D. R. O.; AVILA, L. A.; AGOSTINETTO, D.; BUNDT, A. ; PRIMEL, E. G.; CALDAS, S.S. 2011. **Ocorrência De Agrotóxicos Em Águas Subterrâneas De Áreas Adjacentes A Lavouras De Arroz Irrigado**. *Química Nova*, Vol. 34, No. 5, 748-752.

SILVA, J.B., KARAM, D., ARCHÂNGELO, E.R. **Avaliação Do Efeito Residual De Imazamox E Imazethapyr Aplicados Em Pós-Emergência Na Cultura Da Soja Sobre O Milho Safrinha**. In: Congresso Nacional de Milho E Sorgo, 21, 1996, Resumos.. Londrina: IAPAR, 1996. p.348).

SISINNO, C. L. S.; BULUS, M. R. M.; RIZZO, A. C.; MOREIRA, J. C. 2006. **Ensaio de Comportamento Com Minhocas (Eisenia fetida) Para Avaliação De Áreas Contaminadas**: Resultados Preliminares para Contaminação por Hidrocarbonetos. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 1, n. 2, p. 137-140.

SISINNO, C., BULUS, M., RIZZO, A., SÁFADI, R., FONTES, A. & MOREIRA, J., 2004, **Ensaio Ecotoxicológicos Como Um Instrumento De Complementação Da Avaliação De Áreas Contaminadas**: Resultados Preliminares Em Áreas Contaminadas Por Hidrocarbonetos, pp. 150-154. In: III Seminário Nacional de Saúde e Ambiente, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 164p.

Smith, A.E. 1986. **Persistence of the Herbicides [14C] Chlorsulfuron and [14C] Metsulfuron-methyl in Prairie Soils Under Laboratory Conditions**. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 37: 698-704. Disponível Em:<<https://link.springer.com/article/10.1007%2F01607826>> Acesso: 31 maio 2018

SPADOTTO, C. A. 2006. **Avaliação De Riscos Ambientais De Agrotóxicos Em Condições Brasileiras**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 20 p.

SPADOTTO, C. A.; JUNIOR SCORZA, P. R.; CARVALHO, DE G. F. E.; GOMES, M.A.F.; LUCHINI, L. C.; ANDREA, M. M. de. 2004. **Monitoramento Do Risco Ambiental De Agrotóxicos: Princípios E Recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 8 p.

SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F.; LUCHINI, L. C.; ANDREA, M. M. de. 2004. **Monitoramento Do Risco Ambiental De Agrotóxicos: Princípios E Recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 29 p. Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 42.

TRIPATHI G.; BHARDWAJ P.2004. Bioresource Technology. **Comparative Studies On Biomass Production, Life Cycles And Composting Efficiency Of Eisenia fetida (Savigny) And Lampito Mauritii (Kinberg)**. Volume 92, Edição 3, 275-283 p.

VARGAS, L.; SILVA, A.A.; BORÉM, A.; REZENDE, S.T.; FERREIRA, F.A. & SEDIYAMA, T.1999. **Resistência De Plantas Daninhas A Herbicidas**. Viçosa, MG: Ed. dos autores, 131 p.

VENCILL, W.K. (Ed). 2002. **Herbicide Handbook**. 8 ed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America.

VISCHETTI, C.1995. **Measured and simulated persistence of imazethapyr in soil**. Bull. Environ. Contam. Toxicol., v.54, p.420- 427.

WAUCHOPE, R.D., T.M. Butler, A.G. Hornsby, P.W.M. Augustijn-Beckers and J.P. Burt. 1992. The SCS/ARS/CES **Pesticide Properties Database for Environmental Decision-Making**. In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer-Verlag Publishers. Disponível Em: <https://link.springer.com/chapter/1>> Acesso: 31 maio 2018.

YOUNG, J. K.; ULRICH, P. Advanced Environmental Monitoring. Dordrecht, Netherlands, 1st ed. Softcover of orig. ed. 2008, p. 420. ATOM BRASIL **Soluções no controle de Pragas**: [<http://www.atombrasil.com>] Disponível em:<<http://solcomercio.com.br/controle/uploads/bulas/147.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2018