



Revista Brasileira de Ciência do Solo

ISSN: 0100-0683

revista@sbcs.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
Brasil

PAPINI, S.; ANDRÉA, M. M.
DISSIPAÇÃO DE SIMAZINA EM SOLO POR AÇÃO DE MINHOCAS (*Eisenia foetida*)
Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol. 25, núm. 3, 2001, pp. 593-599
Sociedade Brasileira de Ciência do Solo
Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180218337009>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

DISSIPAÇÃO DE SIMAZINA EM SOLO POR AÇÃO DE MINHOCAS (*Eisenia foetida*)⁽¹⁾

S. PAPINI⁽²⁾ & M. M. ANDRÉA⁽³⁾

RESUMO

O solo abriga grande diversidade de organismos macroscópicos e microscópicos, que competem entre si pelos recursos disponíveis. Visando ao aumento da produtividade agrícola, utilizam-se, cada vez mais, fertilizantes e pesticidas que provocam alterações no ambiente edáfico. Dentre os organismos macroscópicos, destacam-se as minhocas, pela quantidade e importância nas características do solo. Determinou-se a CL₅₀(14 dias) e avaliou-se a ação de minhocas na persistência, transformação e bioacumulação de simazina a partir de solo tratado com o herbicida. As minhocas foram sensíveis à simazina [CL₅₀(14 dias) de 54 mg IA kg⁻¹ de solo], acumularam o produto ou seus metabólitos em seus tecidos (FB = 1,03), quando expostos a concentrações menores que a CL₅₀, e diminuíram a formação de resíduos ligados ao solo (cerca de 23 e 33% em solos com e sem minhocas, respectivamente).

Termos de indexação: [¹⁴C]-herbicida, persistência, sensibilidade, bioacumulação.

SUMMARY: *SOIL DISSIPATION OF SIMAZINE BY ACTION OF EARTHWORMS* (*Eisenia foetida*)

The soil contains a large variety of macroscopic and microscopic organisms, which compete for the available resources. Fertilizers and pesticides usually applied in soil to increase the agricultural production may determine environmental changes. Among the edaphic organisms, earthworms are outstanding for their number and role they play on soil

⁽¹⁾ Recebido para publicação em agosto de 2000 e aprovado em março de 2001.

⁽²⁾ Bióloga, Pós-graduanda em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo - USP, Caixa Postal 12.898, CEP 04010-970 São Paulo (SP). E-mail: spapini99@yahoo.com

⁽³⁾ Bióloga do Instituto Biológico, Centro de Proteção Ambiental, Laboratório de Ecologia de Agroquímicos. Instituto Biológico. E-mail: andrea@biologico.br

characteristics. The performance of earthworms on the persistence, transformation and bioaccumulation of simazine was assessed in a soil treated with the herbicide. The earthworms were sensitive to simazine [CL₅₀(14 days) of 54 mg IA kg⁻¹ soil], accumulated the compound or its metabolites in their tissues (FB = 1,03), and reduced the formation of soil bound residues (about 26 and 33%, with and without earthworms, respectively).

Index terms: [¹⁴C]-herbicide, persistence, sensibility, bioaccumulation.

INTRODUÇÃO

Os organismos edáficos têm papel de destaque na eficiência dos pesticidas biodegradáveis, transportando-os para outros locais, transformando-os em outros compostos nem sempre conhecidos, ou, ainda, degradando-os parcial ou totalmente (Lord et al., 1980). Atualmente, antes de serem regularmente utilizados na prática agrícola, os pesticidas devem ser submetidos a avaliações sobre seu comportamento no ambiente (mobilidade e taxa de degradação biótica e, ou, abiótica), assim como avaliado seu grau de toxidez aos organismos do solo, visando diminuir efeitos indesejáveis sobre o meio (Brasil, 1988).

Dentre os diversos macrorganismos presentes no solo, destacam-se os oligoquetos. Seus túneis recebem e escoam a água da chuva, facilitando a percolação e aumentando a aeração do solo (Edwards & Brown, 1982; Edwards et al., 1993; Deibert & Utter, 1994). Além disso, em seus deslocamentos, misturam os diferentes horizontes (Knäpper et al., 1984) e mantêm a estrutura edáfica. Têm ainda papel fundamental na fertilidade, pois atuam regulando a reciclagem da matéria orgânica (Drewes, 1997).

Assim, considerando o nicho ecológico desses animais, os agroquímicos e outras substâncias aplicadas ao solo entram em contato íntimo com as minhocas. Esses produtos podem ser absorvidos diretamente por meio da cutícula do animal, quando eles se encontram dissolvidos na solução do solo, ou podem ser ingeridos, quando a minhoca se alimenta. Dessa maneira, os compostos adsorvidos ou ligados ao solo podem ser assimilados (Connell & Markwell, 1990; Viswanathan, 1994). Esses animais são, portanto, um dos organismos mais indicados para a bioavaliação da persistência, biodisponibilidade e transporte de pesticidas e outras substâncias usadas pelo homem (Viswanathan, 1994; Meharg, 1996).

Para avaliar a toxidez dos diversos agentes químicos, as minhocas são submetidas a diferentes concentrações do produto, determinando-se a concentração letal inicial média (CL₅₀) (CETESB, 1990). Tem-se utilizado a espécie *Eisenia foetida*, pelo fato de ela ficar em contato direto com o solo durante toda a vida ingerindo grandes quantidades desse substrato, apresentar sensibilidade acentuada a diversos produtos químicos e ser de fácil obtenção e criação em condições laboratoriais (Edwards &

Brown, 1982; Fischer, 1984; Heimbach, 1992). Também graças ao comportamento das minhocas, não só a toxidez aos organismos do solo pode ser avaliada, mas também sua atuação, direta ou indireta, sobre a eficiência do pesticida no controle dos fitopatógenos e persistência de resíduos no solo, uma vez que estes animais, dentre outros organismos edáficos, podem transformar os pesticidas, alterando, assim, sua eficiência (Viswanathan, 1994).

Os herbicidas constituem o principal grupo de pesticidas que atingem ou são aplicados diretamente no solo. Dentre os diversos herbicidas atualmente usados, destaca-se o grupo das triazinas, aplicado em culturas de cana-de-açúcar, milho, espargos, sorgo, etc. (Holland et al., 1995). Dentre as triazinas mais utilizadas, encontra-se o herbicida simazina, de ação pré-emergente e que apresenta significativa persistência no ambiente, isto é, de mais de sete meses (Richardson & Gangolli, 1994).

Neste trabalho, determinou-se a curva de sensibilidade das minhocas *Eisenia foetida* ao herbicida simazina, bem como sua ação sobre a persistência e transformação do composto no solo. Também avaliou-se a possibilidade de bioacumulação nos organismos, visando ao fornecimento de informações sobre a possibilidade de magnificação trófica.

MATERIAL E MÉTODOS

Minhocas

Minhocas adultas, cliteladas e pesando entre 300 e 600 mg cada (peso vivo) foram retiradas das caixas de criação e lavadas em água destilada antes da utilização nos experimentos. Os testes foram realizados em ambiente fechado mantido a aproximadamente 20°C ± 1°C.

Solo

O solo foi coletado da profundidade de 0-10 cm de área do Centro Experimental do Instituto Biológico, Campinas (SP), nunca exposta anteriormente a pesticidas. Após a coleta, a amostra de solo secou à temperatura ambiente por 24 h, foi peneirada em 2,0 mm de malha e armazenada em sacos plásticos a 4°C. Sua características físicas e químicas foram

determinadas pelo Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior Luiz de Queiroz – ESALQ/USP (Quadro 1).

Para realização dos experimentos, amostras de 100 ou 200 g (equivalentes a peso seco) desse solo seco foram colocadas em cristalizadores de vidro com capacidade para 2,0 L e reumedeçidas a 60% da capacidade máxima de retenção de água (CMRA) (ISO, 1992).

Pesticida

O herbicida simazina (6-cloro-N²,N⁴-dietyl-triazina-2,4-diamina) grau técnico com pureza química superior a 95% foi obtido da Sipcam S.A. Milano (Itália) e diluído em acetona, nas concentrações de 20, 40, 80, 160, 180, 300, 360 e 720 µg do ingrediente ativo (IA) mL⁻¹.

O [¹⁴C]-simazina (radiomarcado no anel aromático) com atividade específica de 1,04 GBq mmol⁻¹ (28,1 m Ci mmol⁻¹) e 98% de pureza radioquímica foi obtido do laboratório Sigma-Aldrich® Chemical Company (EUA). A solução de trabalho foi preparada em acetona que continha 0,11 kBq mL⁻¹.

Curva de sensibilidade das minhocas a simazina

A sensibilidade das minhocas ao herbicida simazina foi avaliada por meio de dois testes:

Teste de relação entre concentração e mortalidade: Foram montados cinco grupos (I, II, III, IV e V) com três cristalizadores de vidro onde foram colocados 100 g de solo seco e 1.425 g de esferas de vidro com aproximadamente 2,0 cm de diâmetro, para facilitar a aeração do substrato e propiciar uma área maior para o deslocamento dos animais devido ao pequeno volume de solo. O grupo I recebeu 30 mL de acetona e foi utilizado como controle da viabilidade dos animais. Os demais grupos receberam 30 mL das soluções com diferentes concentrações de simazina grau técnico (Quadro 2). Após o tratamento, o solo foi homogeneizado e deixado por oito horas sob condições ambientais para evaporação da acetona. Em seguida, foram colocados 10 animais em cada cristalizador, todos eles foram cobertos com plástico preto com pequenos furos para possibilitar a aeração, e mantidos por 15 dias a 20°C.

Decorrido esse tempo, registrou-se o número de animais vivos e mortos em cada recipiente.

Teste sobre a influência do solo na sensibilidade dos animais ao herbicida: Outros quatro grupos (VI, VII, VIII e IX) com três cristalizadores cada foram montados, utilizando-se solo como foi descrito. Foram montados também três cristalizadores (grupo VII) que continham 100 g de sílica GASIL 114 (Cross Field-Gessy Lever do Brasil) como controle, para verificar a ação do solo na sobrevivência dos animais. O grupo VI recebeu apenas acetona (30 mL) e foi utilizado como controle na viabilidade dos animais. Os grupos VII, VIII, IX e X receberam solução de simazina grau técnico em diferentes concentrações (Quadro 3). O procedimento posterior de verificação de mortalidade seguiu o método já descrito.

Persistência, transformação e bioacumulação de simazina em minhocas

Foram montados 18 cristalizadores que foram divididos em seis grupos (XI, XII, XIII, XIV, XV e XVI) com três cristalizadores cada com 200 g de solo reumedecido e 400 g de esferas de vidro para facilitar a aeração do substrato. O solo de cada cristalizador foi tratado com solução de simazina grau técnico

Quadro 2. Condições de tratamento do solo no teste para estabelecimento da relação entre mortalidade das minhocas e concentração de simazina

Cristalizador	Concentração de simazina	µg IA g ⁻¹ de solo	
I		-	
II		6	
III		12	
IV		24	
V		48	

Quadro 3. Condições de tratamento das matrizes do teste sobre a influência do solo na sensibilidade das minhocas a simazina

Cristalizador	Matriz	Concentração de simazina	µg IA g ⁻¹ de matriz	
			100 g	
VI	solo		-	
VII	sílica		54	
VIII	solo		54	
XI	solo		108	
X	solo		216	

Quadro 1. Características físico-químicas do solo utilizado nos testes

pH	Matéria orgânica	Areia	Silte	Argila	Classe textural
		g dm ⁻³	—	%	—
4,5	33	49	25	26	médio argiloso

(45 µg IA g⁻¹ de solo) e [¹⁴C]-simazina em acetona (Quadro 4), com exceção dos cristalizadores do grupo XI, que receberam apenas acetona e foram utilizados como controle na viabilidade dos animais nas condições experimentais. Após oito horas da aplicação, dez animais adultos previamente selecionados foram colocados nos cristalizadores XI, XII, XIII e XIV. Os grupos XV e XVI foram utilizados como controle na degradação do pesticida na ausência de minhocas. Os cristalizadores foram mantidos por 30 dias a 20°C ± 1°C, tendo sido o solo mantido úmido por borrifamento semanal com 2,0 mL de água.

Após 30 dias, os cristalizadores foram desmontados, e as amostras de solo foram transferidas para frascos de vidro com tampa rosqueada com capacidade de 500 mL e guardadas em congelador a -18°C até análise por extração. As minhocas vivas foram contadas, lavadas em água destilada e mantidas a 4°C por 12 h em papel filtro umedecido. Em seguida, o papel foi trocado por um limpo e umedecido, e os animais foram mantidos por mais 12 h a 4°C, para eliminação do conteúdo intestinal (Fuhremann & Lichtenstein, 1978; Briggs & Lord, 1983). Os animais foram então sedados por resfriamento em congelador por 20 min e cortados em pedaços de cerca de 1,0 cm. Os segmentos foram guardados a -20°C até extração para análise.

Recuperação de simazina do solo e dos animais

Tríplicatas das amostras de 3,0 g de solo seco de cada cristalizador foram extraídas com 15 mL de solução água:metanol: diclorometano (1:8:6), utilizando energia de microondas a 50% da potência do aparelho (Panasonic 1600W) em 10 ciclos de 20 seg, com resfriamento em banho de gelo entre os ciclos (Andréa et al., 2001).

Os fragmentos dos animais (aproximadamente 2,0 g de matéria seca por cristalizador) foram submetidos à extração por microondas com 15 mL de solução metanol:diclorometano (10:5) a 70% da potência do aparelho, em 15 ciclos de 30 seg cada,

Quadro 4. Condições dos tratamentos do solo para verificação da ação de minhocas sobre o simazina

Cristalizador	Presença de minhocas	Ingrediente ativo	¹⁴ C-simazina
		µg g ⁻¹ de solo	kBq g ⁻¹ de solo
XI	+	-	-
XII	+	45	0,57
XIII	+	45	0,60
XIV	+	45	0,61
XV	-	45	0,53
XVI	-	45	0,54

também intercalados com banho de gelo. Os extratos foram então filtrados em papel filtro e alíquotas (triplicatas) de 1,0 mL de cada extrato foram analisadas por espectrometria de cintilação em líquido (ECL).

Os segmentos animais e as amostras de solo extraídos secaram à temperatura ambiente e triplicatas de 100 mg desses materiais foram posteriormente submetidas à combustão (Biological Oxidizer OX-600) com o mesmo procedimento para solo utilizado por Andréa et al. (1994). A radioatividade presente foi avaliada por ECL, para determinação da quantidade de ¹⁴C-resíduos não extraíveis do solo e dos organismos.

Os extratos das amostras de solo foram concentrados à secura em rotaevaporador (Büchi Water Bath RE 111 e RE 120), e os resíduos ressuspensos em 5,0 mL de metanol. A presença do [¹⁴C]-simazina ou seus [¹⁴C]-metabólitos foi determinada por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) em placas de sílica gel-60 F254 (Merck), utilizando-se metanol como solvente de desenvolvimento. As zonas radioativas presentes nas cromatoplacas foram detectadas em analisador linear de varredura de radioatividade (LB 2723 Berthold). Entretanto, a quantidade muito pequena de extratos dos animais não permitiu a realização de CCD.

Análises dos resultados

Para determinar a correlação entre taxa de mortalidade e concentração do pesticida do teste referente à curva de sensibilidade, empregou-se a Correlação por Postos de Spearman, com determinação do índice de correlação (*rs*) e nível de significância (α) de 0,05.

No teste de persistência e transformação do ¹⁴C-simazina em minhocas e solo, as percentagens médias de recuperação como resíduo extraível e resíduo ligado ao solo e ao tecido animal foram comparadas estatisticamente pelo Teste de Diferença de Duas Médias, a 0,05 de significância (α).

O fator de bioacumulação (FB = TA/SO) foi determinado, dividindo-se os valores médios de [¹⁴C]-encontrados nos tecidos dos animais (TA) e nas amostras de solo (SO) (Stephenson et al., 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Relação entre concentração de simazina e mortalidade das minhocas

No teste de relação entre concentração e mortalidade (Quadro 2), a taxa de mortalidade não apresentou correlação com a concentração utilizada do herbicida (*rs* = -0,065 para *n* = 15 e α = 0,05). Assim, repetiu-se o teste, aumentando as concentrações e

montando um cristalizador com sílica como substrato (Quadro 3), porque, além de ser ela usada na maior parte dos testes para determinação de CL₅₀ (CETESB, 1990), a sílica não adsorve pesticidas, como ocorre com o solo (Luchini, 1987).

Neste segundo teste de sensibilidade (teste sobre a influência do solo na sensibilidade dos animais ao herbicida), verificou-se uma relação direta entre a taxa de mortalidade e a concentração de herbicida presente no solo ($rs = 0,628$ para $n = 15$ e $\alpha = 0,05$). Assim, a partir desses resultados, estabeleceu-se a CL₅₀(14 dias) em 1.080 mg IA kg⁻¹ de minhoca, na concentração de 54 µg IA g⁻¹ de solo.

Além disso, esse teste demonstrou o efeito protetor do solo, pois a taxa de mortalidade foi de 56 e 100%, quando se utilizaram, respectivamente, solo e sílica, ambos tratados com a mesma concentração do herbicida (54 µg IA g⁻¹ de matriz). O efeito protetor do solo está, provavelmente, relacionado com os teores de matéria orgânica e argila presentes no solo, pois estas substâncias podem facilitar a adsorção de pesticidas e outros contaminantes, diminuindo, assim, sua disponibilidade aos organismos (Papini, 1998). Se um poluente orgânico não está muito biodisponível, seus efeitos ecológicos podem ser minimizados (Meharg, 1996).

Persistência, transformação e bioacumulação de simazina

Adotou-se a concentração subletal de 45 µg IA g⁻¹ de solo na pesquisa de persistência, transformação e bioacumulação do herbicida simazina em minhocas por estar ela próxima à maior concentração que não matava os animais. Com esta concentração, pôde-se observar a influência das minhocas no comportamento do herbicida simazina no solo, pois houve diferença significativa ($p < 0,05$) de comportamento do herbicida entre amostras de solo na presença e na ausência de minhocas. Isto é, recuperou-se, aproximadamente, 63% do radiocarbono como [¹⁴C]-resíduos extraíveis do solo tratado com simazina e na presença de minhocas (cristalizadores XII, XIII e XIV) (Quadro 5).

Entretanto, do solo sem a presença de minhocas, estes resíduos representaram 70% (grupos XV e XVI) (Quadro 5). O deslocamento dos vermes revolve e mistura o solo, o que pode facilitar a liberação de pesticidas do ambiente, pois torna disponível maior quantidade de resíduos e aumenta também a superfície de contato do solvente de extração com a molécula de herbicida no solo. Além disso, a ingestão de solo reduz o tamanho das partículas presentes, e os resíduos de pesticida podem sofrer ação da microflora intestinal dos animais, e, assim, promover a bioliberação do composto.

Os [¹⁴C]-resíduos não-extraíveis ou ligados totalizaram 22,8 e 33,5% respectivamente, com e sem a presença de minhocas (Quadro 5). Verificou-se, portanto, que a ação de minhocas sobre o meio determinou a formação de quantidade significativamente menor ($p < 0,05$) de [¹⁴C]-resíduos ligados ao solo. Farenhorst et al. (2000) detectaram maior formação de resíduos ligados de outro herbicida do grupo das triazinas - atrazina - em solo após a ação de minhocas, o que pode indicar diferentes vias de metabolismo, conforme o composto e a necessidade de estudos individuais para cada molécula.

A recuperação total do radiocarbono nos cristalizadores que continham solo tratado e minhocas foi de aproximadamente 85% e sem a presença de minhocas a recuperação foi de 100% (Quadro 5). Isto parece indicar que a atividade dos animais pode estar relacionada também com a produção de compostos voláteis, incluindo CO₂, que podem ter sido produzidos a partir da atividade de bactérias presentes no intestino dos animais.

Por outro lado, não se detectou degradação parcial do [¹⁴C]-simazina nos extratos de solo durante o período de 30 dias dos testes em solo com e sem minhocas, pois os cromatogramas apresentaram radioatividade somente no Rf 0,66, correspondente ao herbicida simazina. Portanto, o herbicida simazina não foi degradado no solo neste intervalo de tempo.

Quadro 5. Distribuição de radiocarbono proveniente de [¹⁴C]-simazina aplicado ao solo

Cristalizador	Solo		Minhoca		¹⁴ C-total
	¹⁴ C-extraível	¹⁴ C-ligado	¹⁴ C-extraível	¹⁴ C-ligado	
% do aplicado					
XII	62,9 ± 1,5	23,9 ± 0,2	0,3	0,3	87,4
XIII	61,9 ± 0,9	22,4 ± 0,2	0,2	0,2	84,7
XIV	63,5 ± 2,0	22,1 ± 1,0	0,2	0,2	86,0
XV	70,6 ± 1,7	33,9 ± 0,4	-	-	104,5
XVI	70,5 ± 3,0	33,2 ± 0,1	-	-	103,7

Como ocorre com outros pesticidas, por exemplo, lindano e cipermetrina (Viswanathan, 1994), detectou-se bioacumulação do composto nos tecidos animais durante o período de estudo, pois, ao quantificar-se a radioatividade presente por grama de tecido animal e de solo, determinou-se FB de $1,03 \pm 0,06$ (Quadro 6). Embora a magnificação trófica do herbicida simazina não tenha sido avaliada neste trabalho, a bioacumulação do herbicida pode ter como consequência a transferência do composto aos demais elos da cadeia alimentar, quando ingeridas por outros organismos.

Quadro 6. Radioatividade presente no solo e nos tecidos animais

Cristalizador	Solo	Minhoca	Fator de bioacumulação
— kBq g ⁻¹ —			
XII	0,49	0,51	1,02
XIII	0,50	0,46	0,90
XIV	0,52	0,62	1,18

CONCLUSÕES

1. A sensibilidade das minhocas *Eisenia foetida* ao herbicida simazina em solo foi detectada a partir da CL₅₀(14 dias), quando a concentração no solo foi de 54 µg IA g⁻¹ de, e a mortalidade máxima (100%) foi atingida a 108 µg IA g⁻¹ de solo.
2. A presença desses animais no solo diminuiu a formação de resíduos não-extraíveis ou ligados de simazina, o que contribuiu para a maior disponibilidade do composto no ambiente.
3. As minhocas bioacumulam o herbicida simazina em seus tecidos (FB = $1,03 \pm 0,06$), após somente 30 dias de exposição.

LITERATURA CITADA

- ANDRÉA, M.M.; LUCHINI, L.C.; MELLO, M.H.S.H.; TOMITA, R.Y.; MESQUITA, T.B. & MUSUMECI, M.R. Dissipation and degradation of DDT, DDE and parathion in Brazilian soils. *J. Environ. Sci. Health*, B29:121-132, 1994.
- ANDRÉA, M.M.; PAPINI, S. & NAKAGAWA, L.E. Optimizing microwave-assisted solvent extraction (MASE) of pesticides from soil. *J. Environ. Sci. Health*, B36, 2001. (in press)
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Secretaria Especial do Meio Ambiente. Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos, Brasília, 1988, parte D, p.1-7.
- BRIGGS, G.G. & LORD, K.A. The distribution of aldicarb and its metabolites between *Lumbricus terrestris*, water and soil. *Pestic. Sci.*, 14:412-416, 1983.
- CETESB-PROJETO 83.05.00. Desenvolvimento e implantação de testes de toxicidade com organismos aquáticos e terrestres. In: PROGRAMA 83.00.00, Programa de ecotoxicologia. São Paulo, 1990. p.1-27.
- CONNELL, D.W. & MARKWELL, R.D. Bioaccumulation in the soil to earthworm system. *Chemosphere*, 20:91-100, 1990.
- DEIBERT, E.J. & UITTER, R.A. Earthworm populations related to soil and fertilizer management practices. *Better Crops*, 78:9-11, 1994.
- DREWES, C.D. Sublethal effects of environmental toxicants on oligochaeta escape reflexes. *Am. Zool.*, 37:346-353, 1997.
- EDWARDS, P.J. & BROWN, S.M. Use of grassland plots to study the effect of pesticides on earthworms. *Pedobiologia*, 24:145-150, 1982.
- EDWARDS, W.M.; SHIPITALO, M.J.; OWENS, L.B. & DICK, W.A. Factors affecting preferential flow of water and atrazine through earthworm burrows under continuous no-till corn. *J. Environ. Qual.*, 22:453-457, 1993.
- FARENHORST, A.; TOPP, E.; BOWMAN, B.T. & TOMLIN, A.D. Earthworms and the dissipation and distribution of atrazine in the soil profile. *Soil Biol. Biochem.*, 32:23-33, 2000.
- FISCHER, S.W. A comparison of standardized methods for measuring the biological activity of pesticides to the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Ecotox. Environ. Safety*, 8:564-571, 1984.
- FUHREMAN, T.W. & LICHTENSTEIN, E.P. Release of soil-bound methyl [¹⁴C] parathion residues and their uptake by earthworms and oat plants. *J. Agric. Food Chem.*, 26:605-610, 1978.
- HEIMBACH, F. Correlation between data from laboratory and field tests for investigation the toxicity of pesticides to earthworm. *Soil Biol. Biochem.*, 24:1749-1753, 1992.
- HOLLAND, D.C.; MUNNS, R.K.; ROYBAL, J.E.; HURLBUT, J.A. & LONG, A.R. Liquid chromatographic determination of simazine, atrazine and propazine residues in catfish. *J. AOAC Intern.*, 78:1067-1071, 1995.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION-ISO (Geneve, Switzerland) ISO/DIS 11274. Geneva, 1992. 30p.
- KNÄPPER, C.; BUSS, M.R.P. & MAURIQUE, G.M.G. Minhocas: seu espaço vital no solo. *Est. Leopoldinenses*, 78:31-36, 1984.
- LORD, K.A.; BRIGGS, G.G.; NEALE, M.C. & MANLOVE, R. Uptake of pesticides from water and soil by earthworms. *Pestic. Sci.*, 11:1-8, 1980.

- LUCHINI, L.C. Adsorção-dessorção dos herbicidas paraquat, diuron e 2,4-D em seis solos brasileiros. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1987. 91p. (Tese de Mestrado)
- MEHARG, A.A. Bioavailability of atrazine to soil microbes in the presence of the earthworm *Lumbricus terrestris* (L.). *Soil Biol. Biochem.*, 28:555-559, 1996.
- PAPINI, S. Degradação acelerada do fungicida metalaxil em solos do estado de São Paulo. São Paulo, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 1998. 65p. (Tese de Mestrado)
- RICHARDSON, M.L. & GANGOLLI, S. The dictionary of substances and their effects.. Royal Soc. Chem., 7:44-47, 1994.
- STEPHENSON, G.L.; WREN, C.D.; MIDDELRAAD, I.C.J. & WARNER, J.E. Exposure of the earthworm, *Lumbricus terrestris*, to diazinon, and the relative risk to passerine birds. *Soil Biol. Biochem.*, 29:717-720, 1997.
- VISWANATHAN, R. Earthworms and assessment of ecological impact of soil xenobiotics. *Chemosphere*, 28:413-420, 1994.

