

## As Minhocas como Engenheiras de Solo e Sentinelas de Poluição

Diariamente são libertadas substâncias tóxicas no ambiente que entram nos ecossistemas aquáticos e terrestres tais como metais, pesticidas, plásticos, fármacos, entre outros, provocando efeitos nefastos nos organismos expostos. Por outro lado, a contaminação dos solos agrícolas contribui para a contaminação das cadeias alimentares afetando os organismos terrestres e mais tarde o Homem. As análises físico-químicas clássicas são indispensáveis para avaliar a concentração dos contaminantes nos solos, no entanto, estas não permitem estimar os seus efeitos biológicos. Assim, para avaliar os efeitos destes compostos no solo, podemos recorrer a diversos invertebrados terrestres, com destaque para as minhocas. Estes invertebrados têm um papel ecológico vital nos solos contribuindo para a reciclagem da matéria orgânica (decomposição), aumento da disponibilidade dos nutrientes, melhoria da estrutura do solo, entre outros. Espécies representativas deste grupo são utilizadas como organismo sentinela da contaminação dos ecossistemas terrestres e também como modelo biológico para estimar os potenciais efeitos tóxicos em ensaios ecotoxicológicos em laboratório, e em campo. Indivíduos destas espécies são fáceis de manter e cultivar em laboratório, são prolíferos, possuem um ciclo de vida relativamente curto e são sensíveis à presença de substâncias tóxicas por contacto com a cutícula e epiderme e ingestão do solo contaminado. Desta forma, o presente artigo de revisão foca-se na morfologia e biologia da minhoca, no seu papel ecológico, a sua importância nos serviços do ecossistema, e nas características que a tornam um excelente bioindicador da qualidade e saúde do solo. Por fim, faz-se uma breve abordagem aos principais ensaios ecotoxicológicos (protocolos ISO e OECD) que usam este invertebrado.

### Palavras-chave

fauna edáfica  
minhocas  
solo  
engenheiras do ecossistema  
sentinelas da poluição

Ondina Ribeiro<sup>1</sup>

Maria J. I. Briones<sup>2,3</sup>

Tiago Natal-da-Luz<sup>4</sup>

Cláudia Ribeiro<sup>5,6</sup>

Ruth Pereira<sup>7</sup>

João Soares Carrola<sup>1, 8\*</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal.

<sup>2</sup> Departamento de Ecologia e Biologia Animal, Universidade de Vigo, 36310, Vigo, Espanha.

<sup>3</sup> UK Centro de Ecologia e Hidrologia, Centro Ambiental Lancaster, Lancaster, LA1 4AP, UK.

<sup>4</sup> Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Portugal

<sup>5</sup> TOXRUN-Unidade de Toxicologia, Instituto Universitário de Ciências da Saúde, CESPU, CRL, Gandra, Portugal.

<sup>6</sup> Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Edifício do Terminal de Cruzeiros do Porto de Leixões, Matosinhos, Portugal.

<sup>7</sup> GreenUPorto – Sustainable Agrifood Production Research Centre / Inov4Agro & Department of Biology, Faculty of Sciences of the University of Porto, Campus de Vairão, Vila do Conde, Portugal.

<sup>8</sup> Inov4Agro – Instituto de Inovação, Capacitação e Sustentabilidade da Produção Agro-Alimentar, CITAB, Vila Real, Portugal.

\* joao@utad.pt

## INTRODUÇÃO

A fauna edáfica ou fauna do solo, é constituída pelos invertebrados que vivem no solo durante toda a sua vida ou apenas em algum estágio do seu ciclo de vida. Conforme o seu tamanho corporal, a fauna edáfica por ser classificada entre microfauna (organismos microscópicos menores que 0,1 mm), mesofauna (tamanho entre 0,1 mm e 2 mm), macrofauna (tamanho entre 2 e 20 mm) e megafauna (maiores que 20 mm) (Orgiazzi et al., 2015). Os organismos da macrofauna são considerados bioindicadores da qualidade do solo e contribuem para a decomposição da matéria orgânica através do fracionamento dos detritos vegetais e sua distribuição ao longo do perfil do solo potenciando assim a atividade da flora do solo sobre estes detritos e subsequentemente na decomposição da matéria orgânica que os compõe. Além da sua elevada biomassa, a macrofauna representa uma grande diversidade de organismos no solo. Fazem parte deste grupo edáfico formigas, térmitas, besouros, oligoquetas, centopeias, milípedes, escorpiões, caracóis, aranhas, onicóforos (vermes aveludados) e bichos-de-conta (Investigación e Sostenibilidad, 2010). As oligoquetas são a macrofauna dominante nos ecossistemas, e podem ser encontradas tanto em ambientes terrestres como aquáticos, excetuando desertos secos e quentes (Phillips et al., 2019).

As oligoquetas, em particular as minhocas desempenham um papel fundamental na ecologia dos solos sendo classificadas como fazendo parte do grupo de *engenheiros* do ecossistema (Peijnenburg e Vijver, 2009), dado ao seu papel na pedogénese e no desenvolvimento do perfil do solo, uma vez que podem ingerir cerca de 20 a 30 vezes do seu peso corporal de solo por dia (Lee, 1985). Por outro lado, a sua atividade no ecossistema terrestre produz grandes alterações nas propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo e na atividade de outros organismos (Bartlett et al., 2010) sendo uma mais valia nos solos agrícolas. São conhecidas cerca de 7000 espécies (Quigley, 1997), sendo a mais familiar em Portugal a espécie *Lumbricus terrestris*.

### **Morfologia e Biologia das Oligoquetas**

As minhocas são anelídeos, da subclasse Oligochaeta, que apresentam simetria bilateral, com corpo cilíndrico segmentado coberto por uma fina cutícula. O elevado número de segmentos idênticos e justapostos em forma de anel (Edwards e Bohlen, 1996), serviu de base à designação do Filo Annelida. Devido à presença de poucas sedas laterais nos anéis, estas foram inseridas na classe Oligochaeta (do grego *Oligos*: poucas; *chaeta*: seda). Alguns destes segmentos aumentam de tamanho durante o período reprodutivo, constituindo o clitelo (Figura 1), responsável pela produção de casulos, os quais nutrem os embriões até que estes eclodam (Quigley, 1997). O clitelo (na região anterior do corpo) que corresponde a um anel (mais claro que o resto do corpo) e que secreta um muco que ajuda na reprodução.

O número de segmentos pode variar dentro de cada espécie, mas geralmente são constantes e também definem a localização dos órgãos internos. O crescimento do organismo ocorre pela multiplicação e aumento de tamanho destas estruturas, o qual varia com as condições ambientais.

Na parte anterior do corpo das minhocas localiza-se a boca (prostómio), pela qual ingerem o solo e que permite escavar túneis. Já na parte posterior localiza-se o ânus (Edwards e Bohlen, 1996). O tubo digestivo estende-se desde a boca até ao ânus, e a cavidade bucal possui musculaturas protrátil e retrátil que conferem a capacidade de se projetar para o exterior. A faringe é um compartimento musculoso, que recebe secreções das glândulas salivares (Burgers, 1967).

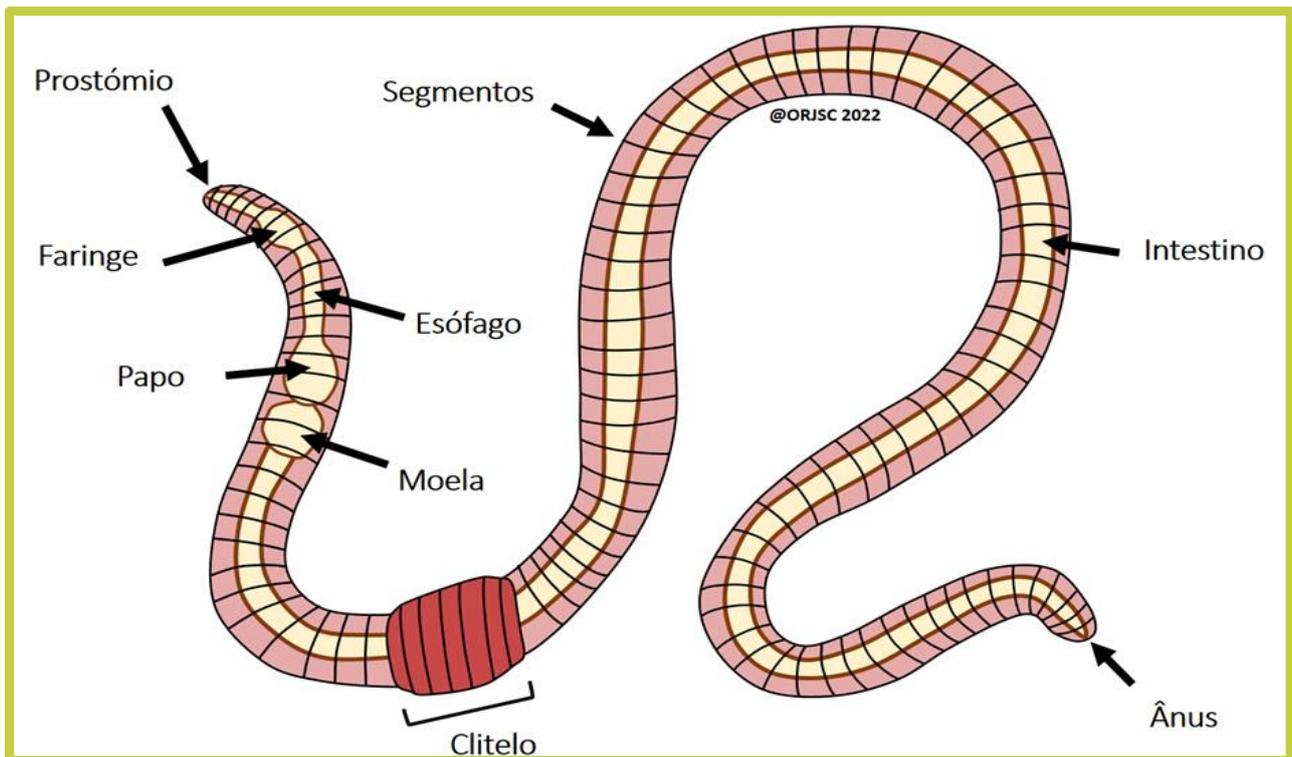


FIGURA 1: Anatomia e morfologia da minhoca.

A grande maioria das espécies de minhocas são hermafroditas (Quigley, 1997), isto é, possuem órgãos reprodutivos funcionais de ambos os sexos no mesmo indivíduo. Contudo, a maioria das minhocas não se pode autofecundar e precisa por isso de um outro espécimen para acasalar. As minhocas podem acasalar várias vezes ao ano produzindo os casulos, e cada um vai originar um juvenil, no entanto, há algumas espécies que podem produzir cerca de 4-7 juvenis/casulo, como é o caso das minhocas das espécies *Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*.

Durante a cópula as minhocas posicionam-se em sentido oposto e a fixação é feita através dos tubérculos reprodutivos (pubertários). Assim, cada minhoca transfere espermatozoides que saem para o exterior pelos poros masculinos (normalmente no segmento 15), percorrem o sulco espermático até chegarem ao poro da espermateca da outra minhoca onde vão ficar armazenados. Após a separação, o clitelo de cada minhoca vai produzir muco o que vai dar origem ao casulo. Este anel de muco desliza graças aos movimentos peristálticos, até ao extremo anterior da minhoca e ao passar pelos poros femininos (no segmento 14) recolhe os óvulos, e nos segmentos 10 e 11 recolhe o esperma armazenado nas espermatecas.

A minhoca continua os movimentos até que o casulo é libertado no solo. Os ovos vão desenvolver-se dentro do casulo durante 2 semanas a 3 meses dependendo da espécie, ocorrendo posteriormente a eclosão dos juvenis.

O sistema digestivo é composto pela boca, faringe, esófago, papo, moela, intestino (anterior, médio e posterior) e ânus. Na zona anterior, ocorrem os processos digestivos (Curry e Schmidt, 2007), e no intestino médio e posterior dá-se a absorção de nutrientes e água, bem como a formação dos coprólitos (Edwards e Bohlen, 1996).

As minhocas alimentam-se principalmente de resíduos vegetais com diferentes graus de decomposição e matéria orgânica mais humificada, podendo ser divididas em dois grupos, de acordo com o tipo de alimentação e estratégia nutricional: **detrítívoras e geófagas** (Curry e Schmidt, 2007). As **minhocas detritívoras** alimentam-se nas proximidades da superfície do solo, ingerindo principalmente raízes de plantas mortas e outros resíduos vegetais, nomeadamente folhas, havendo predominância de matéria orgânica no seu trato digestivo. Pelo contrário, as **minhocas geófagas** alimentam-se no subsolo, ingerindo restos orgânicos dispersos entre as partículas minerais do solo, apresentando essencialmente partículas minerais no seu intestino.

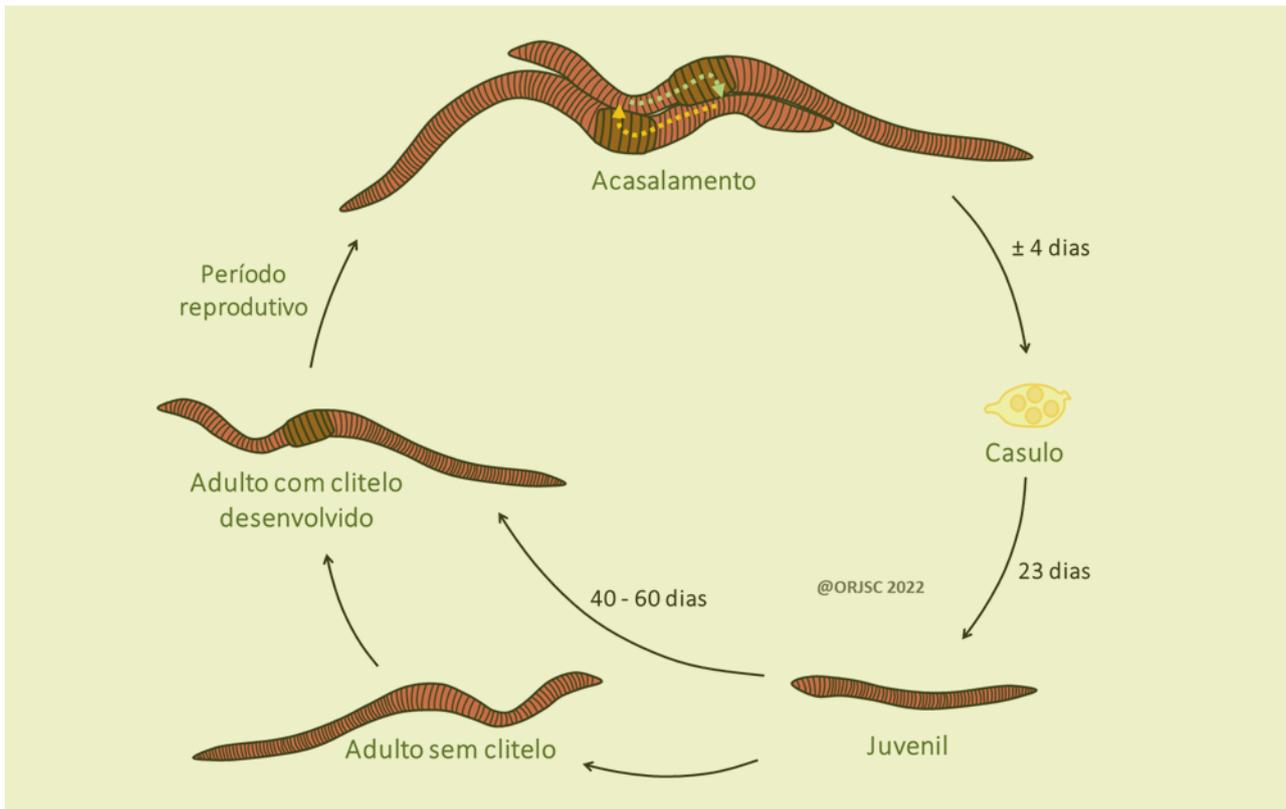


FIGURA 2: Ciclo de vida da minhoca com as diferentes fases do desenvolvimento.

Para respirar necessitam de manter a pele húmida, e para isso, libertam o fluído celómico (através de micróporos dorsais) e muco (através das células epidérmicas). O fluído celómico está localizado no celoma (cavidade corporal no interior da mesoderme) e desempenha funções importantes, tais como na locomoção, regulação da transferência de fluído através da epiderme das minhocas (Newell, 1950) e tem um papel relevante na imunidade inata dos organismos (Kauschke et al., 2007). Além disso, o muco retém a humidade e facilita também o deslizamento do animal no interior das galerias.

## Comportamento Ecológico das Minhocas

Em 1972, Marcel Bouché no seu livro “Lombriciens de France” descreveu 7 categorias ecológicas das minhocas: anécicas, endogénicas, epigénicas, e várias categorias intermédias (epi-anécicas, endo-anécicas, epi-endogénicas e intermediárias) (Bouché, 1972). No entanto, Bouché (1977) simplificou as categorias em 3 ecótipos de minhocas de acordo com a sua pigmentação, comportamento escavador, alimentação e ciclo de vida, nomeadamente em epigénicas, endogénicas e anécicas.

As minhocas epigénicas ou epígeas, também conhecidas como habitantes da superfície, vivem no húmus e nos primeiros centímetros do horizonte A<sup>1</sup>. Possuem normalmente pigmentação, apresentam comprimento menor, elevadas taxas de reprodução e um tempo de vida curto (James, 2000). Alimentam-se de matéria orgânica em etapas primárias ou intermediárias de decomposição, o que as torna importantes no processo de humificação. Alguns exemplos de espécies epigénicas são *E. fetida*, *E. andrei* e *Dendrodrilus rubidus* (Bottinelli et al., 2020).

As minhocas endogénicas, vivem em galerias semipermanentes a permanentes (até 60 cm de profundidade) que se enchem de detritos fecais (coprólitos). Em comparação com as epigénicas possuem um tamanho médio, maior tempo de vida e taxas de reprodução menores (James, 2000). De acordo com o tipo de alimento, formam coprólitos minerais, enriquecidos em matéria orgânica e partículas de argila, sendo responsáveis pelo melhoramento da agregação do solo e estabilização da matéria orgânica (Medina-Sauza et al., 2019). A maioria das espécies de minhocas pertencem a este ecótipo, como por exemplo a *Aporrectodea caliginosa* e *Aporrectodea rosea* (Hallam e Hodson, 2020).

As minhocas anécicas, vivem em galerias verticais que no caso de algumas espécies são permanentes (até 2 m de profundidade), mas exploram zonas acima do nível do solo para encontrar fontes de alimento e defecar durante o período noturno (Datta et al., 2016). Estas minhocas são pigmentadas e têm um papel importante na incorporação de matéria orgânica em profundidade no solo, na formação de agregados e na melhoria da estrutura do solo, tal como acontece com a *L. terrestris* (Hallam e Hodson, 2020).

De acordo com o ecótipo das minhocas, estas irão desempenhar papéis funcionais distintos no ecossistema. O conhecimento das características morfológicas das minhocas possibilita uma maior compreensão do papel que estas irão ter no solo (Medina-Sauza et al., 2019). Por exemplo, as minhocas epígeas com ciclos reprodutivos rápidos e adaptadas a meios com alta carga orgânica são normalmente as mais adequadas para compostagem, uma vez que se alimentam dos resíduos orgânicos numa fase inicial de decomposição (Bottinelli et al., 2020)

## Importância das Minhocas nos Processos Edáficos

De acordo com Beare et al. (1995), a drilosfera (do gr, *drilus*: minhoca) corresponde à zona do solo diretamente influenciada pela ação das minhocas, onde se pode observar a presença de galerias (potencia o crescimento das raízes das plantas), coprólitos que podem ser utilizados por outros organismos para a sua alimentação (os coprólitos são hotspots de microrganismos), muco e carga microbiana (Lavelle et al., 1989). Devido à sua atividade no solo, as minhocas foram consideradas engenheiros do ecossistema por Jones et al. (1994).

---

<sup>1</sup> Horizonte mineral geralmente superficial (entre os 0 e 20 cm do perfil do solo), constituído principalmente por matéria orgânica bem humidificada e incorporada com matéria mineral.

Estes organismos favorecem a decomposição da matéria orgânica, mineralização de nutrientes e disponibilização destes para as plantas (Medina-Sauza et al., 2019). O movimento de minhocas anécicas durante a noite, permite a mobilização de materiais profundos do subsolo até à superfície. Adicionalmente, a alimentação das minhocas epigénicas à superfície do solo evita a acumulação de material vegetal morto. Por exemplo, estima-se que cerca de 40 a 100 toneladas/ha/ano de solo são ingeridas pelas minhocas, sendo que cerca de 60% da matéria orgânica é depositada à superfície sob a forma de coprólitos.

Complementarmente, as minhocas são responsáveis pela melhoria da estrutura do solo e da sua qualidade física, com a formação de agregados e conseqüente aumento da resistência do solo à erosão e à movimentação de partículas dentro e entre horizontes (Patrick Lavelle et al., 2006). A formação de galerias, tanto verticais como horizontais, promove o arejamento do solo, aumenta a capacidade de retenção da água (Schon e Dominati, 2020), e aumenta a manutenção da vida no solo uma vez que servem de abrigo para outros organismos. Além disso, a rede de galerias contraria a compactação do solo (Datta et al., 2016) e facilita o crescimento de raízes (Ruiz et al., 2021).

### **O Papel das Minhocas nas Funções e Serviços do Ecossistema**

Os serviços do ecossistema estão associados a processos ecológicos que favorecem o bem-estar dos seres humanos, como produção de alimentos de qualidade, regulação do clima, fornecimento de água potável, entre outros. Segundo a classificação dos serviços dos ecossistemas proposta por Millennium Ecosystem Assessment (2005), as minhocas contribuem para o “aprovisionamento” de alimentos e outras matérias-primas, o “suporte” à vida favorecendo o papel do solo como habitat para outros seres vivos, a “regulação” dos fluxos de nutrientes, do ciclo hidrológico, e ainda fornecem valores “culturais” (Briones, 2022), Figura 3.

Quanto aos serviços de "aprovisionamento", as minhocas favorecem significativamente o crescimento das plantas importante na produção alimentar. Por exemplo, Van Groenigen et al. (2014) observaram um aumento de 25% no rendimento de culturas agrícolas e de 23% na biomassa acima do solo. Esses efeitos positivos na produção primária são o resultado dos coprólitos depositados na superfície do solo e das galerias produzidas que concentram uma grande quantidade de nutrientes que são aproveitados pelas plantas.

Entre os serviços de “suporte”, as minhocas destacam-se pelo seu papel na formação de poros e galerias, bem como de agregados estáveis, que ajudam a manter e melhorar a estrutura e porosidade do solo. Essas atividades têm implicações não apenas nas propriedades físicas do solo, como também na suscetibilidade à erosão, na regulação climática e atmosférica, e na promoção de condições favoráveis à vida no solo como os serviços hidrológicos.

A atividade de escavação das minhocas permite a incorporação de matéria orgânica fresca em camadas mais profundas, a mistura do solo (à medida que se deslocam pelos diferentes horizontes), prestando assim serviços de "regulação", pois contribuem para os processos de decomposição da matéria orgânica, reciclagem de nutrientes, regulação da hidrologia (movimento da água ao longo do perfil) e do clima (emissões de gases de efeito estufa). Alguns estudos indicam que as minhocas promovem a diminuição da emissão dos gases com efeito de estufa (John et al., 2020) e outros ainda que não encontram efeitos significativos (John et al., 2020; Singh e Singh, 2019). Essa falta de consenso deve-se à dificuldade de

determinar quais os efeitos diretos das minhocas e quais os relacionados com as interações com outros organismos (plantas e microrganismos) (Briones, 2022).

Quanto aos serviços "culturais", embora menos estudados, também são importantes. As minhocas fazem parte da arte e do folclore e estão representadas em carimbos, livros e artesanato, e são uma boa ferramenta educativa (Blouin et al., 2013). Além disso, são essenciais para algumas atividades recreativas, como a pesca.

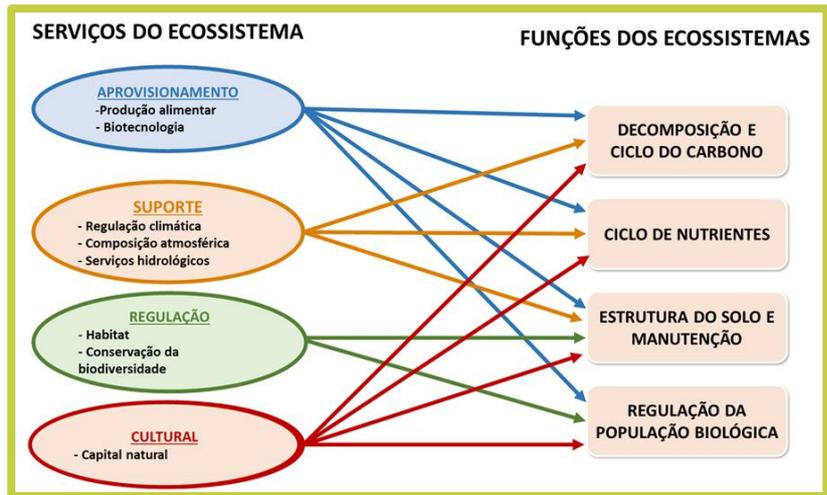


FIGURA 3: Importância das minhocas nos serviços e funções do ecossistemas (adaptado de Orgiazzi et al. (2015)).

### As Minhocas como Organismo Modelo na Ecotoxicologia

As minhocas (bem com outros organismos do solo, como é o caso de colêmbolos, ácaros, etc.) são consideradas bons indicadores da qualidade do solo (Bartlett et al., 2010) devido a várias características: estão diretamente dependentes das condições ambientais, são sensíveis ao meio envolvente, têm um papel importante nas cadeias alimentares funcionando como fonte de alimento para diversos organismos como aves e mamíferos (Nahmani et al., 2007) e por apresentarem sensibilidade a substâncias tóxicas e a alterações no solo (Clasen e de Moura Lisboa, 2019; Medina-Sauza et al., 2019). A presença de uma epiderme ou cutícula muito permeável, de quimiorreceptores no prostômio e estruturas sensoriais na epiderme, confere-lhes uma elevada sensibilidade a xenobióticos, sendo capazes de facilmente detetar a sua presença (Fründ et al., 2010). Além disso, estão presentes numa grande variedade de solos, representando 60 a 80% da biomassa total de invertebrados, o que as torna organismos teste importantes em ensaios ecotoxicológicos (Niva e Brown, 2019).

Tendo em conta estas características biológicas e ecológicas, as minhocas têm sido um dos organismos mais utilizados para a avaliação da toxicidade dos compostos químicos nos ecossistemas terrestres (Lee et al., 2008). Como tal, foram criadas nas últimas décadas diversas normas pela ISO - Organização Internacional de Normalização e pela OECD - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico onde são definidas as metodologias a seguir na realização de ensaios laboratoriais padronizados (Tabela I).

Para ensaios em condições controladas destacam-se duas espécies de minhocas: *E. fetida* e *E. andrei* (OECD, 1984, 2016), devido à facilidade de se manterem em culturas de laboratório, à extensa base de dados dos efeitos de substâncias tóxicas nestas espécies, e ao relativamente curto ciclo de vida (Lee et al., 2008).

Os testes de toxicidade aguda (mortalidade) e crónica (reprodução) têm sido utilizados para avaliar a toxicidade de contaminantes, através da medição de parâmetros como mortalidade, crescimento (i.e. aumento da biomassa dos adultos sobreviventes) reprodução (número de juvenis produzidos), comportamento (teste de fuga). A estes parâmetros juntam-se muitas vezes outros a diferentes níveis de

organização biológica como stresse oxidativo, alterações histológicas (Lourenço et al., 2011), danos no DNA (quebras no DNA analisadas pelo ensaio cometa) (Lourenço et al., 2012), formação de micronúcleos, alterações no sistema imunitário (Lourenço et al., 2016), entre outros (Figura 4).

TABELA I: Testes Ecotoxicológicos realizados com minhocas.

Teste	Duração	Protocolo	Referência
Ensaio de Fuga	48 horas	ISO 17512-1	ISO (2008)
Ensaio de mortalidade	14 dias	OECD 207	OECD (1984)
Ensaio de reprodução	28 dias + 28 dias <sup>1</sup>	ISO 11268	ISO (2012)
		OECD 222	OECD (2016)
Ensaio de bioacumulação	21 dias + 21 dias ou 14 +14 dias <sup>2</sup>	ISO 11268-2	ISO (2012)
		OECD 317	OECD (2010)

<sup>1</sup>28 dias para produção de casulos + 28 dias para eclosão dos juvenis

<sup>2</sup>21 ou 14 dias para acumulação da substância teste (fase de acumulação) + 21 ou 14 dias para eliminação da substância teste (fase de eliminação)

O teste de fuga é um método rápido para determinar o efeito da presença de contaminantes do solo (Schaefer, 2003) no comportamento das minhocas. Além disso, este ensaio tem algumas vantagens, como ser rápido (48h), simples e com resultados muitas vezes semelhantes a ensaios mais prolongados como ensaios de reprodução (Gainer et al., 2019). Este teste, permite recolher informação relevante numa fase inicial de uma análise de risco fornecendo dados preliminares relativamente ao potencial tóxico de um contaminante nos organismos expostos (Lee et al., 2008).

O ensaio de mortalidade permite determinar o efeito tóxico de um composto após 14 dias de exposição.

Neste teste, a mortalidade é o parâmetro a avaliar (Rida e Bouché, 1997). É considerado um teste simples, no entanto não permite avaliar o efeito da contaminação numa dinâmica populacional (Clasen e de Moura Lisboa, 2019).

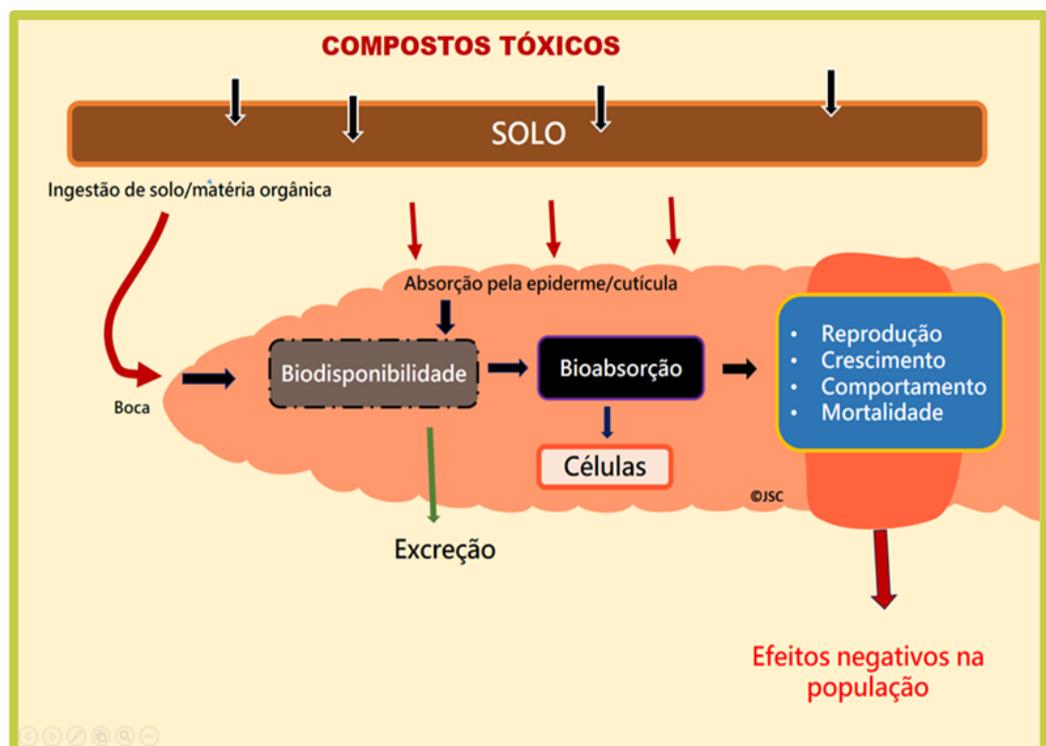


FIGURA 4: Vias de entrada dos compostos tóxicos nas minhocas e alguns potenciais efeitos negativos a vários níveis biológicos.

O ensaio de reprodução avalia os efeitos dos contaminantes em indivíduos adultos expostos durante 30 dias. Além de se avaliar os efeitos dos compostos na biomassa e mortalidade dos organismos adultos expostos desde o início do ensaio, também se obtém informações relativamente a outras funções biológicas como a produção de casulos e a reprodução ao fim de 56 dias de ensaio (OECD, 2016). Apesar de ser um ensaio de longa duração, é um teste bastante sensível, sendo considerado um dos mais relevantes para determinar o efeito de substâncias tóxicas nos ecossistemas e na dinâmica populacional, em condições ambientalmente relevantes (Inouye et al., 2006).



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como descrito anteriormente, as minhocas apresentam um papel bastante importante nos ambientes edáficos, como o favorecimento da decomposição da matéria orgânica, mineralização de nutrientes e disponibilização destes para as plantas, e melhoram a estrutura e qualidade do solo. Adicionalmente são um grupo chave nos diversos serviços do ecossistema, tais como o “aprovisionamento” (produção alimentar e biotecnologia), “suporte” (regulação climática, composição atmosférica e serviços hidrológicos), “regulação” (habitat e conservação da biodiversidade) e “cultural” (capital natural), sendo consideradas bioindicadores da qualidade do solo.

Devido à sua importância no solo, às características biológicas e à sua ecologia, as minhocas tornaram-se excelentes organismos modelo quer em estudos *in situ*, quer em estudos ecotoxicológicos. Através deste tipo de ensaios podem-se avaliar os efeitos da presença de substâncias químicas em concentrações capazes de causar efeitos tóxicos através da medição de diferentes parâmetros biológicos, nomeadamente mortalidade, efeitos bioquímicos, efeitos genéticos, comportamento de fuga e reprodução. Como tal, os ensaios que utilizam minhocas como bioindicador constituem uma importante ferramenta de avaliação da qualidade dos solos e do risco associado à presença de substâncias tóxicas neste compartimento ambiental.

---

**agradecimentos** • Este trabalho é apoiado/financiado por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, no âmbito do projeto UIDB/04033/2020 e projeto PTDC/CTA-AMB/6686/2020.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bartlett, M. D., Briones, M. J., Neilson, R., Schmidt, O., Spurgeon, D. & Creamer, R. E. (2010). A critical review of current methods in earthworm ecology: from individuals to populations. *European Journal of Soil Biology*, 46(2), 67-73.
- Beare, M., Coleman, D., Crossley, D., Hendrix, P. & Odum, E. (1995). A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. In *The significance and regulation of soil biodiversity* (Vol. 63, pp. 5-22): Springer.
- Blouin, M., Hodson, M. E., Delgado, E. A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K. R., Dai, J., Dendooven, L., Pérès, G. & Tondoh, J. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*, 64(2), 161-182.
- Bottinelli, N., Hedde, M., Jouquet, P. & Capowiez, Y. (2020). An explicit definition of earthworm ecological categories—Marcel Bouché's triangle revisited. *Geoderma*, 372, 114361.
- Bouché, M. (1972). *Lombriens de France. Ecologie et systématique* (Vol. 72): INRA Editions.
- Bouché, M. (1977). Strategies lombriciennes. *Ecological Bulletins* (25), 122-132.
- Briones, M. J. (2022). Earthworms: essential ecosystem engineers providing vital ecosystem services. . In *Encyclopedia of Soils in the Environment, Second Edition*.
- Burgers, A. (1967). *Soil biology*: Elsevier.
- Clasen, B., de Moura Lisbôa, R. (2019). Ecotoxicological Tests as a Tool to Assess the Quality of the Soil. *Soil Contamination and Alternatives for Sustainable Development*, 13-33.
- Curry, J. P., Schmidt, O. (2007). The feeding ecology of earthworms—a review. *Pedobiologia*, 50(6), 463-477.
- Datta, S., Singh, J., Singh, S. & Singh, J. (2016). Earthworms, pesticides and sustainable agriculture: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(9), 8227-8243. Retrieved from <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11356-016-6375-0.pdf>
- Edwards, C. A., Bohlen, P. J. (1996). *Biology and ecology of earthworms* (Vol. 3): Springer Science & Business Media.
- Fründ, H.-C., Butt, K., Capowiez, Y., Eisenhauer, N., Emmerling, C., Ernst, G., Potthoff, M., Schädler, M. & Schrader, S. (2010). Using earthworms as model organisms in the laboratory: recommendations for experimental implementations. *Pedobiologia*, 53(2), 119-125.
- Gainer, A., Hogan, N., Siciliano, S. D. (2019). Soil invertebrate avoidance behavior identifies petroleum hydrocarbon contaminated soils toxic to sensitive plant species. *Journal of hazardous materials*, 361, 338-347. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389418307738?via%3Dihub>
- Hallam, J., Hodson, M. E. (2020). Impact of different earthworm ecotypes on water stable aggregates and soil water holding capacity. *Biology and Fertility of Soils*, 56(5), 607-617.
- Inouye, L. S., Jones, R. P., Bednar, A. J. (2006). Tungsten effects on survival, growth, and reproduction in the earthworm, *Eisenia fetida*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 25(3), 763-768. Retrieved from <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1897/04-578R.1?download=true>
- Investigación, C. C. d., Sostenibilidad, I. d. M. A. y. (2010). *European atlas of soil biodiversity*: Publications Office.
- ISO. (2008). Soil quality — Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour — Test 17512-1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneva, Switzerland.
- ISO. (2012). Soil quality—effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Test nº 11268–2: Determination of on reproduction. Geneva, Switzerland.
- James, S. (2000). Earthworms (Annelida: Oligochaeta) of the Columbia River basin assessment area. *Gen. Tech. Rep. PNW-GTR-491*. Portland, OR: US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 13 p, 491.
- John, K., Janz, B., Kiese, R., Wassmann, R., Zaitsev, A. S. & Wolters, V. (2020). Earthworms offset straw-induced increase of greenhouse gas emission in upland rice production. *Science of the total environment*, 710, 136352. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971936348X?via%3Dihub>
- Jones, C. G., Lawton, J. H., Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. In *Ecosystem management* (Vol. 69 (3), pp. 130-147): Springer.
- Kauschke, E., Mohrig, W., Cooper, E. L. (2007). Coelomic fluid proteins as basic components of innate immunity in earthworms. *European Journal of Soil Biology*, 43, S110-S115.
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S. b., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P. & Rossi, J.-P. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, 42, S3-S15.
- Lavelle, P., Schaefer, R., Zaidi, Z. (1989). Soil ingestion and growth in *Millsonia anomala*, a tropical earthworm, as influenced by the quality of the organic matter ingested. *Pedobiologia (Jena)*, 33(6), 379-388.

- Lee, B., Shin, K. H., Kim, J. Y. & Kim, K. W. (2008). Progress in earthworm ecotoxicology. In *Advanced environmental monitoring* (pp. 248-258): Springer.
- Lee, K. E. (1985). *Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use*: Academic Press Inc.
- Lourenco, J., Mendo, S., Pereira, R. (2016). Radioactively contaminated areas: Bioindicator species and biomarkers of effect in an early warning scheme for a preliminary risk assessment. *Journal of hazardous materials*, 317, 503-542.
- Lourenço, J., Pereira, R., Silva, A., Carvalho, F., Oliveira, J., Malta, M., Paiva, A., Gonçalves, F. & Mendo, S. (2012). Evaluation of the sensitivity of genotoxicity and cytotoxicity endpoints in earthworms exposed in situ to uranium mining wastes. *Ecotoxicology and environmental safety*, 75, 46-54.
- Lourenço, J., Silva, A., Carvalho, F., Oliveira, J., Malta, M., Mendo, S., Gonçalves, F. & Pereira, R. (2011). Histopathological changes in the earthworm *Eisenia andrei* associated with the exposure to metals and radionuclides. *Chemosphere*, 85(10), 1630-1634.
- Medina-Sauza, R. M., Álvarez-Jiménez, M., Delhal, A., Reverchon, F., Blouin, M., Guerrero-Analco, J. A., Cerdán, C. R., Guevara, R., Villain, L. & Barois, I. (2019). Earthworms building up soil microbiota, a review. *Frontiers in Environmental Science*, 7, 81.
- Millennium Ecosystem Assessment, M. (2005). *Ecosystems and human well-being* (Vol. 5): Island press Washington, DC.
- Nahmani, J., Hodson, M. E., Black, S. (2007). A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution*, 145(2), 402-424.
- Newell, G. (1950). The role of the coelomic fluid in the movements of earthworms. *Journal of Experimental Biology*, 27(1), 110-122.
- Niva, C., Brown, G. (2019). *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas* (Vol. 1): Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE).
- OECD. (1984). *Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris.*
- OECD. (2010). *Test No. 317: Bioaccumulation in Terrestrial Oligochaetes: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3, OECD Publishing, Paris.*
- OECD. (2016). *Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (Eisenia fetida/Eisenia andrei), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris.*
- Orgiazzi, A., Singh, B., Wall, D., Barrios, E., Kandeler, E., Moreira, F., De Deyn, G., Chotte, J., Six, J., Hedlund, K., Briones, M., Miko, L., Johnson, N., Ramirez, K., Fierer, N., Kaneko, N., Lavelle, P., Eggleton, P., Lemanceau, P., Bardgett, R., Jeffery, S., Fraser, T., Behan Pelletier, V., Putten, V. D., W., M., L. & Jones, A. (2015). *Global Soil Biodiversity Atlas*. Publications Office of the European Union, Luxembourg: European Commission.
- Peijnenburg, W. J., Vijver, M. G. (2009). Earthworms and their use in eco (toxico) logical modeling. In *Ecotoxicology modeling* (pp. 177-204): Springer.
- Phillips, H. R., Guerra, C. A., Bartz, M. L., Briones, M. J., Brown, G., Crowther, T. W., Ferlian, O., Gongalsky, K. B., Van Den Hoogen, J. & Krebs, J. (2019). Global distribution of earthworm diversity. *science*, 366(6464), 480-485.
- Quigley, I. (1997). Characteristics of Annelids. *Animal Sciences*, 276, 30.
- Rida, A. M. M. A., Bouché, M. B. (1997). Earthworm toxicology: from acute to chronic tests. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(3-4), 699-703.
- Ruiz, S. A., Bickel, S., Or, D. (2021). Global earthworm distribution and activity windows based on soil hydromechanical constraints. *Communications biology*, 4(1), 1-9.
- Schaefer, M. (2003). Behavioural endpoints in earthworm ecotoxicology. *Journal of Soils and Sediments*, 3(2), 79-84.
- Schon, N., Dominati, E. (2020). Valuing earthworm contribution to ecosystem services delivery. *Ecosystem Services*, 43, 101092.
- Singh, A., Singh, G. (2019). Is earthworm a protagonist or an antagonist in greenhouse gas (GHG) emissions from the soil? *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(2), 1145-1158.
- Van Groenigen, J. W., Lubbers, I. M., Vos, H. M., Brown, G. G., De Deyn, G. B. & van Groenigen, K. J. (2014). Earthworms increase plant production: a meta-analysis. *Scientific reports*, 4(1), 1-7.