

Maria Edna Tenório Nunes
Julia Carina Niemeyer
Paulo Roger Lopes Alves
Cintia Carla Niva
Jörg Römbke

Os ensaios devem ser realizados, preferencialmente, em salas ou câmaras incubadoras em que temperatura e luminosidade possam ser controladas.

9.1 Temperatura

A temperatura recomendada nas normas NBR 15537, NBR ISO 17512-1, NBR ISO 16387 (ABNT, 2011, 2012, 2014), ISO 11268-1, ISO 11268-2 e ISO 16387 (ISO, 1993, 2004, 2012), 207 e 222 (OECD, 1984, 2004) e E1676-04 (ASTM, 2004) para o desenvolvimento dos ensaios com *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei* e com *Enchytraeus albidus* é de 20 ± 2 °C, com limites de 15 °C e 20 °C, mas, para *E. crypticus*, temperaturas até 30 °C podem ser usadas conforme o objetivo do ensaio.

Para regiões tropicais recomenda-se a utilização de 28 ± 2 °C (Garcia, 2004; Garcia et al., 2007; Jänsch et al., 2005), inclusive na norma ISO 11268-2 (ISO, 2012). Para regiões subtropicais e intermediárias entre os trópicos e subtropicais, temperaturas médias de 20 °C a 25 °C tem sido utilizadas conforme a realidade de cada local (Buch, 2010; Niva et al., 2010a, 2010b; Nunes, 2010; Niemeyer et al., 2011; Chelinho et al., 2012; Nunes; Espíndola, 2012). A norma NBR 15537 recomendava o uso de 20 °C para os ensaios, mas a versão atualizada em 2014 (ABNT, 2014) recomenda o uso de 25 °C numa tentativa de “tropicalizar” um método originalmente desenhado para as condições de clima temperado e também porque essa é uma temperatura que muitos laboratórios usam como rotina.

9.2 Iluminação

O ensaio deve ser realizado sob fotoperíodo controlado. Para minhocas, as normas ISO 11268-1 (ISO, 1993) e 11268-2 (ISO, 2012) recomendam ciclos entre 12 horas de luz para 12 horas de escuro e 16 horas de luz para 8 horas de escuro; as normas 207 (OECD, 1984), E1676-04 (ASTM, 2004) e NBR 15537 (ABNT, 2014) recomendam luz contínua; e a norma 222 (OECD, 2004) recomenda preferivelmente 16 horas de luz para 8 horas de escuro. Para enqui-

treídeos, o regime de 16 horas de luz para 8 horas de escuro (fotoperíodo de verão de clima temperado) com intensidade luminosa de 400 lux a 800 lux é recomendado pela norma 16387 (ISO, 2004) na área dos recipientes-teste, para prevenir que os organismos escapem do solo.

Para região tropical, regime de luz de 12 horas tem sido utilizado (Garcia et al., 2007; Nunes, 2010, Nunes & Espíndola, 2012).

Referências

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 15537**: ecotoxicologia terrestre: ecotoxicidade aguda: método de ensaio para minhocas. Rio de Janeiro, 2014. 13 p.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 17512-1**: qualidade do solo: ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento: Parte 1: ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro, 2011. 26 p.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 16387**: qualidade do solo: efeitos de poluentes em Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.): determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência Rio de Janeiro, 2012. 29p.

ASTM. American Society for Testing and Materials. **ASTM E1676-04**: standard guide for conducting laboratory soil toxicity or bioaccumulation tests with the Lumbricid earthworm *Eisenia fetida* and the Enchytraeid potworm *Enchytraeus albidus*. West Conshohocken, 2004. 26 p.

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

CHELINHO, S.; LOPES, I.; NATAL-DA-LUZ, N.; DOMENE, X.; NUNES, M. E. T.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J. P. Integrated ecological risk assessment of pesticides in tropical ecosystems: a case study with carbofuran in Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n 2, p. 437-445, 2012. DOI: 10.1002/etc.738.

GARCIA, M. **Effects of pesticides on soil fauna**: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. 2004. 283 f. Theis (Ph.D.) - University of Bonn, Bonn.

GARCIA, M.; RÖMBKE, J.; BRITO, M. T.; SCHEFFCZYK, A. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditons. **Environmental Pollution**, v. 153, n. 2, p. 450-456, 2007. DOI: 10.1016/j.envpol.2007.08.007.

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

ISO. International Organization for Standardization. **ISO 11268-2**: soil quality: effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Part 2: determination of effects on reproduction. Geneve, 2012.

ISO. International Organization for Standardization. **ISO 16387**: soil quality: Effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.): determination of effects on reproduction and survival. Geneve, 2004.

JÄNSCH, S.; AMORIM, M. J.; RÖMBKE, J. Identification of the ecological requirements of important terrestrial ecotoxicological test species. **Environmental Review**, v. 13, p. 51-83, 2005. DOI: 10.1139/a05-007.

NIEMEYER, J. C.; MOREIRA SANTO, M.; NOGUEIRA, M. A.; CARVALHO, G. M.; RIBEIRO, R.; SILVA, E. M.; SOUSA, J. P. Environmental risk assessment of a metal-contaminated area in the tropics. Tier I: screening phase. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10 n. 8, p. 1557-1571, 2010. DOI: 10.1007/s11368-010-0255-x.

NIVA, C. C.; KOVALSKI, R.; BROWN, G. G. Adaptação do ensaio ecotoxicológico com enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOTOXICOLOGIA, 11., 2010, Bombinhas. **Anais...** Brisbane: International Union of Soil Science: ASSSI, 2010a.

NIVA, C. C.; KOVALSKI, R.; BROWN, G. G. Enquitreídeos (Enchytraeidae, Oligochaeta) como organismos-teste em ensaios ecotoxicológicos no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOTOXICOLOGIA, 11., 2010, Bombinhas. **Anais...** Brisbane: International Union of Soil Science: ASSSI, 2010b.

NUNES, M. E. T. **Avaliação dos efeitos sobre a fauna edáfica da utilização de agrotóxicos em Bom Repouso, MG, Brasil, por meio de ensaios ecotoxicológicos com *Eisenia andrei* e com uma comunidade natural do solo.** 2010. 175 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

NUNES, M. E. T.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 1063-1071, 2012. DOI: 10.1007/s10646-012-0859-6.

OECD. Organization for Economic Co-Operation and Development. **Earthworm acute toxicity test.** Paris, 1984. 9 p. (OECD. Guideline for testing of chemicals, 207).

OECD. Organization for Economic Co-Operation and Development. **Earthworm reproduction tests (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*).** Paris, 2004. (OECD. Guideline for the testing of chemicals, 222).

