



O PAPEL DO BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR NA REDUÇÃO DA TOXICIDADE DO 2,4-D

THE ROLE OF SUGARCANE BAGASSE IN REDUCING THE TOXICITY OF 2,4-D

José Augusto SIQUEIRA-CASTRO *¹ • Cirley Gomes Araújo dos SANTOS*² • Vanessa Soares da SILVA*³
• Marcelino BENVINDO-SOUZA*⁴ • Rinneu Elias BORGES*⁵ • Lia Raquel de Sousa SANTOS*²

Resumo

O bagaço de cana-de-açúcar é substrato biossorvente reconhecido pela capacidade de remover efetivamente metais pesados, compostos orgânicos voláteis, sendo adequado para o tratamento de água. Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar se o bagaço de cana-de-açúcar, associado à terra, pode reduzir a disponibilidade do 2,4-D no solo e minimizar possíveis danos mutagênicos, além de alterações na biomassa de minhocas (*Eisenia andrei*). Para isso, *E. andrei* foram expostas durante 14 dias a duas concentrações do herbicida (4 e 12 µg/L de 2,4-D) em solos com diferentes proporções de bagaço de cana (0, 25, 75 e 100%). Em geral, os resultados não indicaram diferenças significativas na biomassa nem na frequência de micronúcleos entre as concentrações de 2,4-D em relação ao controle. O que indica uma relação com o fato das concentrações testadas serem consideradas ambientalmente relevantes. Portanto, mais estudos são encorajados, especialmente com concentrações mais elevadas e a aplicação de outros biomarcadores para complementar as análises.

Palavras-chave: Herbicida, Biossorvente, Minhoca, 2,4-diclorofenoxyacético, *Eisenia andrei*, Mutagenicidade.

Abstract

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) is the second most widely used herbicide in Brazil and this chemical compound has been shown to have ecotoxicological potential. However, there are no studies evaluating the efficiency of sugarcane bagasse as a reducer of the potential impact of the herbicide 2,4-D on soil organisms, especially earthworms. Therefore, the aim of this study was to assess whether sugarcane bagasse, associated with soil, can reduce the availability of 2,4-D in the soil and minimize possible mutagenic damage, as well as changes in the biomass of earthworms (*Eisenia andrei*). To this end, *Eisenia andrei* were exposed for 14 days to two concentrations of the herbicide (4 and 12 µg/L of 2,4-D) in soils with different proportions of sugarcane bagasse (0, 25, 75 and 100%). In general, the results showed no significant differences in biomass or micronucleus frequency between the concentrations of 2,4-D and the control. This suggests that the tested concentrations are environmentally relevant. Therefore, further studies are recommended, especially with higher doses and the use of additional biomarkers to complement the analyses.

Keywords: Herbicide, Biosorbent, Earthworm, Mutagenicity

 José Augusto Siqueira de Castro, joseaugustosc44@gmail.com

*¹ Laboratório de Bioquímica e Genética, Instituto Federal Goiano - Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, Rio Verde, Goiás. CEP 75.901-970, Brasil

*² Laboratório de Ecotoxicologia e Sistemática Animal, Instituto Federal Goiano - Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, Rio Verde, Goiás. CEP 75.901-970, Brasil

*³ Laboratório de Mutagênese, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil

*⁴ Laboratório de Biotecnologia, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Goiás. CEP 75113-610, Brasil;

*⁵ Laboratório de Zoologia, Universidade de Rio Verde - UniRV, Fazenda Fontes do Saber, Rio Verde, Goiás. CEP 75901-970, Brasil

ORCID:

<https://orcid.org/0000-0001-7859-4628>

<https://orcid.org/0000-0002-6979-0106>

<https://orcid.org/0000-0002-6119-5054>

<https://orcid.org/0000-0001-9008-6087>

<https://orcid.org/0000-0003-0719-5181>

<https://orcid.org/0000-0001-5563-931X>

Manuscrito recebido: 27/03/2025

Aceito para publicação: 08/12/2025

Introdução

Os pesticidas são amplamente utilizados na agricultura comercial e têm contribuído significativamente para o aumento da produtividade das colheitas ao controlar pragas e doenças, garantindo a segurança alimentar (LAMMERTYN et al., 2024). No entanto, a aplicação indiscriminada de agroquímicos para melhorar a produtividade impacta negativamente o meio ambiente (VULLO et al., 2023). O 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), por exemplo, é um herbicida utilizado mundialmente devido ao seu baixo custo, alta seletividade e eficiência no controle de ervas daninhas, sendo bastante empregado em áreas agrícolas e urbanas (DEHNERT et al., 2018). De acordo com o IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente), o 2,4-D foi classificado como o segundo herbicida e o terceiro pesticida mais vendido no Brasil em 2023 (atrás do Glifosato e do Mancozebe), com 51.872,24 toneladas comercializadas (IBAMA, 2024). Vale a pena ressaltar que, uma vez aplicado diretamente no solo ou pulverizado nas lavouras, o 2,4-D pode atingir facilmente corpos d'água por meio do escoamento superficial, infiltração e lixiviação, tornando-se um problema ambiental (KEARNS et al., 2014). Assim, vários estudos já registraram em solo ou água (MORGAN et al., 2008; ISLAM et al., 2018; ENGELBRECHT et al., 2025). No Brasil, de acordo com a resolução nº 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), é permitida uma concentração máxima de 4,0 µg/L de 2,4-D solúvel em água doce.

Anelídeos são invertebrados essenciais para o ecossistema do solo. Devido à pele sensível e à possibilidade de absorver contaminantes pela boca, são amplamente usados em testes de toxicidade (MANERIKAR et al., 2008; NNEJI et al., 2016; BOUGHATTAS et al., 2019; GAN et al., 2021). Eles são usados como bioindicadores em estudos laboratoriais e de campo sobre a contaminação do solo por pesticidas (VULLO et al., 2023; LAMMERTYN et al., 2024), metais tóxicos (SILVA et al., 2023; HATTAB et al., 2023) e poluentes emergentes (LIWARSKA-BIZUKOJC et al., 2023; ANTONIO et al., 2025). Entretanto, nenhum estudo utilizando a concentração máxima permitida do herbicida foi realizado para avaliar efeitos mutagênicos (teste de micronúcleo) em minhocas. Paralelamente,

ressalta-se que o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com aproximadamente 8,59 milhões de hectares de área cultivada. De acordo com a última análise mensal de produtividade realizada pela Agência Nacional de Abastecimento (CONAB) em abril de 2020, o estado de Goiás era o segundo maior produtor de cana-de-açúcar do país, dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária também corroboram com este número (EMBRAPA, 2020).

Nesse contexto, destaca-se o subproduto da lavoura sucroalcooleira, o bagaço da cana-de-açúcar, e seu potencial uso como bioabsorvente de baixo custo para a remoção de contaminantes presentes na água (DOS SANTOS et al., 2011; SARKER et al., 2017; MILANI et al., 2018; FIDELES et al., 2018; SOLIMAN et al., 2024). O bagaço é economicamente viável, abundante e caracterizado por sua estrutura porosa, o que o torna adequado para o tratamento de água (THORAT et al., 2025). Assim, considerando que o 2,4-D é o segundo herbicida mais utilizado no Brasil e já foi demonstrado que esse composto químico tem o potencial ecotoxicológico. No entanto, não há estudos que avaliem a eficiência do bagaço de cana-de-açúcar como redutor do potencial impacto do herbicida 2,4-D sobre organismos do solo, especialmente as minhocas. Diante do exposto, levantou-se a hipótese que o bagaço da cana-de-açúcar, associado ao solo, atue como absorvente do herbicida 2,4-D presente no ambiente, reduzindo sua toxicidade para os organismos que habitam esse ecossistema, em especial a minhoca *Eisenia andrei*. Para avaliar esse efeito, o teste do micronúcleo é um biomarcador globalmente aceito, simples e sensível para detectar danos mutagênicos resultantes da exposição a xenobióticos (SILVA et al., 2023; CALISI et al., 2024).

Material e Métodos

Coleta do solo e substrato

O solo foi coletado no Jardim Botânico do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Goiás. Após a coleta o solo foi peneirado (malha: 3,5 mm x 6 mm) a fim de obter maior homogeneidade para uso no experimento. Já o bagaço de cana (BC) foi obtido na Usina de Etanol no município de Paraúna, Goiás, Brasil. O BC foi lavado com água de torneira e seco em estufa a

70°C por 12h, a fim de retirar impurezas e umidade.

Obtenção dos anelídeos

As minhocas adultas entre 300 mg à 600 mg e com clítelo bem desenvolvido foram obtidas em casa de pesca. Durante todo o experimento as minhocas foram alimentadas com a matéria orgânica presente na terra ou do bagaço de cana.

Delineamento experimental

O 2,4-D foi adquirido com produtores rurais de Rio Verde, Goiás. Para avaliarmos o efeito do bagaço de cana-de-açúcar na bioassorção do 2,4-D, o experimento ex situ foi executado em terrários com capacidade de 4L utilizando dois fatores (concentração do herbicida em relação bagaço da cana versus terra) em 12 tratamentos com três réplicas cada, totalizando 36 unidades experimentais (Figura 1). Duas concentrações do herbicida foram utilizadas para a exposição, sendo uma o valor permitido pelo CONAMA (4µg/L) e a outra três vezes mais elevada (12µg/L) de modo a simular o efeito de uma possível bioacumulação dessa substância no ambiente, devido seu uso na rotatividade das culturas anuais (Bula 2,4 D Nortox), bem quanto uma provável superdosagem nas lavouras. Também vale sublinhar que 12µg/L já foram detectado em águas superficiais e sedimentos urbanos (Islam et al., 2018). Para cada tratamento foram utilizados trinta animais, sendo 10 em cada réplica.

Os tratamentos visaram avaliar as concentrações e a efetividade do BC como potencial bioassorvente desse contaminante. Para tanto, além dos tratamentos apresentados, também foram avaliados os grupos sem exposição ao contaminante, grupos controles, os quais foram expostos ao herbicida 2,4-D e outro sem o bagaço de cana-de-açúcar. Cada unidade experimental com capacidade para 2L contendo diferentes porcentagens (%) de bagaço de cana (BC) em relação à quantidade de terra (T) 25%BC75%T, 50%BC50%T, 75%BC25%T e 100%BC100%T. A exposição das minhocas ao 2,4D em diferentes concentrações (4µg/L e 12µg/L) ocorreu nesta proporção de BC e T através da admissão do herbicida em solução aquosa misturada ao solo (300 mL). Para o grupo controle foi utilizada apenas água. Após o preparo do solo seguido a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE, 1984), as

minhocas foram expostas por 14 dias e coletadas para a determinação dos parâmetros biométricos, bem como a frequência de micronúcleo.

Figura 1. Delineamento experimental da exposição do 2,4D a minhocas durante 14 dias. A porcentagem indica a quantidade de terra utilizada ou de bagaço de cana-de-açúcar. T) Terra e BC) bagaço de cana-de-açúcar.



Análise da biomassa

Para as análises da massa corporal, um grupo de dez animais de cada réplica, foi pesado em balança analítica de precisão (0,1g) no início e ao final dos experimentos, para cada unidade experimental.

Teste do micronúcleo

As minhocas foram lavadas em água de torneira declorada e deixadas para expurgar o excesso de resíduos intestinais por 3h (HENDRIKSEN et al., 1991). Os animais foram mortos em resfriamento em gelo. Em seguida, foram coletadas amostras de celomócitos com seringas heparinizadas. Dois esfregaços de celomócitos foram realizados em lâminas de vidro limpas para cada animal, fixados com metanol por 10 min e depois corados com Kit panótico rápido por 10 segundos. Um total de 1000 células foram analisadas de cada lâmina sob um microscópio de Leipzig equipado com uma câmera de 38 MP, com uma ampliação de 100x.

Análise estatística

Os dados foram apresentados por meio da média e desvio padrão. A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene,

respectivamente. O teste t de Student foi realizado para comparar a biomassa das minhocas. Já o Kruskal-Wallis (H) seguido por Dunn foi executado entre os tratamentos do teste de micronúcleo. Um $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados

A mortalidade total de minhocas (*E. andrei*) em 14 dias foi <10% o que está de acordo com os critérios de validade do protocolo de teste da OCDE. Ao final da exposição de 14 dias havia

duas mortes no controle, uma na exposição de 4 μ g/L e oito para 12 μ g/L. Ao final do experimento morreram 11 minhocas (controle = 2, 4 μ g/L = 1 e 12 μ g/L = 8). Não houve diferença significativa entre a massa corporal inicial e final das minhocas, exceto em 25%-75% ($p = 0,016$) (Tabela 1).

Para o teste de micronúcleo não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($H = 0,2727$; $p = 1,00$) em relação ao controle, bem como para células binucleadas nos tratamentos com bagaço de cana ($H = 9,335$; $GL = 8$; $p = 0,315$) e sem bagaço da cana ($H = 2,0156$; $GL = 2$; $p = 0,365$).

Tabela 1 - Média±desvio padrão da massa corporal de anelídeos expostos a 2,4-D com bagaça de cana-de-açúcar.

Tratamentos	BC	Terra	Massa Corporal ($\bar{X} \pm SD$)		Estatística p-valor
			Início	Final (14 dias)	
Controle	0%	100%	2,76±1,59	2,84±0,26	$t = 0,679$; $p = 0,534$
	75%	25%	2,78±0,36	3,42±0,99	$t = -1,046$; $p = 0,355$
	50%	50%	3,50±0,47	4,22±0,45	$t = -1,936$; $p = 0,125$
	25%	75%	3,14±0,41	3,44±0,31	$t = -0,995$; $p = 0,375$
4 μ g/L_2,4-D	0%	100%	2,97±1,26	3,13±0,42	$t = 0,679$; $p = 0,534$
	75%	25%	3,27±0,54	3,30±1,30	$t = -2,275$; $p = 0,085$
	50%	50%	3,03±0,44	3,08±1,00	$t = -2,274$; $p = 0,085$
	25%	75%	3,34±0,49	3,84±1,08*	$t = -3,951$; $p = 0,016$
12 μ g/L_2,4-D	0%	100%	3,11±0,47	3,43±0,32	$t = -0,988$; $p = 0,378$
	75%	25%	2,89±0,44	2,47±1,47	$t = 0,467$; $p = 0,331$
	50%	50%	2,69±0,25	2,23±0,49	$t = 1,443$; $p = 0,222$
	25%	75%	2,98±0,34	2,89±0,25	$t = 0,369$; $p = 0,730$

Os dados consideram o início e final da exposição com 14 dias. O asterisco indica uma diferença significativa.

Tabela 2 - Média±desvio padrão da frequência de micronúcleo e células binucleadas de celomócitos de anelídeos expostos a 2,4-D com bagaça de cana-de-açúcar.

Tratamentos			Biomarcador ($\bar{X} \pm SD$)	
Terra	BC	Concentração (μ g/L)	Micronúcleo	Binucleada
75%	25%	0	0,00	0,00
		4	0,00	0,00
		12	0,00	0,33±0,71
50%	50%	0	0,00	0,00
		4	0,00	0,18±0,40
		12	0,11±0,33	1,11±1,05
25%	75%	0	0,00	0,00
		4	0,00	0,00
		12	0,00	0,40±1,26
100%	0%	0	0,00	0,40±0,70
		4	0,00	0,20±0,42
		12	0,00	0,90±1,10

Discussão

Concentrações ambientalmente relevantes de 2,4-D (4 e 12 µg/L) associadas ao bagaço de cana-de-açúcar com o solo não provocam mutagenicidade em anelídeos de *E. andrei*, além de perda de peso da biomassa. É sabido que o crescimento de minhocas pode ser inibido após a exposição a produtos químicos tóxicos, sendo a diminuição do peso uma resposta comum ao estresse (WU et al., 2011; YE et al., 2016; YADAV et al., 2023). Dito isto, foi observado que o peso das minhocas apresentou uma leve tendência (6,96%) de queda na dose mais baixa (4 µg/L de 2,4-D) para 25% de bagaço de cana-de-açúcar. Ye et al. (2016) defendem que a perda de peso pode estar associada à redução de glicogênio, lipídios e proteínas após a exposição a substâncias tóxicas. Por outro lado, Givaudan et al. (2014) relatam que os mecanismos de desintoxicação das minhocas envolvem a remoção de poluentes exógenos por meio do metabolismo energético.

Entretanto, as concentrações testadas não resultaram em diferenças significativas no peso inicial e final das minhocas, ou mesmo no teste de micronúcleo. Este resultado pode estar relacionado às baixas concentrações utilizadas em comparação com outros estudos sobre o efeito do 2,4-D em anelídeos. Boughattas et al. (2022), por exemplo, avaliaram o impacto do 2,4-D (7 mg/kg) no solo em combinação com microplásticos, observando um aumento na frequência de micronúcleos apenas na interação entre os xenobióticos. Em estudo realizado com *Eutwyphoeus waltoni* exposto a diferentes concentrações de 2,4-D (200, 300, 400, 450 mg/kg), observou-se um efeito tóxico-dependente entre tempo de exposição e dose (SINGH; SINGH, 2015).

Apesar de ser um dos biomarcadores mais utilizados no monitoramento ambiental (SFORZINI et al., 2012), o teste de micronúcleo não demonstrou efeitos nas variáveis analisadas neste estudo. Além disso, a baixa concentração de herbicida utilizada no presente estudo, o uso de um biomarcador mais sensível, como o ensaio cometa, pode ser relevante para futuras investigações. É importante ressaltar que a maioria dos estudos sobre saúde ambiental e danos no DNA são realizados com espécies aquáticas (ABDEL et al., 2018), enquanto as pesquisas sobre genotoxicidade e outros biomarcadores utilizam-se de organismos terrestres (DA SILVA JÚNIOR

et al., 2009). Considerando a importância ecológica desses organismos na manutenção da qualidade e sustentabilidade do solo, a contaminação por herbicidas pode representar um fator crítico para a integridade do ecossistema terrestre.

Por fim, é importante destacar que os efeitos tóxicos do 2,4-D não se restringem aos organismos do solo. O acúmulo desse herbicida pode comprometer a qualidade dos alimentos cultivados em áreas contaminadas, expondo também os seres humanos a potenciais riscos à saúde (ISLAM et al., 2018; MOHAMMADNIA et al., 2020). Neste contexto, os resultados obtidos demonstram que os dados foram insuficientes para demonstrar se a bagaço de cana-de-açúcar seria uma estratégia eficiente para a remoção ou atenuação do 2,4-D no solo, indicando a necessidade de investigar concentrações mais elevadas do herbicida, bem como, uso de outros biomarcadores e validação com outros pesticidas.

Conclusão

Os resultados obtidos indicam que as concentrações testadas de 2,4-D, associadas ou não ao bagaço de cana-de-açúcar, não foram suficientes para induzir efeitos adversos significativos em *Eisenia andrei* durante o período experimental de 14 dias. A mortalidade observada manteve-se dentro dos limites aceitáveis, enquanto a variação da massa corporal só foi estatisticamente significativa em um único tratamento (25% BC e 75 T, na menor concentração testada), sugerindo uma resposta isolada, mas não consistente. Da mesma forma, os biomarcadores de genotoxicidade avaliados pelo teste de micronúcleo e a frequência de células binucleadas não demonstraram diferenças significativas entre os grupos experimentais. Esses achados sugerem que, nas condições e concentrações aplicadas, o 2,4-D não promoveu efeitos tóxicos relevantes sobre os parâmetros avaliados, o que inviabiliza detectar diferença na resposta do bagaço da cana. No futuro, será importante testar concentrações mais elevadas ou com a utilização de biomarcadores mais sensíveis, de modo a formular dados mais robustos sobre os potenciais impactos do 2,4-D em organismos edáficos e na qualidade ambiental do solo.

Referências

- ABDEL-GAWAD, F. K.; OSMAN, O.; BASSEM, S. M.; NASSAR, H. F.; TEMRAZ, T. A.; ELHAES, H., IBRAHIM, M. Spectroscopic analyses and genotoxicity of dioxins in the aquatic environment of Alexandria. *Marine pollution bulletin*, v. 127, p. 618-625, 2018.
- ANTONIO, C.; TEODORO, S.; ELENA, G. M.; FRANCESCO, D.; GIULIA, L. M. Earthworms multi-biomarker approach for ecotoxicological assessment of soils irrigated with reused treated wastewater. *Applied Soil Ecology*, v. 206, p. 105866, 2025.
- BOUGHATTAS, I.; HATTAB, S.; ALPHONSE, V.; LIVET, A.; GIUSTI-MILLER, S.; BOUSSETTA, H.; BANNI, M.; BOUSSERRHINE, N. Use of *Eisenia andrei* earthworms in bioremediation of contaminated area in northern Tunisia and soil microbial enzymes as bioindicator of change in heavy metal speciation. *Journal of Soils and Sediments*, v. 19, n. 1, p. 296- 309, 2019.
- BOUGHATTAS, I.; ZITOUNI, N.; HATTAB, S.; MKHININI, M.; MISSAWI, O.; HELAOUI, S.; MOKNI, M.; BOUSSERRHINE, N.; BANNI, M. Interactive effects of environmental microplastics and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) on the earthworm *Eisenia andrei*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 424, p. 127578, 2022.
- CALISI, A.; CAPPELLO, T.; ANGELELLI, M.; MAISANO, M.; ROTONDO, D.; GUALANDRIS, D.; SEMERARO, T.; DONDERO, F. Non-Destructive Biomarkers in Non-Target Species Earthworm *Lumbricus terrestris* for Assessment of Different Agrochemicals. *Environments*, v. 11, n. 12, p. 276, 2024.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.
- DA SILVA JÚNIOR, F. M. R.; ROCHA, J. A. V.; VARGAS, V. M. F. Extraction parameters in the mutagenicity assay of soil samples. *Science of the total environment*, v. 407, n. 23, p. 6017-6023, 2009.
- DEHNERT, G. K.; FREITAS, M. B.; DEQUATTRO, Z. A.; BARRY, T.; KARASOV, W. H. Effects of low, subchronic exposure of 2, 4-formulations on early life stages of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environ. Toxicol. Chemistry*, v. 37, p. 2550-2559, 2018.
- DOS SANTOS, V. C.; DE SOUZA, J. V.; TARLEY, C. R.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D. C. Adsorption of copper ions in aqueous media using in natura and chemically modified sugarcane bagasse biosorbent. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 216, n. 1, p. 351-359, 2011.
- EMBRAPA. Embrapa Agroenergy may aid Brazil-India cooperation in ethanol. Embrapa, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/noticia/49809993/embrapa-agroenergia-poderosa-para-auxiliar-cooperacao-brasil-india-na-area-de-etanol>>. Acessado em 26 de Junho 2021.
- ENGELBRECHT, I.; HORN, S. R.; GIESY, J. P.; PIETERS, R. Quantification of Pesticides and In Vitro Effects of Water-Soluble Fractions of Agricultural Soils in South Africa. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, p. 1-21, 2025.
- FIDELES, R. A.; FERREIRA, G. M. D.; TEODORO, F. S.; ADARME, O. F. H.; DA SILVA, L. H. M.; GIL, L. F.; GURGEL, L. V. A. Trimerized sugarcane bagasse: a versatile adsorbent for removal of cationic dyes from aqueous solution. Part I: Batch adsorption in a nanocomponent system. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 515, p. 172-188, 2018.
- GAN, X.; Huang, J-C.; ZHANG, M.; ZHOU, C.; HE, S.; ZHOU, W. Remediation of selenium-contaminated soil by combined use of *Eisenia fetida* earthworm and organic materials. *Journal of Hazardous Materials*, v. 405, p. 124212, 2021.
- GIVAUDAN, N.; BINET, F.; LE BOT, B.; WIEGAND, C. Earthworm tolerance to residual agricultural pesticide contamination: field and experimental assessment of detoxification capabilities. *Environmental Pollution*, v. 192, p. 9-18, 2014.

- HATTAB, S.; BOUGHATTAS, I.; CAPPELLO, T.; ZITOUNI, N.; TOUIL, G.; ROMDHANI, I.; LIVET, A.; BOUSSERRHINE, N.; BANNI, M. Heavy metal accumulation, biochemical and transcriptomic biomarkers in earthworms *Eisenia andrei* exposed to industrially contaminated soils from south-eastern Tunisia (Gabes Governorate). *Science of The Total Environment*, v. 887, p. 163950, 2023.
- HENDRIKSEN, N. B. Gut load and food-retention time in the earthworms *Lumbricus festivus* and *L. castaneus*: a field study. *Biology and Fertility of Soils*, v. 11, n. 3, p. 170-173, 1991.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Perfis Ambientais de Agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/perfis-ambientais/perfis-ambientais-de-agrotoxicos>. Acesso em 16 de Novembro de 2024.
- ISLAM, F.; WANG, J.; FAROOQ, M. A.; KHAN, M. S.; XU, L.; ZHU, J.; ZHAO, M.; MUÑOS, S.; LI, Q. X.; ZHOU, W. Potential impact of the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environment international*, v. 111, p. 332-351, 2018.
- KEARNS, J. P.; WELLBORN, L. S.; SUMMERS, R. S.; KNAPPE, D. R. U. 2, 4-D adsorption to biochars: Effect of preparation conditions on equilibrium adsorption capacity and comparison with commercial activated carbon literature data. *Water Research*, v. 62, p. 20-28, 2014.
- LAMMERTYN, S.; MAGNI, F. V.; DURÁN, A.; REPETTI, M. R., GODOY, J. L.; ZALAZAR, C. S. Earthworm injury test for in-situ biomonitoring of pesticides in biobeds. *Chemosphere*, v. 363, p. 142923, 2024.
- LIWARSKA-BIZUKOJC, E.; BERNAT, P.; JASIŃSKA, A. Effect of bio-based microplastics on earthworms *Eisenia andrei*. *Science of the Total Environment*, v. 898, p. 165423, 2023.
- MANERIKAR, R. S.; APTE, A. A.; GHOLE, V. S. In vitro and in vivo genotoxicity assessment of Cr (VI) using comet assay in earthworm coelomocytes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 25, n. 1, p. 63-68, 2008.
- MILANI, P. A.; DEBS, K. B.; LABUTO, G.; CARRILHO, E. N. V. M. Agricultural solid waste for sorption of metal ions: part I - characterization and use of lettuce roots and sugarcane bagasse for sorption of Cu (II), Fe (II), Zn (II) and Mn (II) from

aqueous medium. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 36, p. 35895-35905, 2018.

MOHAMMADNIA, M.; HEYDARI, R.; SOHRABI, M. R. Determination of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid in food and water samples using a modified graphene oxide sorbent and high-performance liquid chromatography. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, v. 55, n. 4, p. 293-300, 2020.

MORGAN, M. K.; SHELDON, L. S.; THOMAS, K. W.; EGEGHY, P. P.; CROGHAN, C. W.; JONES, P. A.; CHUANG, J. C.; WILSON, N. K. Adult and children's exposure to 2, 4-D from multiple sources and pathways. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, v. 18, n. 5, p. 486-494, 2008.

NNEJI, L. M.; SOMADE, O. T.; ADEYI, A. O. Earthworm-assisted bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils from motorcar mechanic workshops in Ibadan, Oyo State, southwestern Nigeria. *Bioremediation Journal*, v. 20, n. 4, p. 263-285, 2016.

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

SARKER, T. C.; AZAM, S. M. G. G.; EL-GAWAD, A. M. A.; GAGLIONE, S. A.; BONANOMI, G. Sugarcane bagasse: a potential low-cost biosorbent for removal of hazardous materials. *Clean Technologies and Environmental Policy*, v. 19, n. 10, p. 2343-2362, 2017.

SILVA, H. E.; BENVINDO-SOUZA, M.; E SILVA, D. D. M.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Genotoxic and mutagenic evaluation in *Eisenia foetida* annelids exposed to iron ore tailings from the region of Brumadinho, MG, Brazil. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 102, p. 104247, 2023.

SINGH, V.; SINGH, K. Toxic effect of herbicide 2, 4-D on the earthworm *Eutwyphoeus waltoni* Michaelsen. *Environmental Processes*, v. 2, p. 251-260, 2015.

SOLIMAN, M.; WAGEED, M.; ALSHERBENY, S.; SAFTY, S., SU, Y.; ALI, A. M.; SAYED, R. Sugarcane bagasse as low-cost solid-phase extraction sorbent for pesticides in water. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 104, n. 18, p. 6324-6338, 2024.

SFORZINI, S.; BOERI, M.; DAGNINO, A.; OLIVERI, L.; BOLOGNESI, C.; VIAREMGO, A. Genotoxicity assessment in *Eisenia andrei* coelomocytes: a study of the induction of DNA damage and micronuclei in earthworms exposed to B [a] P-and TCDD-spiked soils. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 746, n. 1, p. 35-41, 2012.

THORAT, D. S.; SINGH, S.; USHIR, Y. V.; TIWARI, K.; KOKATE, S.; NAGIME, P. V. Biomaterials-based biofilters from sugarcane waste: an eco-friendly way to clean water and manage nutrients. *Discover Materials*, v. 5, n. 1, p. 56, 2025.

VULLO, A. I.; VULLO, D. L.; BASACK, S. B. Assessment of intensive periurban agriculture soil quality applying biomarkers in earthworms. *Journal of Environmental Management*, v. 344, p. 118535, 2023.

WU, S.; WU, E.; QIU, L.; ZHONG, W.; CHEN, J. Effects of phenanthrene on the mortality, growth, and anti-oxidant system of earthworms (*Eisenia fetida*) under laboratory conditions. *Chemosphere*, v. 83, n. 4, p. 429-434, 2011.

YADAV, R.; KUMAR, R.; GUPTA, R. K.; KAUR, T.; KOUR, A.; KAUR, S.; RAJPUT, A. Heavy metal toxicity in earthworms and its environmental implications: A review. *Environmental Advances*, v. 12, p. 100374, 2023. YE, X.; XIONG, K.; LIU, J. Comparative toxicity and bioaccumulation of fenvalerate and esfenvalerate to earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 310, p. 82-88, 2016.