

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – EM CIÊNCIA DO SOLO**

**VANESSA MIGNON DALLA ROSA**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ANTI-HELMÍNTICOS E POTENCIAL USO  
DE FEZES DE CÃES EM SOLOS URBANOS**

**LAGES  
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Dalla Rosa, Vanessa Mignon  
Avaliação ecotoxicológica de anti-helmínticos e potencial  
uso de fezes de cães em solos urbanos / Vanessa Mignon  
Dalla Rosa. -- 2023.  
118 p.

Orientador: Dilmar Baretta  
Coorientador: Júlia Corá Segat  
Coorientador: Aleksandro Schafer da Silva  
Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2023.

1. Adubação orgânica. 2. Curva de Distribuição de  
Sensibilidade das Espécies. 3. Ecotoxicologia terrestre. 4.  
Medicamento veterinário. 5. Vermicompostagem. I. Baretta,  
Dilmar . II. Segat, Júlia Corá. Silva, Aleksandro Schafer da .  
III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de  
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Ciência do Solo. IV. Título.

**VANESSA MIGNON DALLA ROSA**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ANTI-HELMÍNTICOS E POTENCIAL USO  
DE FEZES DE CÃES EM SOLOS URBANOS**

Tese apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de doutora em  
Ciência do Solo pelo Programa de Pós-  
Graduação em Ciência do Solo – CAV, da  
Universidade do Estado de Santa Catarina  
– Udesc.

Orientador: Prof. Dr. Dilmar Baretta

**LAGES**

**2023**

**VANESSA MIGNON DALLA ROSA**

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ANTI-HELMÍNTICOS E POTENCIAL USO  
DE FEZES DE CÃES EM SOLOS URBANOS**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciência do Solo pelo Programa de Pós-Graduação de Ciência do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, da Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc.

Orientador: Prof. Dr. Dilmar Baretta

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Dilmar Baretta

Universidade do Estado de Santa Catarina

Membros:

Prof.<sup>a</sup> Dra. Mari Lucia Campos

Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof.<sup>a</sup> Dra. Letícia Sequinatto

Universidade do Estado de Santa Catarina

Dra. Livia Pitombeira de Figueirêdo

Universidade do Federal de Goiás

Prof.<sup>a</sup> Dr. Paulo Roger Lopes Alves

Universidade Federal da Fronteira Sul

Lages, 16 de fevereiro de 2023.

*Dedico,*

A minha querida família que me apoia sempre! A minha Mamma Maria Donata, minha inspiração de mulher!

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus amados pais e irmãos que sempre me proporcionaram uma vida cheia de felicidade, me permitiram fazer as minhas escolhas, me dão apoio, conselhos, paciência e estiveram comigo sempre! Enfim, por serem os melhores do MUNDO! Mamma Donata, tu sei per sempre la mia Donna Meraviglia! Mi dicevi sempre “Vane, devi studiare, dopo pensi in'altro!” Ce l'ho fatta Mamma!!!! Ti voglio um mondo di bene Ma!

Ao meu Professor e orientador Dr. Dilmar Baretta, por ter me mostrado o mundo científico e a Ecotoxicologia, por ser um profissional e uma pessoa exemplar. Agradeço a oportunidade e a paciência de ser sua orientada. Paciência essa que a cada conversa que tínhamos, se iniciava em “desculpa Professor” e ele respondia “o que passou passou, agora é daqui pra frente”. Apesar de uma agenda lotada, sempre esteve disponível para me ajudar, sempre entendeu os meus problemas e sempre me apoiou e defendeu no que fosse preciso. Difícil escolher as palavras certas para agradecer o senhor Professor! Então, MUITO OBRIGADA!

A UDESC por proporcionar ensino gratuito e de qualidade. A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo – CAV/UDESC pelos ensinamentos. Agradeço em especial a Professora Mari Lucia Campos, que nos ajudou muito nos momentos de relapso em relação às burocracias e ao carinho e cuidado que tem com os alunos. Te admiro demais!!! Uma super mulher!

Aos técnicos e servidores da UDESC do Centro de Ciências Agroveterinárias e UDESC Oeste, por todo o auxílio prestado e por serem facilitadores da trajetória acadêmica. Em especial a Melissa, sempre ajudando e facilitando a vida dos discentes! A FAPESC pela concessão da bolsa de estudos de Doutorado.

A UDESC Oeste por disponibilizar os laboratórios e os cães da Fazenda experimental. Agradeço a todos os Professores e técnicos que auxiliaram durante o período dos experimentos. A querida Dra. Julia Corá Segat, pelo auxílio nas tomadas de decisões durante o período de desenvolvimento e execução do projeto, além do carinho e amizade de anos. Ao nosso (porque ajuda Deus e o mundo!) sempre atencioso e disponível Dr. Luís Carlos Luñes de Oliveira Filho, pela ajuda e contribuições, pela paciência, insistência e apoio no esclarecimento das dúvidas que surgiram ao longo do trabalho, MUITO OBRIGADA!

Agradeço muito a Prof<sup>a</sup>. Carolina Riviera Duarte Maluche Baretta, que cedeu seu laboratório da UnoChapecó para desmontar experimentos, além de conselhos sempre carinhosos e cheios de preocupação, te admiro muito Profe, MUITO OBRIGADA! Agradeço a UFRJ, em especial a Mônica Viana pela parceria ao realizar as análises químicas.

A todos os colegas do Laboratório de Ecologia do Solo, Rafinha, Aline, Dani Comadre, Doug, Elston, Eduardo, Dani Tomazeli, Felipe (Xilipe), Gabizinha, Gil, Julinha, Letícia, Mari, May, Cami Casaril, Pâm, Pri, Thiago e todos que passaram pelo Laboratório, pela companhia, conversas, risadas, fins de semana e feriados no laboratório e fora dele, conselhos e principalmente pela parceria! Por ser uma equipe unida e sempre disposta a ajudar uns aos outros, tenho orgulho e prazer em fazer parte dessa equipe. Meu muito obrigada!

Aos queridos maravilhosos bolsistas e colegas do Melhor Laboratório do Sul do Mundo! (Né Tchumis!) O Laboratório de Solos e Sustentabilidade do departamento de Zootecnia da Udesc Oeste. Caros, sem vocês nada disso seria possível! Ícaro, meu braço direito (e esquerdo quando estava quebrado, rs), sempre me apoiando e estando presente, meu muito obrigada! Caros Pércio, Tchumis, Karina, Edivan, Flávia, Brendinha Procknow, Lari Bourckhardt, Felipe Traninn, Maisa, Angelo, Charline, Amanda, Thayná Dias Johann, Ana Bagolin, Thais Bet e a minha querida e amada prima Viviane. Vocês foram essenciais! Obrigada por cada minuto de ajuda no laboratório e nas inúmeras idas à Fazenda.

Agradeço ao Prof. Aleksandro pela orientação, pelos alunos cedidos que me ensinaram e auxiliaram com os cães e análises de laboratório. A Gabi Campigotto e a Gabizinha em especial, por irem tantas vezes na fazenda comigo, deixando suas tarefas, dissertações de lado, me ajudando e ensinando. Muito obrigada!

Vários MUITO OBRIGADA aos meus queridos e queridas fornecedores de matéria prima (fezes caninas) para esse projeto! Em meio a uma pandemia, todos me receberam em suas casas e na Clínica, Hospital Veterinário Trupe da Kuki, sempre com sorriso no rosto e o baldinho cheio! Família Reffatti, vocês são demais! A melhor frase a respeito desse doutorado ouvi da Dona Maria Emília Reffatti, "Vanessa, mas então tu vai ser uma doutora de merda mesmo, né!". Amo vocês! As minhas amigas queridas Moema, Lurdinha e Bela, muito obrigada dos cafés semanais e risadas sem fim, vocês são umas lindas! Morgana e Carolina Vieiro, muito obrigada pela

receptividade e apoio a nossa pesquisa, além das recepções com aqueles cães lindos e fofos!

Quero agradecer em especial aos amigos que estavam o tempo todo fazendo parte dessa caminhada, por grandes aprendizados, por estarem presentes em momentos difíceis e aos momentos de descontração. Rafinha da minha vida! Dani Comadre, Márcio (de uma sensibilidade incrível!), Ana Maccari, Elston, Ana Lova, Pri, Doug, Pam, Marida Dai, Max, Lari/Lara, Bru vocês fizeram essa experiência ter um sentido todo especial e quero ter vocês para sempre na minha vida, amo vocês! Heloísa Alves Pacheco, você faz uma falta imensa, te amo eternamente! Bru Paris, muito obrigada por me atender sempre e tirar várias dúvidas, amo tu!

A “Família 22”, Camila Guerim Pieniz, Júlia Moraes e Cleide Beatriz Bourscheid. Sinto saudades sempre dessa nossa Família 22 de Lages! Obrigada por cada chamada de vídeo! Nunca foi fácil unir América do Norte, Oceania e Sul do Brasil, mas sempre estivemos uma apoiando a outra, independente da distância, sem mais, AMO VOCÊS!!!

Sou extremamente grata a TODOS que de alguma forma fizeram parte dessa fase tão importante e desafiadora! Sou grata por cada momento, cada sim e cada não recebido ao longo da jornada. MUITO OBRIGADA por ter tanto a agradecer e ter tantas pessoas que surgiram e permaneceram no meu caminho nesta jornada! Obrigada a vida!



*"I've got a right to be wrong. My mistakes will make me strong. Eu tenho o direito de estar errada. Meus erros me farão forte".*

*Joss Stone*

## RESUMO

A presença de resíduos de medicamentos veterinários nas excreções pode causar impacto negativo em organismos não-alvo. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos ecotoxicológicos causados pela presença de anti-helmínticos e seus resíduos nas fezes de cães sobre organismos edáficos por meio de ensaios ecotoxicológicos padronizados, bem como, o potencial uso do vermicomposto oriundo de fezes canina como fertilizante orgânico para hortas urbanas. Para isto, foram divididas as avaliações em três Etapas: Etapa 1) avaliação ecotoxicológica dos efeitos de anti-helmínticos (Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação entre eles (PIR+PZT)), aplicados diretamente no solo, sobre invertebrados do solo e plantas; Etapa 2) avaliação ecotoxicológica dos efeitos de diferentes compostos orgânicos oriundos de fezes de cães da raça Beagle, aplicados diretamente no solo, sobre invertebrados do solo e plantas; e a Etapa 3) consistiu na avaliação ecotoxicológica dos efeitos do vermicomposto orgânico oriundo de fezes caninas, aplicados diretamente no solo, sobre invertebrados do solo e plantas, assim como foi determinado seu o potencial uso como alternativa de fertilizante orgânico para uso em ambientes urbanos. Para determinar a toxicidade foram avaliados os parâmetros crônicos de grupos de organismos edáficos bioindicadores de qualidade do solo e testes de germinação e crescimento de plantas (mono e dicotiledôneas) utilizando metodologias padronizadas ISO/ABNT ou adaptadas. Os testes foram conduzidos em Solo Artificial Tropical (SAT). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA *One-way*) e as médias comparadas pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). Os valores de  $EC_s$  foram determinados por análise de regressão não linear. A partir dos valores de  $EC_s$  foram construídas as Curvas de Distribuição de Sensibilidade das Espécies (SSD) e obtidos os valores de  $HC_s$  (apenas possível na Etapa 1). Foram realizadas análises no vermicomposto oriundo de fezes caninas das concentrações de agentes fitotóxicos patogênicos e metais pesados tóxicos. Os resultados obtidos a exposição dos invertebrados do solo e plantas aos anti-helmínticos PIR e PTZ em apresentaram efeitos negativos significativos para as nove espécies estudadas. Os efeitos foram distintos para as espécies perante a exposição ao PIR, ao PZT ou a interação de ambos os ingredientes ativos; e na presença ou ausência nas fezes caninas, assim como ter ou não passado pelo processo de

compostagem. De maneira geral, a presença dos anti-helmínticos PIR e PZT no solo, ocasionou efeitos negativos aos organismos testados (Etapas 1 e 2). O processo de vermicompostagem reduziu a quantidade dos medicamentos nas fezes de Beagle e o processo de vermicompostagem dos compostos orgânicos oriundos de fezes de Beagle, de modo geral, foi mais tóxico aos organismos edáficos perante as fezes de Beagle fresca (Etapa 2). Na Etapa 3 foi verificado que o vermicomposto oriundo de fezes de cães afetou negativamente os invertebrados do solo e as plantas, exceto a espécie *E. dudichi*. O vermicomposto oriundo de fezes canina demonstrou ter potencial para uso como fertilizante orgânico para jardins urbanos.

**Palavras-chave:** Adubação orgânica; Curva de Distribuição da Sensibilidade das Espécies; Ecotoxicologia terrestre; Medicamento veterinário; Vermicompostagem.

## ABSTRACT

The presence of residues of veterinary drugs in excreta can have a negative impact on non-target organisms. This study aimed to evaluate the ecotoxicological effects caused by the presence of anthelmintics and their residues in dog feces on edaphic organisms through standardized ecotoxicological tests, as well as the potential use of vermicompost from canine feces as an organic fertilizer for urban gardens. For this, the evaluations were divided into three steps: Step 1) ecotoxicological evaluation of the effects of anthelmintics (Pyrantel Pamoate (PIR), Praziquantel (PZT) and the interaction between them (PIR+PZT)), applied directly to the soil, on soil invertebrates and plants; Step 2) ecotoxicological evaluation of the effects of different organic compounds from Beagle dog feces, applied directly to the soil, on soil invertebrates and plants; and Step 3) consisted of the ecotoxicological assessment of the effects of organic vermicompost from canine feces, applied directly to the soil, on soil invertebrates and plants, as well as determining its potential use as an alternative organic fertilizer for use in urban environments. To determine toxicity, the chronic parameters of groups of edaphic organisms that are bioindicators of soil quality and plant germination and growth tests (mono and dicotyledonous) were evaluated using standardized ISO/ABNT or adapted methodologies. Tests were conducted on Tropical Artificial Soil (SAT). The data obtained were subjected to analysis of variance (ANOVA One-way) and means compared by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ). EC values were determined by non-linear regression analysis. Species Sensitivity Distribution Curves (SSD) were constructed from EC values and HC values were obtained (only possible in Step 1). Analyzes were carried out on vermicompost from canine feces for concentrations of pathogenic phytotoxic agents and toxic heavy metals. The results obtained from exposure of soil invertebrates and plants to PIR and PTZ anthelmintics showed significant negative effects for the nine studied species. The effects were different for the species when exposed to PIR, PZT or the interaction of both active ingredients; and in the presence or absence in canine feces, as well as whether or not it has gone through the composting process. In general, the presence of PIR and PZT anthelmintics in the soil caused negative effects on the tested organisms (Steps 1 and 2). The vermicomposting process reduced the amount of drugs in Beagle feces and the vermicomposting process of organic compounds from Beagle feces, in general, was more toxic to edaphic organisms compared to fresh Beagle feces (Step 2). In Step

3, it was verified that the vermicompost from dog feces negatively affected soil invertebrates and plants, except for the species *E. dudichi*. The vermicompost from canine feces has shown potential for use as an organic fertilizer for urban gardens.

**Keywords:** Organic fertilization; Species Sensitivity Distribution Curve; Terrestrial ecotoxicology; Veterinary medicine; Vermicomposting.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Esquema conceitual da Tese em três etapas. ....41
- Figura 2 – Esquema utilizado para os testes com plantas. ....49
- Figura 3 – Imagem ilustrativa do reciclador biológico de fezes caninas e seus compartimentos. 1 – Abertura para inserção das fezes; 2 – Local de captura de insetos; 3 – Orifício com luvas para revolvimento; 4 – Bomba injetora de ar; 5 – Compartimento para compostagem; 6 – Gaveta para vermicompostagem; 7 – Luvas; 8 – Fundo coletor de chorume preenchido com serragem; 9 – Cesto pleno; 10 – Cesto vazado; 11 – Fezes recém inseridas; 12 – Material pronto para vermicompostagem; 13 – Minhocas. ....51
- Figura 4 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de minhocas quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados da espécie *E. andrei* e os gráficos B, D e F a espécie *P. excavatus*. (⊥) desvio-padrão (n = 5). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....65
- Figura 5 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de enquitreídeos quando expostos a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados da espécie *E. crypticus* e os gráficos B, D e F a espécie *E. dudichi*. (⊥) desvio-padrão (n = 5). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....67
- Figura 6 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de colêmbolos quando expostos a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados da espécie *F. candida* e os gráficos B, D e F a espécie *P. minuta*. (⊥) desvio-padrão (n = 5). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de

- juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....69
- Figura 7 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *Avena sativa* quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D e F a inibição do crescimento de raiz. (T) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença da biomassa e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....71
- Figura 8 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *Phaseolus vulgaris* quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D e F a inibição do crescimento de raiz. (T) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença da biomassa e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....72
- Figura 9 – Número de plantas germinadas (Germinação, linhas) e crescimento de raiz (barras) de *Dhiantus chinensis* quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D e F a inibição do crescimento de raiz. (T) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença do número de plantas germinadas e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....73
- Figura 10 - Curvas de Distribuição da Sensibilidade de Espécies para os anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação deles (PIR+PZT) em um Solo Artificial Tropical com base nos valores de EC (concentração efetiva que causou redução em 10% ou 50% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento

de raiz para as plantas) para diferentes espécies de invertebrados do solo e plantas. O tracejado representa o HC<sub>5</sub>: a concentração de perigo para 5% (eixo y=0,05) das espécies avaliadas e HC<sub>50</sub>: a concentração de perigo para 50% (eixo y=0,5) das espécies avaliadas. Valores expressos em mg de ingrediente ativo por quilograma de solo seco (mg kg<sup>-1</sup>). .....78

Figura 11 - Sobrevivência (linhas) e diferença da biomassa (barras) de minhocas quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (PIR+PZT); em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados da espécie *E. andrei* e os gráficos B, D, F e H a espécie *P. excavatus*. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco (g kg<sup>-1</sup>). (⊥) desvio-padrão (n = 4). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para média na diferença da biomassa de adultos (p < 0,05) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....84

Figura 12 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de enquitreídeos quando expostos a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados da espécie *E. crypticus* e os gráficos B, D, F e H a espécie *E. dudichi*. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco (g kg<sup>-1</sup>). (⊥) desvio-padrão (n = 4). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis (p < 0,05) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....86

Figura 13 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de colêmbolos da espécie *F. candida* quando expostos a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (A); Fezes de Beagle Vermicompostada (C); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (B); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de



Pirantel+Praziquantel (D); em Solo Artificial Tropical. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....87

Figura 14 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *Avena sativa* quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D, F e H a inibição do crescimento de raiz. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio do comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....89

Figura 15 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *P. vulgaris* quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D, F e H a inibição do crescimento de raiz. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença da biomassa e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....90

Figura 16 - Germinação (linhas) e crescimento de raiz (barras) de *D. chinensis* quando expostas a doses crescentes tipos de materiais orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel;

Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados de germinação e os gráficos B, D, F e H a inibição do crescimento de raiz. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\tau$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença do número de plantas germinadas e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett. ....91

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Especificações dos teores mínimos de nutrientes e outras garantias e exigências necessárias para os fertilizantes orgânicos simples da IN SDA 61/2020.....	38
Quadro 2. Limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos e condicionadores de solo presentes no Anexo V da IN SDA nº 7.....	39
Quadro 3 - Características físico-químicas e ambientais do Pamoato de Pirantel (PIR) e o Praziquantel (PZT). Fonte: United States Environmental Protection Agency (EPA) ( <a href="https://www.epa.gov/chemical-research/comptox-chemicals-dashboard">https://www.epa.gov/chemical-research/comptox-chemicals-dashboard</a> ).....	53

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos do Solo Artificial Tropical (SAT), utilizado para os ensaios ecotoxicológicos. ....43
- Tabela 2 – Protocolos utilizados para os ensaios ecotoxicológicos descritas por espécie. ....44
- Tabela 3. Quantidade de comprimidos dos anti-helmínticos por quilograma (kg) de solo seco, especificados em mg dos ingredientes ativos dos anti-helmínticos utilizadas como dose referência para os testes ecotoxicológicos com os invertebrados do solo e plantas .....54
- Tabela 4 - Doses de comprimido dos anti-helmínticos por quilograma (kg) de solo seco utilizadas nos testes ecotoxicológicos especificada para cada espécie. ....55
- Tabela 5 - Parâmetros físico-químicos dos compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBVPP) .....58
- Tabela 6 – Concentrações nominais dos compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBVPP), em  $\text{g kg}^{-1}$  de Solo Artificial Tropical utilizadas nos testes de toxicidade crônica com os organismos terrestres.....59
- Tabela 7 - Concentrações nominais do composto orgânico oriundo de Fezes de canina Vermicompostada (FCV), em  $\text{g kg}^{-1}$  de Solo Artificial Tropical (SAT) utilizadas nos testes de toxicidade crônica com os organismos terrestres e plantas. Baseada na recomendação de fertilizante para *D. chinensis*, como dose 1. ....61
- Tabela 8 - Valores de concentração efetiva  $\text{EC}_{10}$  (concentração efetiva que causou redução em 10% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a solo artificial contaminado com doses crescentes dos anti-helmínticos

Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação deles (PIR+PZT). Valores expressos em mg de ingrediente ativo por quilograma de solo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).....	75
Tabela 9 - Valores de concentração efetiva $\text{EC}_{50}$ (concentração efetiva que causou redução em 50% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a solo artificial contaminado com doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação deles (PIR+PZT). Valores expressos em mg de ingrediente ativo por quilograma de solo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).....	76
Tabela 10 - Concentrações de perigo (HC, com respectivos intervalos de confiança de 95%) expressas em $\text{mg kg}^{-1}$ de ingrediente ativo no solo seco para um nível de proteção de 95% e 50% com base nos valores de $\text{EC}_{10}$ ( $\text{HC}_5$ e $\text{HC}_{50}$ ) e $\text{EC}_{50}$ ( $\text{HC}_5$ e $\text{HC}_{50}$ ) estimados através das curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSD) geradas a partir diferentes espécies de invertebrados do solo e plantas. ....	79
Tabela 11 - Valores de concentração efetiva $\text{EC}_{10}$ e $\text{EC}_{50}$ (concentração efetiva que causou redução em 10% e 50% na biomassa de minhocas, reprodução de enquitreídeos e colêmbolos e, de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBVPP); em Solo Artificial Tropical. ....	93
Tabela 12 - Alteração dos ingredientes ativos do medicamento ao longo do processo de reciclagem das fezes de Beagle em relação ao tempo. Local das fezes no momento da coleta (Fase), dose real encontrada nas fezes controle e nas fezes de animais tratados com Pamoato de Pirantel (PIR) + Praziquantel (PZT).....	94
Tabela 13 - Valores de concentração efetiva (EC - concentração efetiva que causou redução em 10% ou 50% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a doses crescentes de fezes canina vermicompostada (FCV). ....	96

Tabela 14- Valores dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do vermicomposto proveniente de fezes canina e valores balizadores da Instrução Normativa nº 61, de 2020 e da Instrução Normativa SDA nº 7, de 2016, do MAPA. Máximo (máx). Mínimo (mín). Instrução Normativa (IN). Atende a IN (c). Não atende a IN (ϕ). Número mais provável (NMP). Sólidos totais (ST). Matéria Seca (MS).....98

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>24</b>
1.1	HIPÓTESES.....	26
1.2	OBJETIVO GERAL.....	26
1.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>28</b>
2.1	HOMEM, CÃES E O AMBIENTE URBANO.....	28
2.2	MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS.....	30
2.3	ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE.....	33
2.4	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PERTINENTE AO USO/PRODUÇÃO DE FERTILIZANTES ORGÂNICOS.....	37
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
3.1	SOLO.....	42
3.2	ORGANISMOS-TESTE E CONDIÇÕES DE ENSAIO.....	42
<b>3.2.1</b>	<b>Testes ecotoxicológicos de reprodução com minhocas.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Testes de reprodução com enquitreídeos.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Testes reprodução com colêmbolos.....</b>	<b>47</b>
<b>3.2.4</b>	<b>Testes de crescimento de plantas.....</b>	<b>48</b>
3.3	RECICLADOR BIOLÓGICO DE FEZES CANINAS.....	50
3.4	CARACTERIZAÇÃO DOS CONTAMINANTES.....	52
<b>3.4.1</b>	<b>Etapa 1.....</b>	<b>52</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Etapa 2.....</b>	<b>55</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Etapa 3.....</b>	<b>59</b>
3.5	ANÁLISE DOS DADOS.....	62
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>63</b>
4.1	ETAPA 1.....	63
4.2	ETAPA 2.....	81
4.3	ETAPA 3.....	95
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>100</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>101</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>116</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos, os animais de companhia vêm ocupando maiores espaços nos lares brasileiros, e se consolidando um como um mercado importante na economia nacional. Com a população estimada de 214 milhões de pessoas no ano de 2019, cerca de 46,1% dos lares brasileiros tinham ao menos um cão como animal de estimação (IBGE, 2019). Do ano de 2020 para 2021, houve um aumento de 3,9% no número de cães em lares brasileiros (ABINPET, 2022). Fato que reflete na economia nacional, pois aumentam os investimentos em produtos que se referem aos animais de companhia. O faturamento da indústria nacional foi estimado em 4,6 trilhões no ano de 2020 (IBGE, 2020), e a colaboração da indústria animais de estimação no mercado brasileiro foi de R\$ 20,3 bilhões (ABINPET, 2022).

Em uma pesquisa realizada pelo Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal, apontou que 31% dos cães presentes nos lares, foram adquiridos durante a pandemia do coronavírus (SINDAN, 2021). Nagasawa *et al.*, (2015) fizeram um estudo sobre a existência do elo entre homens e cães, onde se observou um aumento na produção de ocitocina entre as espécies por meio do envolvimento comum de comunicação e de apego social. Embora haja esse convívio direto dos cães com o homem, eles podem carregar muitos parasitas que representam riscos à saúde humana, como no caso das zoonoses parasitárias, disseminadas principalmente por animais de rua (OTRANTO *et al.*, 2017).

Além disso, há um maior interesse por cidades mais sustentáveis, sendo apontado um aumento no número de espaços verdes urbanos, sejam parques ou jardins e hortas urbanas. Medeiros; Silva; Ataíde (2015) descrevem a prática das hortas urbanas como forma de poder objetivar a segurança alimentar, a geração de renda, a inclusão social e as interações socioambientais, além de contribuir para o aumento dos espaços verdes urbanos e periurbanos, utilizando como novas formas de uso e apropriação de terrenos públicos ou privados.

Em contrapartida, diversos trabalhos foram publicados nos últimos anos relatando a contaminação biológica de hortaliças por fezes de cães



(HERNANDES *et al.*, 2018; MARTINEZI SCHEMES; MARTINEZI SCHMES; DALPICOLLI RODRIGUES, 2015; OTRANTO *et al.*, 2017; TAKAYANAGUI *et al.*, 2001), podendo ser proveniente da utilização de adubo que sofreu processo de estabilização não adequado (e.g. a compostagem), permitindo que ovos/larvas de helmintos estivessem viáveis ao fim do processo (HECK *et al.*, 2013). A fim de evitar a disseminação de parasitas zoonóticos em praças, jardins e hortas comunitárias, o uso de diversos antiparasitários é frequente entre os donos dos animais de estimação. Desta forma, os antiparasitários podem ser transferidos ao solo em contato com os dejetos, sendo uma das principais vias de disseminação de medicamentos no meio ambiente (COOPER *et al.*, 2015; KACZALA; BLUM, 2016; TESTA *et al.*, 2020; ZORTÉA *et al.*, 2021; ZORTÉA *et al.*, 2017).

Esses compostos podem persistir no ambiente, causando impacto direto sobre os organismos não-alvo que são responsáveis pela decomposição do material orgânico. Porém, ainda é reduzido o número de estudos referentes ao potencial impacto que os medicamentos veterinários causam nos organismos do solo, ressaltando a necessidade da abordagem deste assunto em pesquisas (BOLMAN, 2022; DE SOUZA; GUIMARÃES, 2022; GOODENOUGH; WEBB; YARDLEY, 2019; RAKONJAC *et al.*, 2022; RÖMBKE, SCHMELZ; PÉLOSI, 2017; ZORTÉA *et al.*, 2017, 2018).

O presente trabalho tem o propósito de auxiliar no conhecimento dos efeitos de resíduos de medicamentos utilizados no controle de endoparasitos de cães, sobre um conjunto de organismos essenciais para a manutenção do meio ambiente edáfico. Apresentando uma base de dados, os quais podem vir a ser utilizados como ponto de partida para criação de novas técnicas de manejo e direcionamento de dejetos de animais de estimação, visando à proteção da qualidade dos solos. Os testes ecotoxicológicos servem como parte inicial de uma avaliação de perigo ambiental dos compostos avaliados, de forma que proteja a biodiversidade e os atributos funcionais dos ecossistemas naturais e urbanos. Além de, orientar práticas de manejo sustentável sem comprometer a saúde humana.

Outro ponto a ser observado é o fato que a maioria dos trabalhos sobre ecotoxicologia terrestre disponíveis na literatura abrangem apenas uma ou duas

espécies exposta a um mesmo contaminante, além da carência de estudos com uso de dejetos de animais. Para este último cenário, a respeito de fezes caninas não existe recomendação nenhuma que norteie o uso como fertilizante de solo. Portanto, é um desafio estabelecer a concentração capaz de ser utilizada e que proteja a biodiversidade e os atributos funcionais dos ecossistemas naturais. Logo, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos ecotoxicológicos em organismos edáficos causados pela presença de medicamentos veterinários que agem como anti-helmínticos nos dejetos de cães, bem como, o potencial do uso de fezes de cães como fertilizante orgânico em solos urbanos.

## 1.1 HIPÓTESES

1. A presença de anti-helmínticos no solo testado afeta negativamente a sobrevivência, a reprodução de invertebrados do solo (i.e., minhocas, enquitreídeos, colêmbolos), a germinação e o crescimento de plantas (i.e., aveia, feijão e cravina);
2. A presença de compostos orgânicos oriundos de fezes de cães aplicado no solo testado afeta negativamente a sobrevivência, a reprodução/biomassa de invertebrados do solo, e a germinação e o crescimento de plantas;
3. O vermicomposto oriundo de fezes de cães tem aplicação como fertilizante para solos urbanos.

## 1.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos ecotoxicológicos causados pela presença de anti-helmínticos e seus resíduos nas fezes de cães sobre organismos edáficos com base em ensaios ecotoxicológicos padronizados, bem como, o potencial uso do

vermicomposto oriundo de fezes de cães como fertilizante orgânico para solos urbanos.

### 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a toxicidade de doses crescentes de anti-helmínticos aplicadas diretamente em solo em Solo Artificial Tropical (SAT) sobre sobrevivência, reprodução de invertebrados do solo (i.e., minhocas, enquitreídeos, colêmbolos), germinação e o crescimento de plantas (i.e., aveia, feijão e cravina);
2. Avaliar se o tratamento de vermicompostagem das fezes de cães altera a composição química dos compostos orgânicos na presença dos medicamentos e sua toxicidade para os organismos edáficos;
3. Avaliar o potencial do uso do vermicomposto oriundo de fezes de cães como fertilizante para solos urbanos, determinando os efeitos da utilização dessa matriz orgânica sobre os parâmetros biológicos do solo e a legislação pertinente.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 HOMEM, CÃES E O AMBIENTE URBANO

A população nacional estimada em meados de outubro 2022 foi de aproximadamente 215 milhões (IBGE, 2022), e a população de cães em 58,1 milhões no (ABINPET, 2022). Isto é, uma proporção de 3,8 pessoas para cada cão domiciliado no Brasil. Ao se comparar com a proporção de gatos (9:1 pessoa: gato), pode se dizer que o brasileiro tem preferência por cães (JUNQUEIRA; GALERA, 2019). As características da população de cães se diferem de região para região e estão relacionadas aos aspectos socioeconômicos de cada grupo populacional de uma mesma cidade (CANATTO et al., 2012; DE OLIVEIRA-NETO et al., 2018).

Os tutores de animais de estimação são agentes importantes na caracterização da população dos animais presentes no ambiente, e servem de base da estruturação adequada de programas de controle populacional e de zoonoses transmitidas por cães (CANATTO et al., 2012). A exemplo disso, Santa Catarina que possui uma população de 2,7 milhões de cães, estima-se que apenas 59,1% são vacinados (JUNQUEIRA; GALERA, 2019). Embora o convívio direto dos cães com o homem seja benéfico, sem os devidos cuidados os cães podem carrear muitos parasitas e representam riscos à saúde humana, como no caso das zoonoses parasitárias, disseminadas principalmente por animais de rua (OTRANTO et al., 2017).

Quando perguntaram aos donos dos animais quais são os motivos que os levam ao veterinário foram: vacinação (24%), rotina (20%), problemas de pele (8%), diarreias e vômitos (8%), castração (5%) e ferimentos e/ou fraturas (4%), sendo que 80% dos casos levam os seus pets ao veterinário sem que o animal apresente algum problema de saúde (SINDAN, 2018). Outro fato interessante, foi o aumento de posse de cães durante a pandemia (30%), sendo a grande maioria cães provindo de doações (54%), onde a 20% deles foram resgatados das ruas por conta própria (SINDAN, 2021).

Concomitante a esse aumento de cães nos lares brasileiros, há um maior interesse por cidades mais sustentáveis, sendo apontado um aumento no número de espaços verdes urbanos. Medeiros; Silva; Ataíde (2015), descrevem a prática dos jardins e hortas urbanas como forma de poder objetivar a segurança alimentar, geração de renda, inclusão social e as interações socioambientais. Em contrapartida, diversos trabalhos foram publicados nos últimos anos relatando ocorrência de contaminação de áreas urbanas por helmintos (principalmente *Ancylostoma* sp.) em diversos estados do Brasil (DA SILVA; FAREZIN; SOTO, 2018; KÖHLER, 2001; MALHEIROS, 2016; MICHELLON *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2018).

Fato este que nos últimos anos as zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães são um problema permanente de saúde pública tanto nos países em desenvolvimento, e uma preocupação crescente nos países desenvolvidos (KATAGIRI; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007; OTRANTO *et al.*, 2017). Assim como, a contaminação de alguns alimentos por fezes de cães e gatos (HERNANDES *et al.*, 2018; MARTINEZI SCHEMES; MARTINEZI SCHMES; DALPICOLLI RODRIGUES, 2015; TAKAYANAGUI *et al.*, 2001), ou pode ser proveniente da utilização de adubo que não foi submetido a um processo de compostagem adequado permitindo que ovos e larvas de helmintos estivessem viáveis ao fim do processo (HECK *et al.*, 2013).

Com isso, o uso de diversos antiparasitários é comum entre os tutores de animais de companhia. Uma gama de medicamentos que são administrados no controle de parasitas não é completamente metabolizado pelo organismo animal, sendo excretados via fezes e urina, tanto na forma original ou parcialmente metabolizados (BOXALL *et al.*, 2002; COOPER *et al.*, 2015; KOOLS *et al.*, 2008; ZORTÉA, 2017). Desta forma, esses medicamentos podem ser transferidos ao solo pelo uso de dejetos, sendo uma das principais vias de disseminação no meio ambiente (CHRISTIAN *et al.*, 2003; DAUGHTON, 2013; KREUZIG, 2010).

Dada a grande importância da comunidade biológica do solo em manter e sustentar o funcionamento do ecossistema, o monitoramento de práticas antrópicas, tais como a adição de resíduos orgânicos ao solo, também deve considerar os parâmetros biológicos como um indicador fundamental na avaliação ambiental (OKOT-OKUMU *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2019). A presença

de medicamentos veterinários nos solos pode afetar os organismos ali presentes, tornando-se necessárias medidas que possam amenizar os efeitos colaterais ao ecossistema. Para que isso aconteça, é importante conhecer o comportamento de cada molécula no ambiente.

## 2.2 MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS

A definição de produto veterinário, refere-se a toda substância química, biológica, biotecnológica ou preparação manufaturada cuja administração seja aplicada nos animais de forma individual ou coletiva, direta ou misturada com os alimentos, destinada à prevenção, ao diagnóstico, à cura ou ao tratamento das doenças, incluindo os aditivos, suplementos promotores, melhoradores da produção animal, medicamentos, vacinas, antissépticos, desinfetantes de ambiente e de equipamentos, pesticidas e todos os produtos que, usados no seu habitat, protejam, restaurem ou modifiquem suas funções orgânicas e fisiológicas, ou também os produtos destinados ao embelezamento (BRASIL, 1969).

Em relação aos antiparasitários serem os que mais se destacam dentro do mercado, considerando o alto risco zoonótico das doenças parasitárias, percebe-se que cerca de 85% dos médicos veterinários utilizam protocolo profilático e supressivo para controlar e erradicar as parasitoses, muitas vezes sem a devida exigência técnica (BEIRÃO et al., 2009; MENEZES-OLIVEIRA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2009; PEREIRA et al., 2016). Os parasitas podem ser divididos em ectoparasitas e endoparasitas. Os ectoparasitas compreendem os artrópodes e suas larvas, já os endoparasitas são os helmintos e os protozoários. Pode-se afirmar que tanto os endoparasitas quanto os ectoparasitas de cães são os principais veículos de zoonoses, além disso, os fatores ambientais tropicais favorecerem esses parasitas. Portanto, faz-se necessário o controle dos parasitas (BOXALL et al., 2002).

Os ectoparasiticidas podem ser divididos baseados na sua estrutura química em diversas classes, sendo: carbamatos, nitroguanidinas,

organofosforados, fenilpirazóis, piretróides, benzoilfeniluréia e derivados de triazina/pirimidina, dentre outros (BOXALL et al., 2002). Eles representam os grupos de inseticidas além de serem amplamente utilizados na agricultura. Os ectoparasiticidas quando administrados adequadamente, representam pouco perigo ao meio ambiente, comparados com o seu uso agrônomo (BÁRTÍKOVÁ; PODLIPNÁ; SKÁLOVÁ, 2016).

Os endoparasiticidas são usados para controlar os parasitas internos, eles compreendem de anti-helmínticos, antiprotozoários e coccidiostáticos. (BOXALL et al., 2002). Os anti-helmínticos são classificados de acordo com a estrutura química e o modo de ação. Como já citada acima, além das lactonas macrocíclicas, fazem parte dos anti-helmínticos benzimidazóis, imidazotiazóis, tetra-hidropirimidinas (morantel e pirantel) e pirazinoisoquinolonas (praziquantel) (BÁRTÍKOVÁ; PODLIPNÁ; SKÁLOVÁ, 2016). Contudo, os diferentes anti-helmínticos possuem mecanismos de ação específicos, podendo causar a morte do parasita e/ou reduzir seu movimento causando paralisia (KÖHLER, 2001).

Uma outra forma de diferenciar os anti-helmínticos é a configuração de como é formulado e apresentado, isto pode modificar o seu modo de ação, como por exemplo o pirantel. O pirantel é um derivado do imidazotiazole, que pertence ao grupo dos anti-helmínticos tetra-hidropirimidina e pode estar disponível como sais de tartarato e pamoato (BJØRN; HENNESSY; FRIIS, 1996). Esses sais possuem diferentes propriedades farmacocinéticas e conseqüentemente diferentes toxicidades para o hospedeiro. O sal tartarato de pirantel é solúvel em água e absorvido rápido e extensivamente a partir do intestino de animais monogástricos (BJØRN; HENNESSY; FRIIS, 1996). O sal pamoato é quase insolúvel em água e mal absorvido pelo trato gastrointestinal, e a maioria passa inalterada nas fezes. Assim, a sua absorção sistêmica reduzida na forma de pamoato, aumenta potencialmente a disponibilidade do medicamento no lúmen do intestino (BJØRN; HENNESSY; FRIIS, 1996), permitindo maior ação da droga sobre os parasitos.

Outro princípio ativo utilizado largamente no mundo e até os dias de hoje apresentado como único fármaco para o tratamento de humanos infectados com esquistossomose, é o praziquantel (PZT) (ARAGON et al., 2009; CIOLI et al., 2014; FREZZA et al., 2007; FUKUSHIGE et al., 2021; KÖHLER, 2001; THOMAS;

TIMSON, 2018). O PZT é um derivado da pirazinoisoquinolina, sendo utilizado principalmente para tratar a esquistossomose e cisticercose em humanos, mas também indicado para tratar infecções por outros trematódeos e cestódeos em mamíferos em geral (FUKUSHIGE *et al.*, 2021; GUTIÉRREZ *et al.*, 2017; KÖHLER, 2001).

O modo de ação deste medicamento não é totalmente elucidado. Sabe-se apenas que o PZT provoca uma alteração no fluxo de íons de cálcio na membrana celular do parasita, gerando uma contração muscular espástica, diminuindo a capacidade do verme se contrair e relaxar, assim ele é expelido, pois não consegue mais se fixar e dessa forma acaba afetando mais os vermes adultos (ARAGON *et al.*, 2009; DE MELO *et al.*, 2021; FUKUSHIGE *et al.*, 2021; THOMAS; TIMSON, 2018).

O amplo uso e inadequada prescrição de anti-helmínticos, em conjunto com outros fatores resultaram na resistência ao medicamento, causando séria ameaça ao controle efetivo das infecções por helmintos (BÁRTÍKOVÁ; PODLIPNÁ; SKÁLOVÁ, 2016; DE MELO *et al.*, 2021; HORVAT *et al.*, 2012b; KATAGIRI; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). Entretanto, nenhuma molécula tem a propriedade de eliminar todos os helmintos, o que gerou uma demanda por antiparasitários capazes de combater as diversas infecções e incentivou ao investimento das indústrias farmacêuticas a oferecerem medicamentos mais eficientes, com amplo espectro de ação (DE MELO *et al.*, 2021; FUKUSHIGE *et al.*, 2021; KÖHLER, 2001; KOPP *et al.*, 2008).

Atualmente são comercializados 2919 produtos veterinários farmacêuticos no Brasil, sendo a classe em maior número os antiparasitários 971 produtos (MAPA, 2022). Os produtos destinados aos cães estão em segundo lugar, com 785, dentro estes, a classe mais comercializada é a dos antiparasitários com 296 produtos. Destes antiparasitários destinados aos cães, os ingredientes ativos PZT e PIR são os que se encontram no topo da lista dos medicamentos anti-helmínticos comercializados (MAPA, 2022). Além disso, o ingrediente ativo PZT está presente em 24 dos produtos comercializados no Brasil, seguido do PIR que está em 17 deles (MAPA, 2022).

Uma pesquisa realizada com donos de animais de estimação domiciliados em Portugal a respeito da conscientização e da prática de desparasitação dos



cães, apontou que 23,5% dos medicamentos utilizados tinham a combinação dos princípios ativos febantel, pirantel e praziquantel (PEREIRA et al., 2016). O que torna isso interessante, é que são os mesmos princípios ativos, nas mesmas proporções nos diferentes medicamentos, isto é, 145 mg de Pamoato de Pirantel (equivalente a 50 mg de pirantel), 50 mg de praziquantel e 150 mg de febantel, sendo o que diferencia entre os laboratórios é o excipiente.

Esta combinação de doses fixas de pirantel, praziquantel e febantel tem sido largamente usada na desparasitação rotineira de cães por mais de 20 anos (MATOS et al., 2013). Alguns estudos têm mostrado resistência dos parasitas aos medicamentos. No entanto, pouco se sabe dos mecanismos bioquímicos de resistência dos parasitas aos anti-helmínticos, pois muitos são ainda desconhecidos ou totalmente elucidados, à exemplo do PZT (ARAGON *et al.*, 2009; FUKUSHIGE *et al.*, 2021; GUTIÉRREZ *et al.*, 2017a; KÖHLER, 2001). Além de poder se considerar a preocupação ambiental dos possíveis resíduos dessas moléculas que entram em contato com o meio ambiente (GOODENOUGH; WEBB; YARDLEY, 2019).

Neste cenário da preocupação ambiental, os medicamentos veterinários pertencem ao grupo dos contaminantes emergentes. Isto é, pertencem a centenas de compostos que têm sido detectados no solo, água e ar, e podem apresentar algum perigo/risco ao ecossistema (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). Os medicamentos veterinários no solo, podem sofrer processos de sorção, lixiviação, escoamento superficial, entre outros. Contudo, o comportamento destes contaminantes no solo é variado e instável, considerando a relação entre as propriedades físicas e químicas do solo e do fármaco (GOMES et al., 2017; HORVAT et al., 2012a, 2012b; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). No entanto, não estão incluídos nos programas de monitoramento rotineiros bem como não possuem legislação quanto a sua presença nas diferentes matrizes (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

### 2.3 ECOTOXICOLOGIA TERRESTRE

Truhaut (1977), definiu a Ecotoxicologia como o ramo da toxicologia em relação ao estudo dos efeitos tóxicos, causados por poluentes naturais ou sintéticos, aos constituintes dos ecossistemas, animais (inclusive humanos), vegetais e organismos microbianos, em um contexto integral. Com a finalidade de proteger os organismos edáficos e os serviços ecossistêmicos que o solo provê, se faz necessário desenvolver ferramentas de avaliação de risco ecológico em ecossistemas terrestres tropicais e subtropicais, para estabelecer critérios de qualidade do solo que permitam o monitoramento e controle dos impactos das ações antrópicas (CORÁ *et al.*, 2019; DA ROSA *et al.*, 2019; DAAM *et al.*, 2019; KRAFT *et al.*, 2022; ROSA *et al.*, 2015).

Os organismos edáficos e suas relações ecológicas são importantes na determinação da funcionalidade e qualidade do solo (BARETTA *et al.*, 2014; KRAFT *et al.*, 2020, 2022; POMPEO *et al.*, 2017; DA ROSA *et al.*, 2015). O uso e manejo do solo dos resíduos orgânicos pode alterar as características químicas, físicas assim como, causar diversas alterações nas populações de organismos que ali habitam (DA ROSA *et al.*, 2019; DAAM *et al.*, 2019; KRAFT *et al.*, 2020; NIVA *et al.*, 2016). Dessa forma, são considerados bioindicadores os organismos ou comunidades que sejam sensíveis e que modifiquem a sua dinâmica às alterações na estrutura de um ecossistema, fornecendo informações sobre as condições ambientais e da qualidade do solo (DAAM *et al.*, 2019; LAVELLE *et al.*, 2006).

Uma das formas de se avaliar os efeitos de poluentes nos organismos terrestres é por meio da realização de testes de ecotoxicidade. Estes são utilizados para determinar a concentração de uma substância-teste que produz efeitos deletérios em um grupo de organismos-teste sob condições controladas durante um período de exposição em relação ao período de vida do organismo-teste (DAAM *et al.*, 2019; NIVA *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2019). Com isso, um dos objetivos da ecotoxicologia é definir limiares de substâncias tóxicas permissíveis com níveis de incerteza aceitáveis e que sirvam de guia para as entidades reguladoras para a tomada de decisões (DAAM *et al.*, 2019; NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017; NIVA *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2019).

Diferentes organismos podem ser utilizados como bioindicadores de qualidade do solo nos estudos ecotoxicológicos terrestres, tais como bactérias,

fungos, plantas, organismos da macrofauna, mesofauna e microfauna (BUCH *et al.*, 2016; CARLA *et al.*, 2018; DAAM *et al.*, 2019; DE SILVA; VAN GESTEL, 2009; SCHMELZ *et al.*, 2013; SOCHOVÁ; HOFMAN; HOLOUBEK, 2006; VAN STRAALLEN, 2002). Para a escolha dos organismos-teste a serem utilizados em ensaios ecotoxicológicos, alguns critérios devem ser considerados, tais como: valor ecológico e econômico da espécie, sensibilidade frente aos fatores envolvidos no estudo, abundância, distribuição geográfica, ciclo de vida e facilidade de cultivo em laboratório (BUCH *et al.*, 2016; CARLA *et al.*, 2018; DAAM *et al.*, 2019; DE SILVA; VAN GESTEL, 2009; SCHMELZ *et al.*, 2013; SOCHOVÁ; HOFMAN; HOLOUBEK, 2006; VAN STRAALLEN, 2002).

Nessa perspectiva, entre as formas de avaliação de contaminação ambiental por diferentes compostos químicos, orgânicos e outros estressores, a ecotoxicologia terrestre utiliza metodologias padronizadas internacionalmente para a avaliação ampla e segura dos possíveis efeitos causados pelos estressores ambientais sobre organismos edáficos (MACCARI *et al.*, 2016, 2022; SEGAT *et al.*, 2015; TESTA *et al.*, 2020; ZORTÉA *et al.*, 2021; ZORTÉA *et al.*, 2017). Desta forma os organismos-testes padronizados como por exemplo os enquitreídeos (*Enchytraeus albidus*), as minhocas (*Eisenia fetida*) e os colêmbolos (*Folsomia candida*) (ABNT, 2012; ISO, 2014; ISO, 2012) são utilizados como bioindicadores ambientais. O efeito é mensurado por meio de parâmetros que determinam o perigo a partir de concentrações de efeito na sobrevivência, reprodução, fuga, medição de biomassa, entre outros parâmetros (KULA; RÖMBKE, 1998; MALLMANN *et al.*, 2018; NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017; NIVA *et al.*, 2016).

Minhocas das espécies *E. fetida* e *E. andrei* são comumente utilizadas como organismos teste padrão em testes ecotoxicológicos para solos de regiões de clima temperado (ISO 2015), pois são consideradas como bons indicadores de qualidade ambiental. No entanto, o uso de outras espécies que vem sendo estimulado com intuito de serem mais representativas a regiões tropicais e subtropicais. Um exemplo é a *Perionyx excavatus*, uma espécie de origem tropical asiática e de ampla distribuição da Ásia tropical, comumente encontrada em solos agrícolas, florestais e solos com perturbações antropogênicas de regiões subtropicais (DE SILVA; VAN GESTEL, 2009; SWATI PATTNAIK, 2011),

e, portanto, apresenta maior relevância ecológica do que as espécies padrão de clima temperado, sendo uma alternativa para testes ecotoxicológicos em solos tropicais e subtropicais.

Cada organismo-teste pode responder diferentemente a um determinado fator de estresse devido à diferença de sensibilidade que cada um expressa. Deste modo, essa abordagem na definição das concentrações máximas de substâncias permitidas é falha, quando determinada em apenas uma espécie, pois não considera as particularidades dos demais organismos que compõem a fauna edáfica, tratando-se apenas da pretensão de proteger somente a espécie testada. Por outro lado, os ensaios ecotoxicológicos devem considerar os efeitos secundários nas populações, comunidades e os ecossistemas terrestres de modo geral, via de regra se recomenda avaliar o efeito de um composto tóxico para mais que uma espécie e de diferentes grupos taxonômicos (FRAMPTON et al., 2006; VAN STRAALLEN, 2002; VAN WIJNGAARDEN; MALTBY; BROCK, 2015).

A curva de Distribuição de Sensibilidade das Espécies (SSD - *Species Sensitivity Distribution*) é uma forma de minimizar a extrapolação dos efeitos dos contaminantes a partir de uma única espécie, a fim de garantir a seguridade para um conjunto de espécies do ecossistema. Para isso foi proposto o uso da SSD, considerando que há uma variação na sensibilidade das substâncias testadas entre as diferentes espécies do ecossistema terrestre. Baseada nessas informações é possível chegar a valores de perigo ambiental para cada substância testada com as diferentes espécies testadas, a partir da realização de testes ecotoxicológicos. Assim, na construção da SSD, se obtém uma concentração de perigo a partir da qual se pretende proteger a biodiversidade (BANDEIRA et al., 2021; CARNIEL, 2019; DEL SIGNORE et al., 2016; FRAMPTON et al., 2006; ROSA, 2018; VAN STRAALLEN, 2002).

O uso da SSD para determinação de concentrações de perigo de contaminantes no ambiente foi proposto nos Estados Unidos na década de 70 e vem sendo utilizada nas análises de risco de agrotóxicos para organismos aquáticos (MALTBY; BROCK; VAN DEN BRINK, 2009; VAN STRAALLEN, 2002; VAN WIJNGAARDEN; MALTBY; BROCK, 2015). Contudo, nota-se uma grande escassez de informações de dados ecotoxicológicos em relação a

medicamentos veterinários dificultando o uso de SSDs, uma vez que é dependente da quantidade e da qualidade de dados existentes (FRAMPTON et al., 2006; KWAK et al., 2017; RÖMBKE; SCHMELZ; PÉLOSI, 2017).

No Brasil vem sendo utilizada recentemente as SSDs em pesquisas, apesar de existirem poucos estudos científicos sobre a ecotoxicidade nos organismos terrestres (BANDEIRA *et al.*, 2021; CARNIEL, 2019; OLIVEIRA, 2019; ROSA, 2018). A maioria dos trabalhos de ecotoxicologia terrestre disponíveis na literatura abrangem apenas uma ou duas espécies com o mesmo contaminante (NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017; NIVA *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2019). Portanto, é um desafio estabelecer a concentração máxima de anti-helmínticos com os dados existentes de forma que proteja a biodiversidade e os atributos funcionais dos ecossistemas naturais. Assim sendo, se justificando o desenvolvimento de pesquisas específicas sobre os efeitos causados pelos produtos veterinários aos organismos terrestres não-alvo representativos desses ecossistemas edáficos (GOODENOUGH; WEBB; YARDLEY, 2019; RÖMBKE; DUIS, 2018; ZORTÉA *et al.*, 2018). Além de contribuir com o destino e gerenciamento sobre o uso das fezes caninos/resíduos orgânicos em solos urbanos na forma de fertilizante orgânico.

#### 2.4 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PERTINENTE AO USO/PRODUÇÃO DE FERTILIZANTES ORGÂNICOS

O órgão federal brasileiro responsável pela legislação relativo à produção e comercialização de insumos agrícolas (fertilizantes, biofertilizantes, corretivos, entre outros) é o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Assim sendo, toda a estrutura legal que aborda esta questão está fundamentada na Lei Nº 6.894/1980, que foi regulamentada pelo Decreto Nº 4.954/2004, e apresenta na Instrução Normativa Nº 61/2020, no Art. 3º, a classificação dos fertilizantes orgânicos de acordo com as matérias-primas utilizadas na sua produção (BRASIL, 2020), sendo:

I – Classe “A”: produto que utiliza, em sua produção, matéria-prima gerada nas atividades extrativas, agropecuárias, industriais, agroindustriais e comerciais, incluindo aquelas de origem mineral, vegetal, animal, lodos industriais e agroindustriais de sistema de tratamento de águas residuárias com uso autorizado pelo Órgão Ambiental, resíduos de frutas, legumes, verduras e restos de alimentos gerados em pré e pós-consumo, segregados na fonte geradora e recolhidos por coleta diferenciada, todos isentos de despejos ou contaminantes sanitários, resultando em produto de utilização segura na agricultura; e,

II – Classe “B”: produto que utiliza, em sua produção, quaisquer quantidades de matérias-primas orgânicas geradas nas atividades urbanas, industriais e agroindustriais, incluindo a fração orgânica dos resíduos sólidos urbanos da coleta convencional, lodos gerados em estações de tratamento de esgotos, lodos industriais e agroindustriais gerados em sistemas de tratamento de águas residuárias contendo qualquer quantidade de despejos ou contaminantes sanitários, todos com seu uso autorizado pelo Órgão Ambiental, resultando em produto de utilização segura na agricultura.

Parágrafo único. Podem ser utilizados como matéria-prima para a produção de fertilizante orgânico Classe “A”, os resíduos provenientes de serviços públicos de limpeza urbana e de manejo de resíduos sólidos, desde que estes serviços contemplem a segregação na fonte geradora e a coleta diferenciada de resíduos em, no mínimo, três frações: resíduos orgânicos, resíduos recicláveis e rejeitos, evitando qualquer tipo de contaminação sanitária.

Nesta mesma IN 61/2020, é apresentada as especificações dos teores mínimos de nutrientes e as garantias mínimas e exigências necessárias para a aplicação dos fertilizantes orgânicos simples sólidos, sendo apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Especificações dos teores mínimos de nutrientes e outras garantias e exigências necessárias para os fertilizantes orgânicos simples da IN SDA 61/2020.

Garantia	Valores admitidos
Umidade (máxima)	50%

Nitrogênio total (mínimo)	0,5%
Carbono orgânico (mínimo)	15%
Capacidade de Troca Catiônica (mínima)	Conforme declarado
pH (mínimo)	Conforme declarado
Relação C/N (máxima)	20
Outros nutrientes	Conforme declarado

Fonte: IN SDA 61/2020 (BRASIL, 2020).

Ao que se refere à presença de agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, limites máximos de metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas, a IN SDA nº 27, 05 DE JUNHO DE 2006 (alterada pela IN SDA nº 7, de 12/04/2016, republicada em 02/05/2016) apresenta as concentrações máximas admitidas nos compostos orgânicos sendo apresentadas a seguir no Quadro 2 (BRASIL, 2016).

Quadro 2. Limites máximos de contaminantes admitidos em fertilizantes orgânicos e condicionadores de solo presentes no Anexo V da IN SDA nº 7.

Contaminante		Valor máximo admitido
Arsênio (mg kg <sup>-1</sup> )		20,00
Cádmio (mg kg <sup>-1</sup> )		3,00
Chumbo (mg kg <sup>-1</sup> )		150,00
Cromo hexavalente (mg kg <sup>-1</sup> )		2,00
Mercúrio (mg kg <sup>-1</sup> )		1,00
Níquel (mg kg <sup>-1</sup> )		70,00
Selênio (mg kg <sup>-1</sup> )		80,00
Coliformes termotolerantes – número mais provável por grama de matéria seca (NMP g <sup>-1</sup> de MS)		1.000,00
Ovos viáveis de helmintos – número por quatro gramas de sólidos totais (nº em 4 g ST)		1,00
<i>Salmonella</i> sp.		Ausência em 10 g de matéria seca
Materiais inertes	Vidros, plásticos, metais > 2 mm	0,5% na massa seca
	Pedras > 5 mm	5,0% na massa seca

Fonte: IN SDA 7/2016 (BRASIL, 2016).

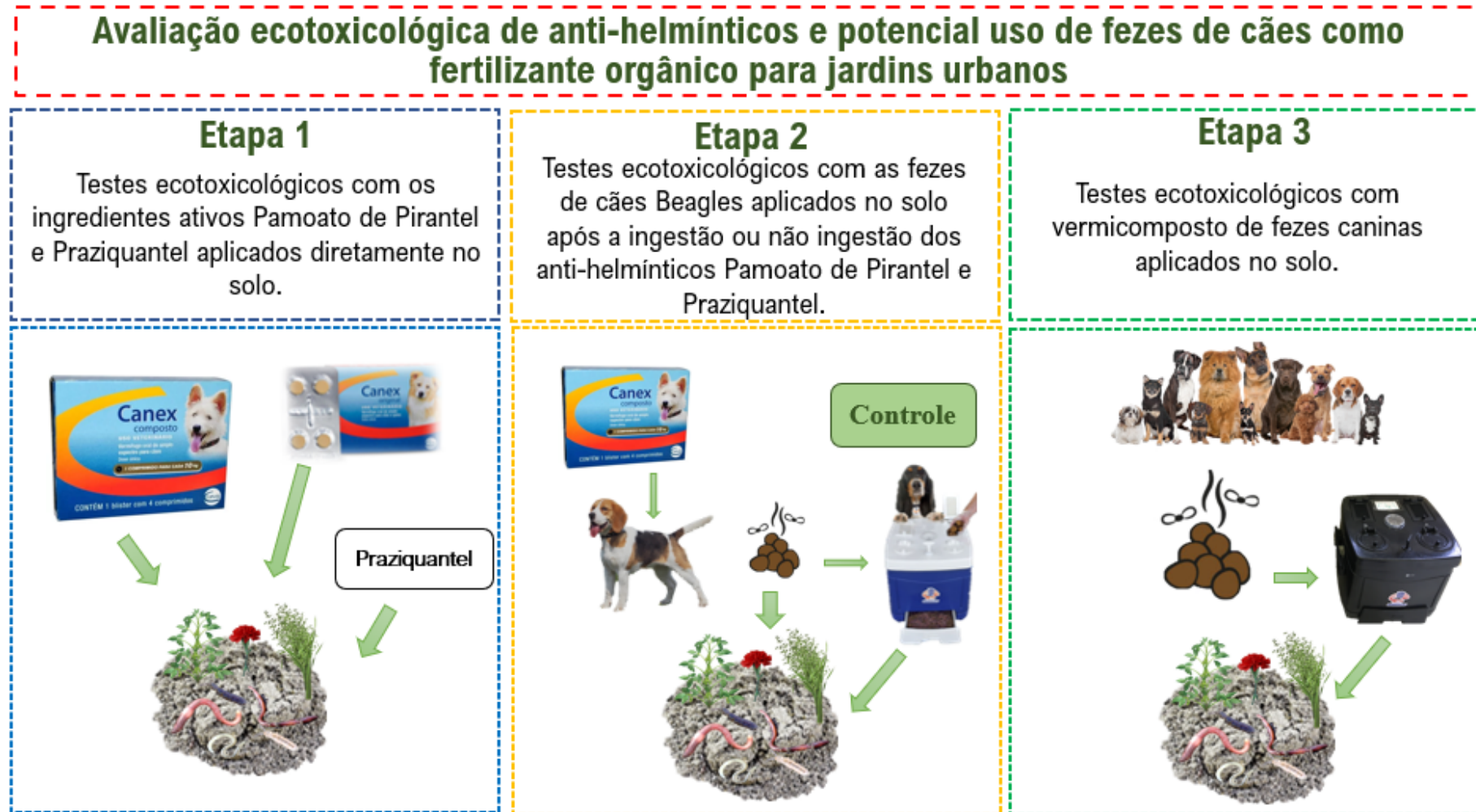
Apesar disso a legislação brasileira não considera os possíveis efeitos sinérgicos no solo e das interferências da aplicação do composto orgânico sobre a fauna no solo (MASSUKADO; SCHALCH, 2010). Ademais as fezes caninas apresentam um grande potencial como fertilizante orgânico e faz-se necessário o estudo deste resíduo em questão.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Para melhor compreensão da metodologia e desenvolvimento da Tese os experimentos foram divididos e estão apresentados em três etapas. No entanto, o solo, os invertebrados do solo e as plantas usadas para os testes ecotoxicológicos nesse estudo foram os mesmos nas três etapas, sendo assim, apenas as particularidades de cada etapa estão apresentadas separadamente. A Figura 1 apresenta um esquema conceitual idealizado de acordo com os objetivos estabelecidos para o estudo.



Figura 1- Esquema conceitual da Tese em três etapas.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

### 3.1 SOLO

O solo escolhido para realizar os ensaios ecotoxicológicos foi um Solo Artificial Tropical (SAT) recomendado pela ISO 11268-2 (ISO, 2015) para testes realizados em condições tropicais. O solo utilizado consiste em uma mistura de 75% de areia industrial (fina), 20% de argila caulínica e 5% de fibra de coco (seca e peneirada). A capacidade de retenção de água (CRA) do SAT foi ajustada para 60% da capacidade máxima de retenção (CMR) (ISO, 2015) exceto para os ensaios com plantas, que foi ajustada para 70%. O pH do SAT foi corrigido para  $6,0 \pm 0,5$  por meio da adição de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) conforme preconizado na ISO 10390 (ISO, 1994).

Os parâmetros físico-químicos do SAT utilizado estão apresentados na Tabela 1. Os respectivos métodos de análise foram: a matéria orgânica (MO) foi determinada por espectroscopia; o pH água e índice SMP foram determinados por potenciometria; o Fósforo (P), foi extraído pelo método Mehlich<sup>-1</sup> e determinado por colorimetria; o Potássio (K) extraído pelo método Mehlich<sup>-1</sup> e determinado por fotometria de chamas; o Cálcio (Ca), o Magnésio (Mg) e o Alumínio (Al) foram extraídos em  $\text{KCl mol L}^{-1}$  e determinados por espectrofotometria de absorção atômica; o Cobre (Cu) e o Zinco (Zn) foram extraídos por pelo método Mehlich<sup>-1</sup> e determinados em espectrofotometria de absorção atômica; o Boro (B) foi extraído com água quente e determinado por colorimetria; o Manganês foi extraído em  $\text{KCl mol L}^{-1}$  e determinado em espectrofotometria de absorção atômica; o Enxofre (S) foi extraído com fostato de cálcio e determinado por colorimetria; a granulometria dos solos (i. e., areia, silte e argila) foi determinada pelo método da pipeta; Os demais parâmetros foram obtidos por cálculos. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Solos da Epagri de Chapecó (Santa Catarina).

### 3.2 ORGANISMOS-TESTE E CONDIÇÕES DE ENSAIO

Os protocolos usados em testes ecotoxicológicos estão bem estabelecidos e dependem do uso de condições padronizadas para garantir a reprodutibilidade (ou seja, um solo artificial padrão e espécies de teste padronizadas). Além da duração dos testes, das condições abióticas e bióticas ideais para a produção e manutenção dos organismos em laboratório serem uma prioridade. Portanto, nesse estudo foram utilizadas espécies mencionadas nos protocolos e espécies alternativas, a fim de incentivar novas técnicas aos trabalhos futuros.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos do Solo Artificial Tropical (SAT), utilizado para os ensaios ecotoxicológicos.

<b>Parâmetros</b>	<b>SAT</b>
MO (%)	5,00
CTC	9,51
pH (H <sub>2</sub> O)	6,70
Índice SMP	6,80
P (mg dm <sup>-3</sup> )	5,00
K (mg dm <sup>-3</sup> )	486,00
Ca (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	5,70
Mg (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,80
Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,00
H + Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,74
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	10,20
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	0,70
B (mg dm <sup>-3</sup> )	1,38
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	2,20
S (mg dm <sup>-3</sup> )	18,50
Areia (%)	77
Silte (%)	15
Argila (%)	8
Classe textural	Franco-Arenosa

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A escolha dos organismos-teste, sua manutenção em laboratório e exigências para sua utilização nos testes basearam-se nas recomendações dos protocolos ISO, com adaptações descritas nos trabalhos BANDOW; COORS; RÖMBKE, (2013); BUCH et al., (2016); GREENSLADE; VAUGHAN, (2003) e NIVA; SCHMELZ; BROWN, (2012). Todos os testes realizados com os invertebrados do solo, assim como os seus respectivos cultivos foram mantidos à uma temperatura constante de 20 ± 2 °C e o fotoperíodo 12:12 (claro: escuro).

Para os testes realizados com plantas, a temperatura mantida foi de  $23 \pm 3$  °C e o fotoperíodo 12:12 (claro: escuro). A Tabela 2 mostra um resumo dos protocolos utilizados para os ensaios ecotoxicológicos, as particularidades de cada espécie estão descritas nos tópicos a seguir.

Tabela 2 – Protocolos utilizados para os ensaios ecotoxicológicos descritas por espécie.

<b>Espécie</b>	<b>Duração teste</b>	<b>Protocolo</b>
<i>E. andrei</i> (Oligochaeta)	28 dias 56 dias	ISO 11268-2
<i>P. excavatus</i> (Oligochaeta)	28 dias 56 dias	ISO 11268-2
<i>E. crypticus</i> (Oligochaeta)	28 dias (Etapa 1) 21 dias (Etapas 2 e 3)	ABNT NBR ISO 16387
<i>E. dudichi</i> (Oligochaeta)	21 dias	Adaptado ABNT NBR ISO 16387
<i>F. candida</i> (Collembola)	28 dias	ISO 11267-2 (ISO, 2014)
<i>P. minuta</i> (Collembola)	28 dias	Adaptado ISO 11267-2
<i>A. sativa</i> (Monocotiledônea)	~7 dias 21 dias	ISO-11269-2
<i>P. vulgaris</i> (Dicotiledônea)	~7 dias 21 dias	ISO-11269-2
<i>D. chinensis</i> (Dicotiledônea)	~7 dias 21 dias	ISO-11269-2

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

### 3.2.1 Testes ecotoxicológicos de reprodução com minhocas

As matrizes de minhocas, sua manutenção em laboratório e exigências para sua utilização nos testes basearam-se nas recomendações do protocolo ISO 11268 – 2 (ISO, 2015), independente da espécie. As minhocas foram obtidas da criação já estabelecida no Laboratório de Solos e Sustentabilidade UDESC-Oeste em Chapecó – SC e então mantidas e cultivadas em laboratório em caixas plásticas com volume de 12 L. O meio de cultivo utilizado foi composto de uma mistura de duas partes de dejetos equinos secos (livres de contaminantes químicos) peneirados (2 mm), uma parte de fibra de coco (Amafibra® – Golden Mix, tipo 80)

e 10% do peso dos dois primeiros de areia fina. O pH da mistura foi corrigido (quando necessário) para faixa entre 6 e 7 com adição de  $\text{CaCO}_3$ .

A desfaunagem do meio de cultivo foi realizada com três ciclos de congelamento a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  e descongelamento a temperatura ambiente durante o período de no mínimo 24 horas para cada processo. Foi acrescida uma quantidade suficiente de água destilada para deixar o meio de cultivo úmido e apto para receber as minhocas. Em cada caixa de cultivo foram colocadas cerca de 250 minhocas adultas. O substrato foi totalmente substituído quando foi observada menor presença de fibra de coco, colocando as minhocas em caixas com substrato novo. A alimentação consistiu em fornecimento semanal de flocos de aveia, previamente cozidos em água destilada. Os cultivos foram mantidos a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo 12:12 (claro: escuro).

Foram realizados testes de reprodução (56 dias) e avaliação da letalidade aos 28 dias, seguindo as metodologias ISO 11268 – 2 (ISO, 2015). Nos ensaios foram utilizados dez organismos adultos (clitelados) e com peso médio de 250 – 600 mg para as espécies *E. andrei* e *P. excavatus*. Os organismos foram mantidos em recipientes de 1000 mL, preenchidos com 500 g de solo úmido, em solo contaminado ou controle, correspondendo a altura do solo entre cinco e sete centímetros. Conduziram-se cinco repetições, sendo verificada, ao final de cada teste o pH. Para evitar a fuga dos indivíduos, os recipientes de ensaio foram cobertos com tampas transparentes com alguns furos para a aeração.

Os testes foram mantidos a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo 12:12 (claro: escuro). Os organismos foram alimentados (uma vez por semana) com, aproximadamente, 15 g de dejetos equinos secos, desfaunados e livres de contaminantes, umedecidos com água destilada. A umidade, quando necessária, também foi mantida adicionando-se água destilada uma vez por semana. Ao final de 28 dias, as minhocas adultas foram removidas, contadas e pesadas, deixando os casulos incubados por mais 28 dias para eclosão. Ao final do teste aos 56 dias, os potes plásticos foram colocados em banho-maria a  $60\text{ }^\circ\text{C}$  por 60 minutos para forçar a migração dos indivíduos juvenis à superfície do solo. Eles foram coletados com pinças e então realizada a contagem do número de indivíduos juvenis.

### 3.2.2 Testes de reprodução com enquitreídeos

Os organismos das espécies *E. crypticus* e *E. dudichi* utilizados nos testes foram obtidos da criação já estabelecida no Laboratório de Solos e Sustentabilidade UDESC-Oeste de Chapecó – SC. Os organismos mantidos em recipientes plásticos com volume de 200 mL no substrato de SAT. A criação é mantida de acordo com diretrizes estabelecidas pela ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012).

Os ensaios com os enquitreídeos foram realizados conforme as diretrizes da normativa ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012), sendo o ensaio conduzido durante três semanas para *E. crypticus* e *E. dudichi* conforme sugerem Bandow; Coors; Römbke, (2013) e Niva; Schmelz; Brown, (2012). O critério de seleção de indivíduos adultos para os testes foi a presença de clitelo. As espécies de enquitreídeos fragmentadoras possuem clitelo, no entanto, são capazes de segmentar o seu corpo e a partir dos fragmentos novos indivíduos são formados não sendo possível identificar quais foram os indivíduos inseridos no início dos testes ao final do experimento (NIVA; SCHMELZ; BROWN, 2012; SCHMELZ et al., 2013). Portanto, foi avaliado apenas a toxicidade crônica nos testes realizados com *E. dudichi*.

Para os testes os organismos foram acondicionados em recipientes de 125 mL, preenchidos com 30 g de solo contaminado e controle (não contaminado), com cinco repetições, sendo cinco delas com dez organismos e uma sem organismos a fim da verificação do pH ao final do ensaio. Os indivíduos foram alimentados uma vez por semana com 2 mg de aveia moída e adicionada água destilada conforme a necessidade para manter a umidade do solo a 50% da capacidade máxima de retenção de água. Ao final dos testes, foram adicionados 5 mL de álcool absoluto para preservação dos enquitreídeos, dez gotas de solução corante rosa de bengala em etanol (1%) e aproximadamente 80 mL de água, para evitar seu ressecamento. Após 5 dias, as amostras foram lavadas em filtro coador de café de poliéster 103 para retirar o excesso de solo.

Então foi realizada a contagem dos organismos de cada amostra com o auxílio de estereomicroscópio binocular (40 vezes).

### 3.2.3 Testes reprodução com colêmbolos

As matrizes dos colêmbolos das espécies *F. candida* e *P. minuta* vieram de criações já estabelecidas do Laboratório de Solos e Sustentabilidade – UDESC/Oeste de Chapecó – SC. Os colêmbolos foram cultivados em recipientes plásticos com capacidade de 200 mL, em meio de cultura composto de uma mistura de carvão ativado, gesso e água destilada na proporção de 1:11:7. Adicionalmente, foram alimentados três vezes por semana com 1 mg de fermento biológico seco e umedecidos com água destilada.

Os adultos foram trocados de meio para estimular sua reprodução. Após cinco a sete dias, os ovos depositados foram coletados e colocados em novo recipiente, sob pequenos pedaços de gesso. Após a eclosão dos primeiros ovos, esperam-se mais dois dias para retirar o restante dos ovos não eclodidos, de forma que o recipiente possua organismos com diferença de idade entre um e dois dias.

Estes organismos sincronizados foram utilizados para os testes quando tinham dez a doze dias de idade. Os cultivos foram mantidos sala climatizada com temperatura de  $20 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12:12 (luz: escuro) conforme protocolo ISO 11267-2 (ISO, 2014) onde também foram mantidos os testes.

Foi realizado teste de toxicidade aguda (letalidade), seguindo a metodologia ISO 11267-2 (ISO, 2014) em organismos terrestres apenas da espécie *F. candida*. Para os testes os organismos foram mantidos em recipientes (pote) com capacidade para 120 mL, preenchidos com 25 g de solo seco contaminado ou controle. Foram conduzidas seis repetições, sendo cinco delas com dez organismos e uma como referência, sem organismos para medição do pH no final dos testes. O alimento foi adicionado uma vez por semana, consistindo em 2 mg de fermento biológico seco assim como corrigida a umidade de cada pote.

No final do período de 14 ou 28 dias do teste, para os juvenis de *F. candida*, cada unidade experimental do ensaio foi transferida para um recipiente maior, onde foi adicionada água e algumas gotas de tinta de carimbo preta. Após leve agitação, para que os organismos flutuassem na superfície da água, foram determinados o número de indivíduos adultos e, então, foi determinado o número de indivíduos adultos, fotografados, para posterior contagem dos indivíduos juvenis no programa computacional ImageJ (disponível em: <<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>>).

Para os juvenis da espécie *P. minuta*, no final do teste (28 dias), cada unidade experimental de ensaio foi inserida em funis de Berlese-Tullgren, por um período de 24 horas para que os organismos fossem estimulados a migrarem da parte superior da amostra para a parte inferior em função do gradiente de temperatura que este método proporciona. Dessa forma, os colêmbolos existentes nas amostras caíam em potes dispostos abaixo do fundo do funil, e flutuavam acima da lâmina d'água que continham os recipientes.

Posteriormente, as amostras foram transferidas para um recipiente de maior diâmetro, onde foi adicionada água e algumas gotas de tinta de carimbo vermelha. Essa adaptação foi necessária em função do tamanho menor e da cor do exoesqueleto da espécie *P. minuta* (escura) ser diferente que *F. candida* (BUCH et al., 2016), fazendo com que o método tradicional de contagem não fosse eficaz. Os organismos foram levemente agitados, para que os mesmos flutuassem na superfície da água, e, então, foram determinados o número de indivíduos adultos, fotografados, para posterior contagem dos indivíduos juvenis no programa computacional ImageJ (disponível em: <<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>>).

### **3.2.4 Testes de crescimento de plantas**

Os ensaios de crescimento de plantas foram baseados no protocolo ISO-11269-2 (ISO, 2005), onde foram utilizadas as espécies *Avena sativa* (aveia



branca), *Phaseolus vulgaris* (feijão preto) e *Dianthus chinensis* (planta ornamental).

Os recipientes utilizados nos ensaios com plantas foram copos plásticos de polipropileno com capacidade para 770 mL sobre um pote menor com capacidade de 200 mL. O copo superior foi preenchido com 400 g de SAT com umidade inicial corrigida para 65% da capacidade de retenção de água (CRA) e pintado externamente na cor preta para evitar a influência da luz sobre as raízes das plantas.

Na base do copo foram feitos dois furos, em um foi colocado um canudo pelo qual a água era repostada semanalmente e o outro furo foi inserida uma corda de algodão por onde, através da capilaridade, a água que estava presente no pote inferior com água era transportada para o copo superior que continha o solo e as plantas. Um esquema do equipamento utilizado está demonstrado na Figura 2.

Figura 2 – Esquema utilizado para os testes com plantas.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Para os ensaios foram utilizadas seis sementes por unidade experimental e quatro repetições por tratamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. As sementes foram inseridas no solo a uma profundidade de 0,5 cm. Os ensaios foram realizados em ambiente climatizado

e fotoperíodo controlado, onde manteve-se a temperatura em  $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  e o fotoperíodo de 16:8 horas (luz: escuro). A quantidade de água disponível no reservatório foi monitorada constantemente e acrescida sempre que atingia a quantidade mínima de 10 mL, sendo verificada a cada dois dias.

Após observada a germinação superior a 50% nos controles, o teste permaneceu por 21 dias. Ao fim do teste, foram avaliadas a germinação e o comprimento de raízes das plantas. O parâmetro biomassa foi mensurado apenas nas espécies *A. sativa* e *P. vulgaris*. Foram realizadas as pesagens de massa fresca e então as plantas foram colocadas em estufa a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  pelo período de 72 horas até peso constante para posterior obtenção da massa seca total. O parâmetro utilizado para a obtenção dos ECs das plantas foi o comprimento das raízes.

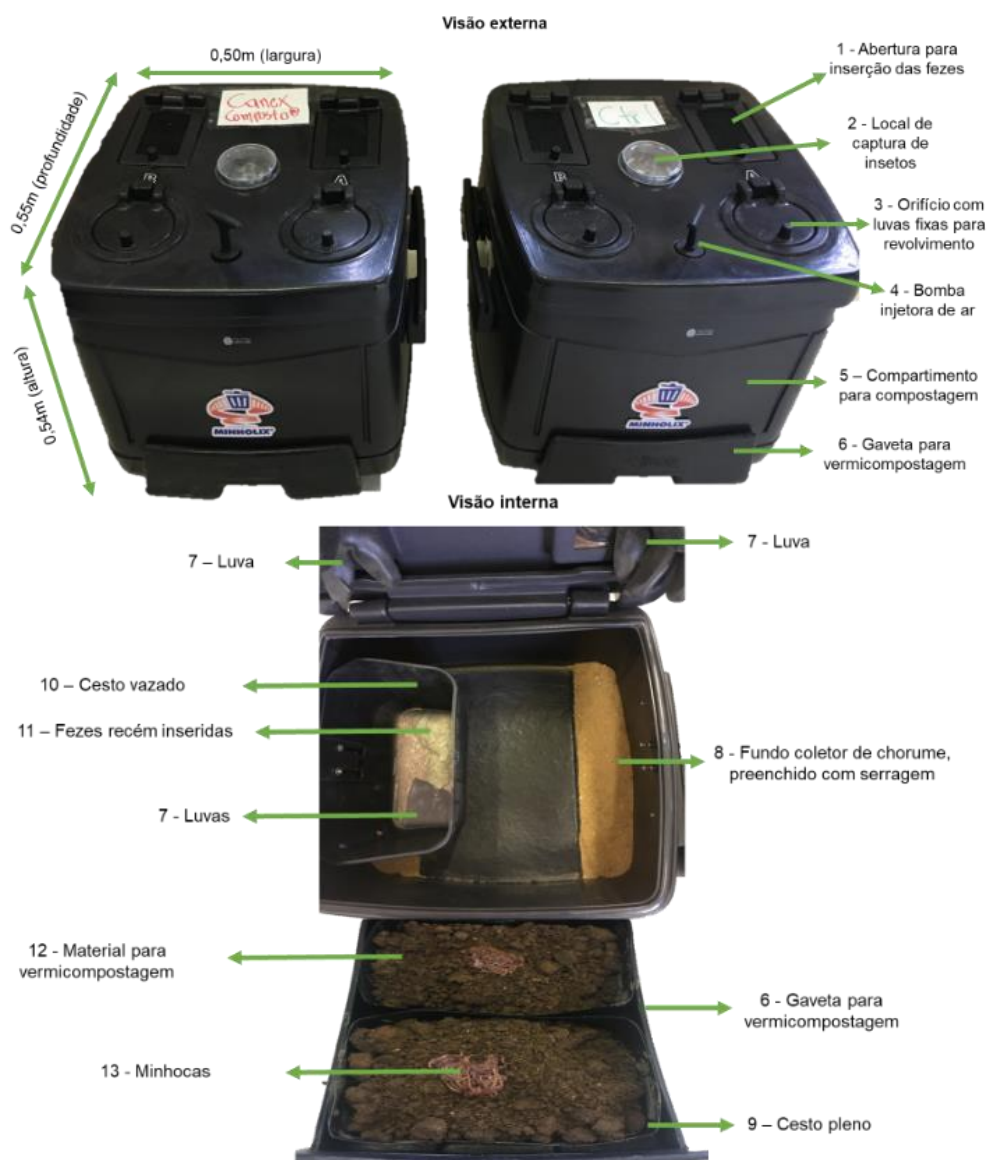
### 3.3 RECICLADOR BIOLÓGICO DE FEZES CANINAS

O reciclador biológico de fezes caninas consiste em uma câmara de transformação de resíduos sólidos, para pequena escala, de uso doméstico e ambientes fechados. O reciclador utilizado para a transformação das fezes caninas em composto/fertilizante orgânico, foi o produto Minholix<sup>®</sup>, da empresa Minhobox Ltda.. Na Figura 3 pode-se observar os recicladores utilizados nos experimentos das Etapas 2 e 3. Para mais detalhes específicos de funcionamento dessa tecnologia, pode-se acessar o material detalhado do processo do uso e particularidades de cada compartimento, disponível no site da empresa (<<http://www.minhobox.com.br/app/webroot/minholix/caes.php>>).

O reciclador biológico das fezes dispõe de dois compartimentos separados onde em um acontece a compostagem (número 5 da Figura 3), e outro onde acontece a vermicompostagem (número 6 da Figura 3). Durante o processo de compostagem, foram depositados aproximadamente 500 g de fezes frescas caninas diariamente. A manutenção do reciclador biológico consistia em injetar ar dentro do compartimento de compostagem (número 5 da Figura 3)

diariamente, por meio do uso da bomba injetora de ar (número 4 da Figura 3) e revolver o material com as luvas fixas (número 7 da Figura 3) a cada dois dias.

Figura 3 – Imagem ilustrativa do reciclador biológico de fezes caninas e seus compartimentos. 1 – Abertura para inserção das fezes; 2 – Local de captura de insetos; 3 – Orifício com luvas para revolvimento; 4 – Bomba injetora de ar; 5 – Compartimento para compostagem; 6 – Gaveta para vermicompostagem; 7 – Luvas; 8 – Fundo coletor de chorume preenchido com serragem; 9 – Cesto pleno; 10 – Cesto vazado; 11 – Fezes recém inseridas; 12 – Material pronto para vermicompostagem; 13 – Minhocas.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Além disso, era necessário trocar o líquido com o atrativo de insetos (número 2 da Figura 3) uma vez por semana. Na segunda fase da reciclagem, a vermicompostagem, o material já compostado e estabilizado era retirado e despejado na gaveta de vermicompostagem (número 6 da Figura 3) para então inserir aproximadamente 200 minhocas cliteladas da espécie *E. andrei*, que transformaram o material em húmus em aproximadamente duas semanas.

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS CONTAMINANTES

#### 3.4.1 Etapa 1

Na Etapa 1 foram avaliados os efeitos agudos e crônicos ecotoxicológicos sobre invertebrados do solo (i.e., minhocas, enquitreídeos e colêmbolos) e plantas (i.e., *A. sativa*, *P. vulgaris* e *D. chinensis*) na presença dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação entre eles (PIR+PZT), aplicados diretamente no solo. A escolha dos medicamentos veterinários foi baseada em revisão bibliográfica e nos dados disponibilizados pelo governo federal no site do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Um resumo das propriedades físico-químicas, fatores ambientais que interferem na degradação, formas de degradação (transformação) e subprodutos da degradação dos anti-helmínticos PIR e PZT, que estão disponíveis na literatura podem ser observados Quadro 3.

No entanto, poucos são os produtos comerciais que são formulados e vendidos apenas com um ingrediente ativo. Com base nessas informações o produto comercial Canex Composto<sup>®</sup> foi utilizado nas Etapas 1 e 2 deste estudo. O Canex Composto<sup>®</sup> é um anti-helmíntico de amplo espectro indicado como vermífugo para combate dos principais nematóides (Nematoda) e cestódeos (*Platyhelminthes*) que acometem os cães. Este é apresentado em um blíster

contendo quatro comprimidos de 500 mg sendo a sua formulação: 145 mg de PIR (equivalente a 50 mg de pirantel base) e 50,5 mg de PZT, além da quantidade suficiente para (q.s.p.) 500 mg de substância inerte.

Quadro 3 - Características físico-químicas e ambientais do Pamoato de Pirantel (PIR) e o Praziquantel (PZT). Fonte: United States Environmental Protection Agency (EPA) (<https://www.epa.gov/chemical-research/comptox-chemicals-dashboard>).

<b>Características</b>	<b>PIR</b>	<b>PZT</b>
Nome do fármaco	Pamoato de Pirantel	Praziquantel
Fórmula molecular	C34H30N2O6S	C19H24N2O2
Nomenclatura IUPAC	4,4'-Methylenebis(3-hydroxynaphthalene-2-carboxylic acid)--1-methyl-2-[(E)-2-(thiophen-2-yl)ethenyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidine (1/1)	2-(Cyclohexanecarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino[2,1-a]isoquinolin-4-one
Número CAS	15686-83-6	55268-74-1
Peso molecular (g mol <sup>-1</sup> )	594,68	312,41
Ponto de fusão (C°)	-	136
Solubilidade em água mg L <sup>-1</sup> a 25 C°	-	1,29e <sup>-3</sup>

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Optou-se por utilizar além do Canex Composto<sup>®</sup>, avaliar os ingredientes ativos separadamente. Para isso, também foi utilizado o produto comercial Canex Original<sup>®</sup> que têm na sua formulação apenas o PIR (equivalente a 50 mg de pirantel base) e o excipiente q.s.p. 300 mg. Ambos os produtos comerciais utilizados são da empresa francesa Ceva Santé Animale Ltda. Por não haver formulação comercial disponível no mercado do PZT, foi optado por manipular na mesma dosagem contida na formulação do Canex Composto<sup>®</sup>, 50,5 mg e o excipiente q.s.p. 100 mg. Doravante a nomenclatura PIR+PZT representa o uso do produto comercial Canex Composto<sup>®</sup>, e PIR, o uso do produto comercial Canex Original<sup>®</sup>.

Assim como observado por Goodenough; Webb; Yardley (2019) os anti-helmínticos PIR e PZT não foram amplamente pesquisados no contexto de seus efeitos em espécies não-alvo, principalmente no que se refere aos invertebrados do solo e plantas. Desta forma, para os ensaios ecotoxicológicos, foi assumida como dose referência a dose recomendada pelo fabricante. Isto é, um comprimido PIR+PZT para cada 10 kg de peso vivo do cão. Assim foi estabelecida a dose 1 como 1 comprimido para cada kg de solo seco, então extrapoladas doses abaixo e acima da recomendada. Doravante, as doses estão expressas em quantidade de comprimido por kg de solo seco, a fim de facilitar a visualização do cenário exposto, conforme a Tabela 3.

Tabela 3. Quantidade de comprimidos dos anti-helmínticos por quilograma (kg) de solo seco, especificados em mg dos ingredientes ativos dos anti-helmínticos utilizadas como dose referência para os testes ecotoxicológicos com os invertebrados do solo e plantas

<b>Quantidade do comprimido</b>	<b>Concentração nominal em mg do PIR+PZT</b>	<b>Concentração nominal em mg do PIR</b>	<b>Concentração nominal em mg do PZT</b>
1	500 (145 PIR; 50,5 PZT)	145	50,5

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Os organismos foram expostos a doses crescentes dos anti-helmínticos PIR+PZT, PIR e PZT, formando um gradiente de concentração e foram preparados separadamente para cada um dos anti-helmínticos e cada espécie. Na Tabela 4 estão especificadas cada dose utilizada para cada teste realizado. Ao final da montagem de cada teste foram guardadas amostras de solo para análise química dos ingredientes ativos, para quantificação das concentrações nominais de cada medicamento. As amostras foram preservadas em freezer à temperatura de (-20°C). Para as análises, foram formadas amostras compostas, misturadas e homogeneizadas àquelas que pertenciam ao mesmo grupo de invertebrados do solo, o mesmo medicamento e a mesma dose testada. Estas

análises foram realizadas em parceria com a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Tabela 4 - Doses de comprimido dos anti-helmínticos por quilograma (kg) de solo seco utilizadas nos testes ecotoxicológicos especificada para cada espécie.

<b>Espécie</b>	<b>Doses em quantidade de comprimido por kg de solo seco</b>		
	<b>PIR+PZT</b>	<b>PIR</b>	<b>PZT</b>
<i>E. andrei</i>	0; 0,5; 1; 4; 8; 16	0; 0,5; 1; 4; 8; 16	0; 0,5; 1; 4; 8; 16
<i>P. excavatus</i>	0; 0,5; 1; 4; 8; 16	0; 0,5; 1; 4; 8; 16	0; 0,5; 1; 4; 8; 16
<i>E. crypticus</i>	0; 0,25; 0,5; 1; 4; 8	0; 0,25; 0,5; 1; 4; 8	0; 0,25; 0,5; 1; 4; 8
<i>E. dudichi</i>	0; 0,25; 0,5; 1; 4; 8	0; 0,25; 0,5; 1; 4; 8	0; 0,25; 0,5; 1; 4; 8
<i>F. candida</i>	0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32	0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32	0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32
<i>P. minuta</i>	0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32	0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32	0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32
<i>A. sativa</i>	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32
<i>P. vulgaris</i>	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32
<i>D. chinensis</i>	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32	0; 0,5; 1; 4; 8; 16; 32

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

### 3.4.2 Etapa 2

Na Etapa 2 foram avaliados os efeitos agudos e crônicos ecotoxicológicos sobre invertebrados do solo (i.e., minhocas, enquitreídeos e colêmbolos) e plantas (i.e., *A. sativa*, *P. vulgaris* e *D. chinensis*) na presença Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com PIR+PZT (FBVPP).

Para a obtenção dos compostos orgânicos, foram utilizados dez cães provenientes da Fazenda Experimental da UDESC/Oeste, localizada no município de Guatambú, SC. A raça utilizada foram cães da raça Beagle, pois apresentam características de porte médio, são dóceis e largamente utilizados para fins experimentais (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002). Os cães eram, todos machos descendentes de duas ninhadas, com aproximadamente 2 anos e características como peso e escore de condição corporal semelhantes. A dieta fornecida aos cães foi a ração Korredog Prime Advanced® (da empresa Vipet Foods Brasil Ltda), 200 gramas de ração, duas vezes ao dia (9 horas e 17 horas) e água potável de fonte natural *ad libitum*. Os cães passaram por um período de adaptação à dieta durante três dias.

No terceiro dia de adaptação da dieta, foram coletadas amostras de fezes de todos os cães separadamente, para que fossem distribuídos de acordo com a infestação parasitária. Esta foi verificada por meio da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), então os cães foram separados em 2 grupos com 5 cães, sendo um grupo tratado com o medicamento comercial que contém os ingredientes ativos PIR+PZT (o mesmo utilizado na Etapa 1) e o outro grupo controle. As amostras de fezes para o OPG foram coletadas no dia de administração do tratamento (dia zero) e dez dias após a administração do PIR+PZT. As amostras foram submetidas ao exame fecal, adaptado do protocolo de (GORDON; WHITLOCK, 1939).

Foram realizados dois ciclos de coletas, uma em novembro de 2019 e a outra em setembro de 2020. As coletas das fezes eram iniciadas 5 dias após a administração do medicamento com PIR+PZT aos cães. As coletas eram realizadas duas vezes ao dia e foram armazenadas em freezer a -20°C até o início do processo de compostagem ou preparo das fezes frescas para a realização dos testes. Foram obtidos os seguintes volumes de cada composto orgânico: FBF 1,5 kg; FBV 1,8 kg; FBPP 1,5 kg; FBVPP 1,9 kg, respectivamente.

As fezes frescas, (i.e., fezes que não passaram pelo processo de vermicompostagem), antes de serem utilizadas nos testes, elas foram descongeladas, homogeneizadas e colocadas em estufa a 65 °C pelo período de 72 horas até peso constante para posterior armazenagem em freezer a -20°C até a montagem de cada experimento. O preparo das fezes vermicompostas



deu-se da seguinte forma: um dia antes do início do processo de vermicompostagem, os dejetos foram descongelados, homogeneizados e separados em porções de 500 g e armazenados em geladeira a 7°C até que fossem todas inseridas no reciclador biológico de fezes de cães dia após dia. A descrição do funcionamento do produto comercial Minholix®, está na página 50.

Foram retiradas amostras para verificar a presença dos ingredientes ativos (PIR e PZT) durante o processo no reciclador biológico de fezes de cães, onde há uma câmara isolada onde acontece o processo de compostagem e outro compartimento onde acontece a vermicompostagem. As amostras retiradas com 100 g de material, foram preservadas em sacos plásticos e congeladas em freezer a -20° C. As retiradas aconteceram: no primeiro dia do dejetos descongelado; no 24º dia (12 dias após a inserção do último saco com dejetos de 500 g); no 56º dia (dia de início da segunda fase do reciclador, o processo de vermicompostagem com as minhocas); e no 72º dia (ao final do processo de vermicompostagem do dejetos canino no reciclador biológico). Essas amostras foram analisadas em parceria com a UFRJ.

As análises de caracterização de resíduo orgânico e fertilizante foram feitas através de uma parceria com a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), no Laboratório de Análise de Solos da EPAGRI de Chapecó, SC. As metodologias utilizadas para análise dos minerais foram as determinadas conforme o Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos (BRASIL, 2017).

Os parâmetros físico-químicos dos compostos orgânicos oriundos de fezes de cães da raça Beagle podem ser observados na Tabela 5. Sendo eles Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBVPP). Os tratamentos consistiram em doses dos quatro compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de

Pirantel+Praziquantel (FBVPP), adicionadas ao Solo Artificial Tropical (SAT). A dose de referência utilizada foi a dose agronômica recomendada para cada planta de acordo com o Manual de Adubação e Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (RS/SC, 2016).

Tabela 5 - Parâmetros físico-químicos dos compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBVPP)

Parâmetro	FBF	FBV	FBPP	FBVPP
pH em CaCl <sub>2</sub>	5,9	6,5	6,7	6,4
Umidade 65°C %	59,91	62,91	46,57	43,3
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> % (teor total)	6,64	8,11	8,98	6,14
K <sub>2</sub> O % (teor solúvel em H <sub>2</sub> O)	0,59	0,73	0,73	0,86
Ca % (teor total)	1,45	2,47	3,08	1,81
Mg % (teor total)	0,27	0,37	0,43	0,3
N % (teor total)	2,62	2,8	1,57	1,4
Cu % (teor total)	0,016	0,017	0,021	0,019
Zn % (teor total)	0,058	0,104	0,086	0,066
Fe % (teor total)	0,148	0,174	0,432	0,25
Mn % (teor total)	0,013	0,012	0,035	0,035

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Para os invertebrados do solo, foram utilizadas as mesmas doses que o *P. vulgaris*. Baseado nessas informações, doses maiores e menores foram estabelecidas para avaliar diversos cenários possíveis do uso de fezes caninas como fertilizante orgânico e avaliar a ecotoxicidade de cada um. As doses foram calculadas com base na matéria seca (MS) e sendo a dose 1 equivalente a dose recomendada de fertilizante orgânico em g kg<sup>-1</sup> de solo seco, que estão apresentadas na Tabela 6. Ao final da montagem de cada teste foram guardadas amostras de solo para análise química dos ingredientes ativos, para

quantificação das concentrações nominais de cada medicamento. As amostras foram preservadas em freezer à temperatura de (-20°C).

Tabela 6 – Concentrações nominais dos compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBVPP), em g kg<sup>-1</sup> de Solo Artificial Tropical utilizadas nos testes de toxicidade crônica com os organismos terrestres.

	Dose nominal de fezes canina em g kg <sup>-1</sup> de solo seco					
	0,5	1	4	8	16	32
Tipo de Fezes	<i>E. andrei; P. excavatus; E. crypticus; E. dudichi; F. candida; D. chinensis</i>					
FBF	0,538	1,076	4,303	8,606	17,212	34,423
FBV	0,398	0,795	3,182	6,363	12,727	25,453
FBPP	0,440	0,881	3,523	7,046	14,092	28,184
FBVPP	0,582	1,163	4,653	9,307	18,613	37,227
Tipo de Fezes	<i>A. sativa</i>					
FBF	1,183	2,367	9,466	18,933	37,866	75,731
FBV	0,875	1,750	7,000	13,999	27,999	55,997
FBPP	0,969	1,938	7,751	15,501	31,002	62,005
FBVPP	1,280	2,559	10,237	20,475	40,949	81,899
Tipo de Fezes	<i>P. vulgaris</i>					
FBF	0,753	1,506	6,024	12,048	24,096	48,193
FBV	0,557	1,114	4,454	8,909	17,817	35,635
FBPP	0,617	1,233	4,932	9,864	19,729	39,457
FBVPP	0,814	1,629	6,515	13,029	26,059	52,117

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

### 3.4.3 Etapa 3

Na Etapa 3 foram avaliados os efeitos ecotoxicológicos agudos e crônicos sobre invertebrados do solo (i.e., minhocas, enquitreídeos e colêmbolos) e plantas (i.e., *A. sativa*, *P. vulgaris* e *D. chinensis*) na presença fezes canina vermicompostada aplicadas em SAT. Também foi avaliado o potencial do vermicomposto oriundo de fezes caninas como fertilizante orgânico.

As fezes coletadas foram de cães sem histórico conhecido, ou seja, de diversas raças, tamanhos, idades, sem o conhecimento do histórico de saúde, do tipo de dieta fornecida ou qualquer outra informação. O intuito de utilizar fezes caninas sem histórico, foi abranger um cenário presumivelmente próximo da realidade. Fazer o uso da vermicompostagem como um possível destino para estes resíduos sólidos urbanos, utilizando-os como fertilizante orgânico para jardins ou vasos de plantas ornamentais.

As fezes foram recolhidas em residências que possuíam apenas cães como animais de estimação e em clínicas veterinárias da cidade de Chapecó, sendo assim, foi possível obter uma maior diversidade de fezes. As coletas aconteciam diariamente, alternando os locais de coleta. Logo após a coleta, aproximadamente 500g de fezes eram depositadas no reciclador biológico de vermicompostagem, onde o funcionamento está descrito na página 50.

Após o composto orgânico estar estabilizado e pronto, as fezes vermicompostas foram homogeneizadas e levadas à estufa a 65°C de temperatura e permaneceram até que estivessem completamente secas. Depois da secagem o material foi armazenado em freezer a -20°C até que fossem utilizadas para os testes ecotoxicológicos

Para os testes ecotoxicológicos os tratamentos consistiram em doses crescentes do composto orgânico oriundo de fezes caninas, adicionadas ao SAT. A dose de referência utilizada foi a dose agronômica recomendada para cada planta, de acordo com o Manual de Adubação e Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (RS/SC, 2016). Para os invertebrados do solo, foram utilizadas as mesmas doses que o *D. chinensis*. Baseado nessas informações, doses maiores e menores foram estabelecidas para avaliar diversos cenários possíveis do uso de fezes caninas como fertilizante orgânico e avaliar a ecotoxicidade de cada um. As doses foram calculadas com base na

matéria seca (MS) e sendo a dose 1 equivalente a dose recomendada de fertilizante orgânico em  $\text{g kg}^{-1}$  de solo seco, que estão apresentadas na Tabela 7. Ao final da montagem de cada teste foram guardadas amostras de solo para análise química dos ingredientes ativos, para quantificação das concentrações nominais de cada medicamento. As amostras foram preservadas em freezer à temperatura de  $(-20^{\circ}\text{C})$ .

Tabela 7 - Concentrações nominais do composto orgânico oriundo de Fezes de canina Vermicompostada (FCV), em  $\text{g kg}^{-1}$  de Solo Artificial Tropical (SAT) utilizadas nos testes de toxicidade crônica com os organismos terrestres e plantas. Baseada na recomendação de fertilizante para *D. chinensis*, como dose 1.

Dose	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
Concentração nominal ( $\text{g kg}^{-1}$ )	0,3	0,6	1,2	2,4	4,8	9,6	19,2	38,4	76,8

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

As análises de caracterização de resíduo orgânico e fertilizante foram feitas através de uma parceria com a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), no Laboratório de Análise de Solos da EPAGRI de Chapecó, SC. As metodologias utilizadas para análise dos minerais foram as determinadas conforme o Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes minerais, orgânicos, organominerais e corretivos (BRASIL, 2017).

Ao considerar o processo de compostagem como um fator para a estabilização da matéria orgânica, neste caso as fezes caninas, a sanitização do material orgânico está diretamente ligada à qualidade do fertilizante e materiais utilizados (VALENTE et al., 2008). Para verificar se as FCV é um composto orgânico passível a ser utilizado como fertilizante orgânico, foram realizadas análises no que se refere às concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos patogênicos ao homem, animais, plantas e metais pesados tóxicos. Essas análises foram realizadas em laboratório terceirizado Genética

Tecnologias Ambientais Ltda, credenciado e localizado na cidade de Chapecó – SC.

### 3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Para todas as avaliações ecotoxicológicas: sobrevivência, reprodução, germinação e crescimento de raiz, os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk W ( $p > 0,05$ ), homogeneidade de Bartlett ( $p > 0,05$ ), análise de variância (ANOVA *One-way*) e as médias comparadas pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). Os valores de EC<sub>10</sub> e EC<sub>50</sub> (concentração estimada para causar um ou mais efeitos específicos capazes de afetar 10% e 50% dos organismos), foram determinados por análise de regressão não linear, usando o modelo que melhor se ajustou aos dados (ENVIRONMENT CANADA, 2007). Para estas análises foi utilizado o *software* Statistica v7.0 (STATSOFT, 2004).

As SSDs para os organismos testados foram construídas a partir dos valores de EC<sub>10</sub> e EC<sub>50</sub> das espécies testadas, realizadas de acordo com Aldenberg; Jaworska (2000) utilizando o *software* ETX 2.0 (VAN VLAARDINGEN et al., 2004). Assim como os valores de HC<sub>5</sub> e HC<sub>50</sub> das espécies, com limite de confiança de 95%. Uma vez que o modelo assume uma distribuição log-normal dos dados, a log-normalidade foi testada com o teste de Anderson-Darling incluído no pacote do *software* ETX 2.0 (VAN VLAARDINGEN et al., 2004). A normalidade dos dados de toxicidade foi estabelecida em  $p > 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foram realizados testes de ecotoxicológicos com dois anti-helmínticos (PIR e PZT) e cinco compostos orgânicos (FBF, FBV, FBPP, FBVPP e FCV) sobre invertebrados do solo (i.e., minhocas, enquitreídeos, colêmbolos) e plantas (i.e., aveia, feijão e cravina), em Solo Artificial Tropical (SAT). O uso do SAT nesta pesquisa teve o propósito de auxiliar na comparação com outros estudos, uma vez que ao testar novas espécies alternativas com contaminantes pouco estudados, o uso de protocolos padronizados e solos artificiais, é incentivado (DAAM *et al.*, 2019; DE SILVA; VAN GESTEL, 2009; NIVA *et al.*, 2016). Uma vez que o SAT é o substrato referência utilizado para os testes ecotoxicológicos terrestres, padronizados pelo órgão da Associação Brasileira de Normal Técnicas (ABNT, 2012).

Os resultados obtidos abrangem dados com os contaminantes testados, além de testar espécies alternativas àquelas propostas pelos protocolos ISO e ABNT, incluindo espécie de clima tropical (i.e. *P. excavatus*), espécies encontradas em solos brasileiros como *E. dudichi*, *F. candida* e *P. minuta* (BUCH *et al.*, 2016; NIVA; SCHMELZ; BROWN, 2012; SCHMELZ *et al.*, 2013) e com caráter econômico relevante de plantas ornamentais cultivadas no Brasil (i.e. *D. chinensis*) (SÃO JOSÉ *et al.*, 2021).

O uso de espécies alternativas e o aumento da quantidade de organismos para estimar os valores de toxicidade dos contaminantes, auxiliam a compreender se as espécies padronizadas são protetoras aos seus grupos correspondentes (e.g. fauna do solo, plantas), e então permitem elaborar diretrizes de proteção mais específicas a regiões tropicais e subtropicais (DAAM *et al.*, 2019; NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017; NIVA *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2019).

### 4.1 ETAPA 1

A umidade do solo se manteve constante ao longo de todos os testes e a variação do pH entre o início e o final, para todas as doses, foi igual ou inferior à 0,5 para independente do medicamento testado em relação aos controles. As concentrações utilizadas e aferidas dos testes ecotoxicológicos de reprodução dos artrópodes do solo da Etapa 1 se encontram no Apêndice A. Nele estão expressas as quantidades do medicamento, doses nominais, doses reais mensuradas e porcentagem das doses reais em relação às doses nominais dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR) e Praziquantel (PZT) em miligrama (mg) por quilograma (kg) de solo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

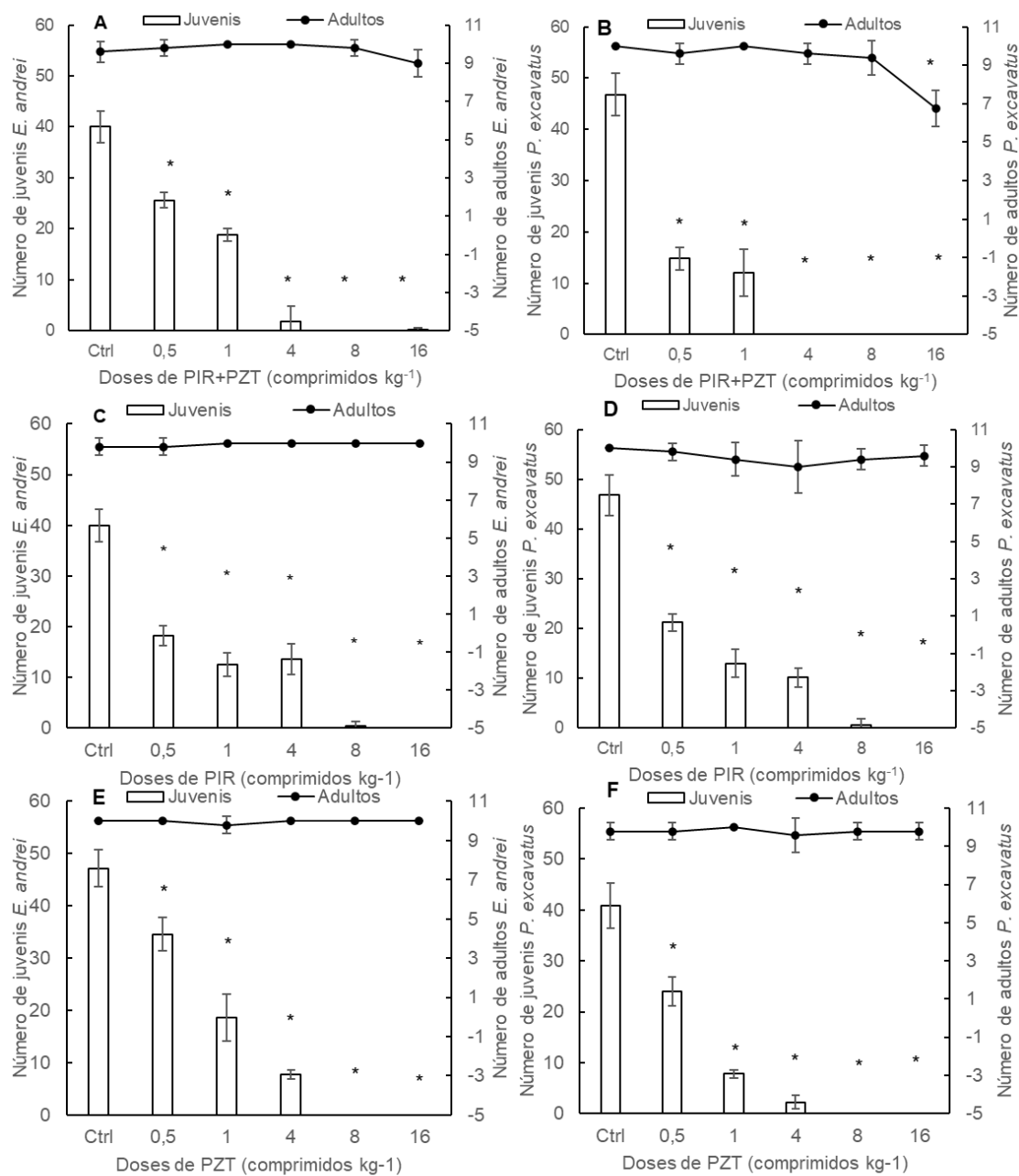
Os testes com as espécies avaliadas foram validados conforme os seus respectivos protocolos e/ou adaptações. Os ensaios com as minhocas (*E. andrei* e *P. excavatus*) cumpriram os critérios de validação de acordo com as diretrizes ISO 11268-2 (ISO, 2015). Onde, a mortalidade das adultas foi inferior a 10%, tendo número superior à 30 indivíduos juvenis em cada repetição e o coeficiente de variação não excedeu a 30%.

Pôde-se observar que em relação à sobrevivência da minhoca da espécie *E. andrei*, independente do contaminante utilizado, não houve redução no número de indivíduos adultos (Figura 4 A, C e F). No entanto, foi observada redução ( $p < 0,05$ ) de indivíduos adultos da espécie *P. excavatus* quando houve interação dos medicamentos (PIR+PZT) na última dose testada (Figura 4 B).

O aumento da concentração dos medicamentos reduziu a capacidade de reprodução das minhocas independente da espécie testada a partir da primeira dose testada (Figura 4). Em um estudo sobre a toxicidade do medicamento abamectina (também indicado como endoparasita), com minhocas da espécie *P. excavatus*, esta mostrou ser mais sensível que a espécie *E. andrei* (NG; CHANABUN; PANHA, 2019). Fato este, também observado em outros estudos com a minhoca *P. excavatus* sendo utilizada como espécie bioindicadora de testes de toxicidade para cenários tropicais, pois vem mostrando maior sensibilidade perante as espécies *Eisenia* sp. padronizadas (DAAM *et al.*, 2019; DE SILVA; PATHIRATNE; VAN GESTEL, 2010; DE SILVA; VAN GESTEL, 2009; GOMES *et al.*, 2017; NG; CHANABUN; PANHA, 2019).



Figura 4 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de minhocas quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados da espécie *E. andrei* e os gráficos B, D e F a espécie *P. excavatus*. (⊥) desvio-padrão (n = 5). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

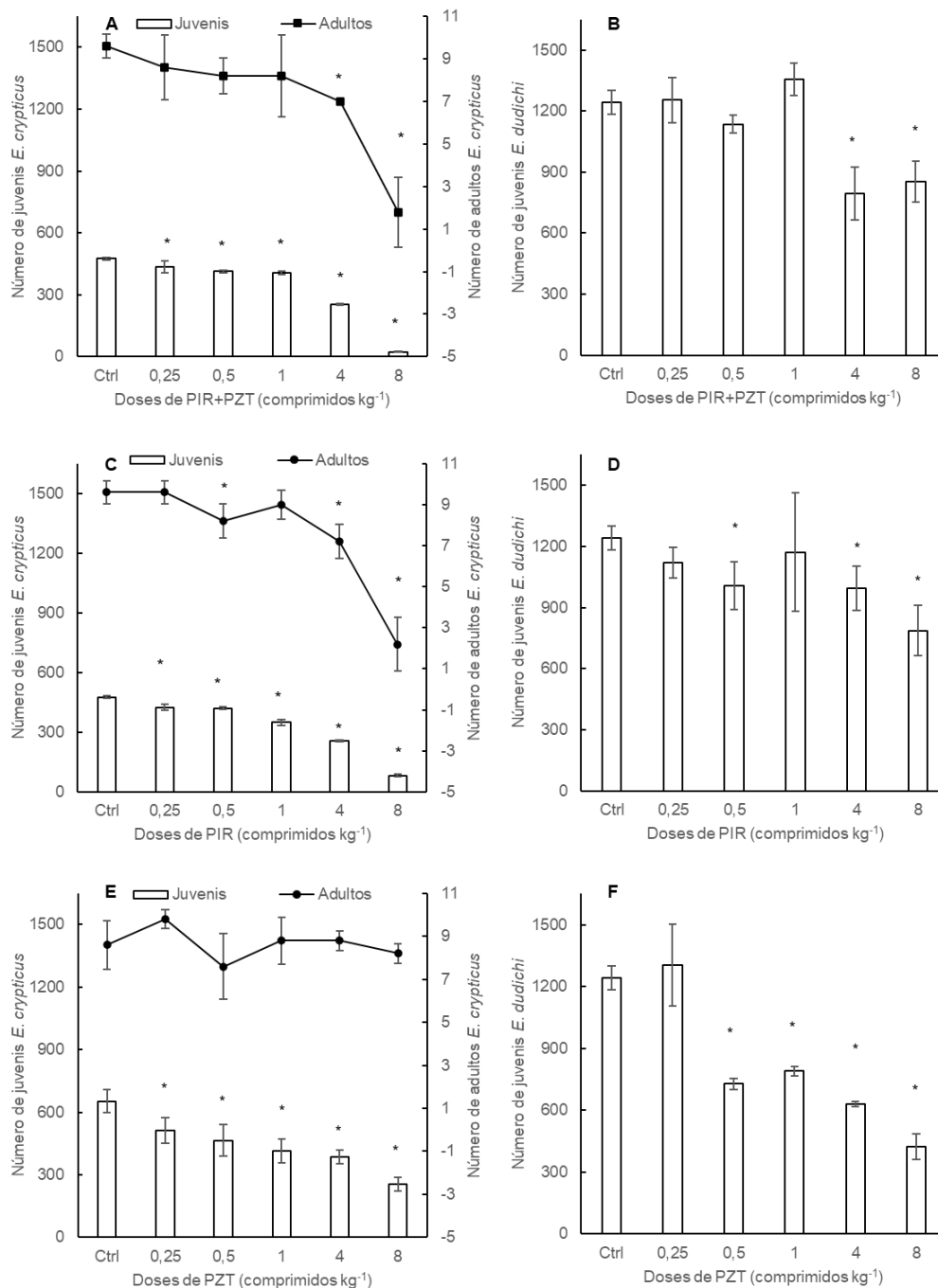
Os testes com enquitreídeos cumpriram os critérios de validação ABNT NBR ISO 16387 (ABNT NBR ISO, 2018), para efeito de poluentes na reprodução para os enquitreídeos. Onde, para os controles, a mortalidade dos adultos no solo não foi superior à 20% para *E. crypticus*. Para a espécie *E. dudichi* utilizadas, o critério de mortalidade de adultos, não foi considerado, uma vez que por ser uma espécie fragmentadora, não havendo a possibilidade da identificação de indivíduos adultos clitelados, a validação se deu pelo critério do número de juvenis ser superior, por réplica e coeficiente de variação inferior à 50%.

Para os indivíduos da espécie *E. crypticus*, o aumento das doses dos anti-helmínticos mostrou efeitos negativos ( $p < 0,05$ ) sobre a sobrevivência desses organismos quando expostos ao Pamoato de Pirantel e o Praziquantel juntos (Figura 5 A) e para o Pamoato de Pirantel (Figura 5 C). Não foi observada letalidade significativa quando testado o Praziquantel (Figura 5 E). Em relação a reprodução de *E. crypticus* foi observado efeito negativo ( $p < 0,05$ ) a partir da primeira dose testada, independente do anti-helmíntico testado (Figura 5 A, C e E).

Os resultados na reprodução de enquitreídeos da espécie *E. dudichi*, mostraram menor sensibilidade em relação à espécie *E. crypticus*, apesar da reprodução ter sido afetada ( $p < 0,05$ ) pela aplicação dos anti-helmínticos (Figura 5). Pode-se observar que na interação dos medicamentos (PIR+PZT) o efeito observado a partir da dose 4 (Figura 5 B). As variações na toxicidade entre as espécies podem ser explicadas pelas diferenças em seus habitats preferenciais, já que algumas delas se desenvolvem em solos com características distintas.

De acordo com Bandow; Coors; Römbke (2013), ao avaliarem a adequação do enquitreídeo fragmentador *E. bigeminus* para testes ecotoxicológicos, constataram que esta espécie apresenta alta tolerância a fatores abióticos, pois está adaptada às condições ambientais de climas mais quentes. Não obstante, a espécie alternativa ter apresentado menor sensibilidade aos anti-helmínticos, é uma espécie fragmentadora, de fácil cultivo em laboratório e presente em solo nacional (NIVA; SCHMELZ; BROWN, 2012).

Figura 5 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de enquitreídeos quando expostos a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados da espécie *E. crypticus* e os gráficos B, D e F a espécie *E. dudichi*. ( $\sigma$ ) desvio-padrão (n = 5). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) one-way ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

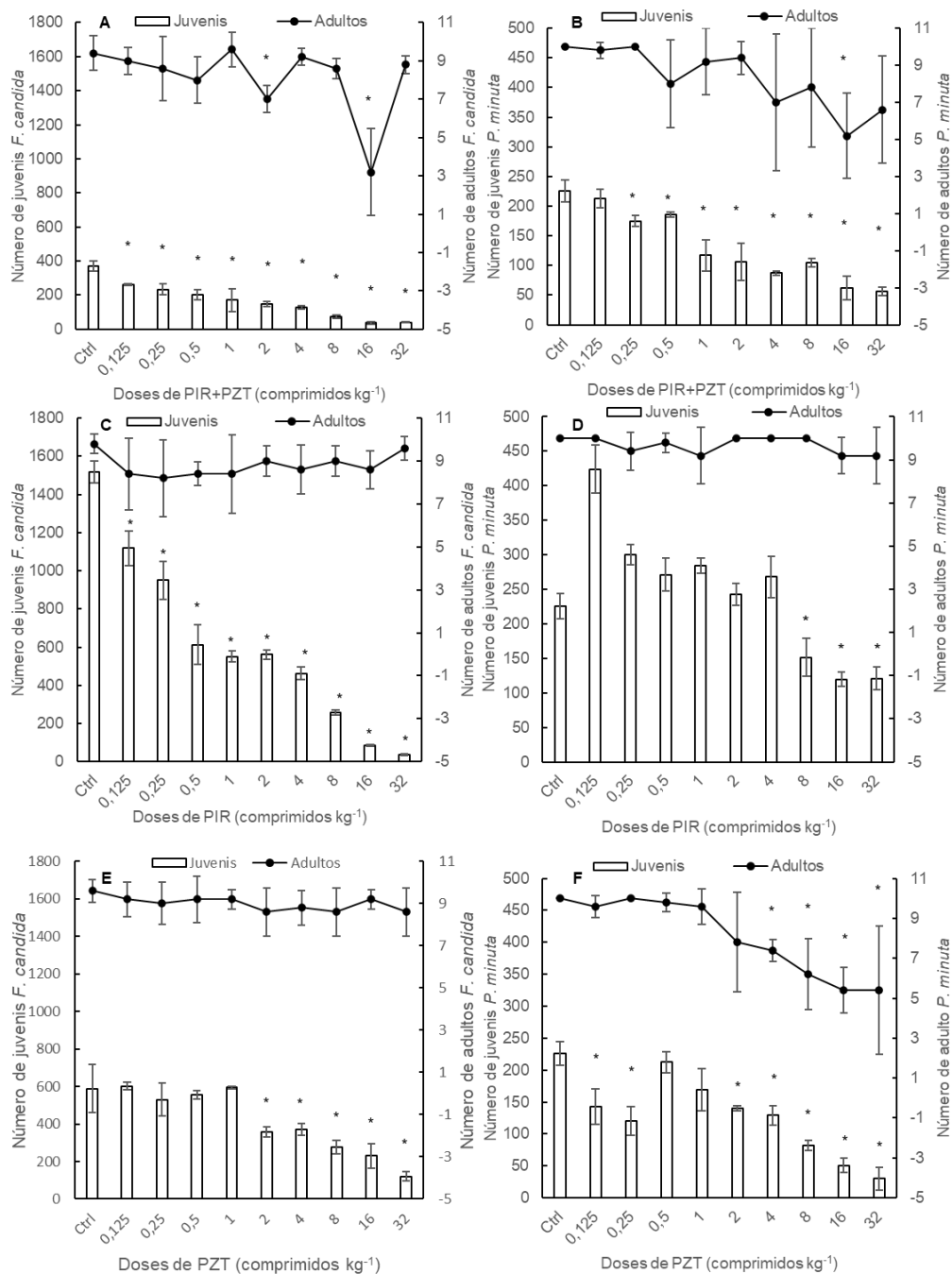
Os testes com colêmbolos das espécies *F. candida* e *P. minuta* atenderam os critérios da normativa ISO 11267-2 (ISO, 2014). A mortalidade dos adultos foi inferior à 20%, o número de juvenis superior a 100 indivíduos para cada repetição e o coeficiente de variação inferior à 30% nos controles.

Os resultados com colêmbolos mostraram diferentes níveis de toxicidade letal em relação ao medicamento e a espécie e estão apresentados na Figura 6. A espécie *F. candida* apresentou letalidade apenas na interação dos anti-helmínticos PIR+PZT (Figura 6 A). A espécie *P. minuta* mostrou maior letalidade ( $p < 0,05$ ) quando exposta ao anti-helmíntico PZT, a partir da dose 4 (Figura 6 F). Em relação a interação PIR+PZT, a espécie *P. minuta* apresentou redução significativa ( $p < 0,05$ ) de indivíduos apenas na dose 16 (Figura 6 B).

O aumento das doses dos anti-helmínticos afetou significativamente ( $p < 0,05$ ) a reprodução de dos colêmbolos independente da espécie testada. Os resultados com a espécie *F. candida* observados, mostraram que a presença do PIR reduziu o número de indivíduos juvenis a partir da primeira dose testada (Figura 6 C), assim como o PIR+PZT (Figura 6 A). Quando exposta ao PZT, o número de indivíduos juvenis diminuiu a partir da dose 2, em relação ao controle (Figura 6 E).

Em relação às espécies, a *F. candida* apresentou maior sensibilidade aos medicamentos, exceto o  $EC_{10}$  do PZT (Tabela 8). Buch *et al.*, (2016) coletaram amostras de solo brasileiro (em uma floresta do Rio de Janeiro) e encontraram as espécies *P. minuta* (presente em 68% das amostras) e *F. candida* (em 2% das amostras) e tiveram sucesso em manter e criar as culturas em laboratório. Ao comparar a sensibilidade e desempenho das espécies para estudos ecotoxicológicos com colêmbolos em solos tropicais, foi observada sensibilidade maior para a espécie *F. candida* (BUCH *et al.*, 2016). Embora tenha sido encontrada em menor quantidade (2%), estudos com medicamentos veterinários apontam a espécie *F. candida* como uma boa espécie bioindicadora para testes ecotoxicológicos, pois apresenta alta sensibilidade aos medicamentos (KOLAR *et al.*, 2008; ZORTÉA *et al.*, 2017, 2018).

Figura 6 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de colêmbolos quando expostos a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados da espécie *F. candida* e os gráficos B, D e F a espécie *P. minuta*. (⊥) desvio-padrão (n = 5). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

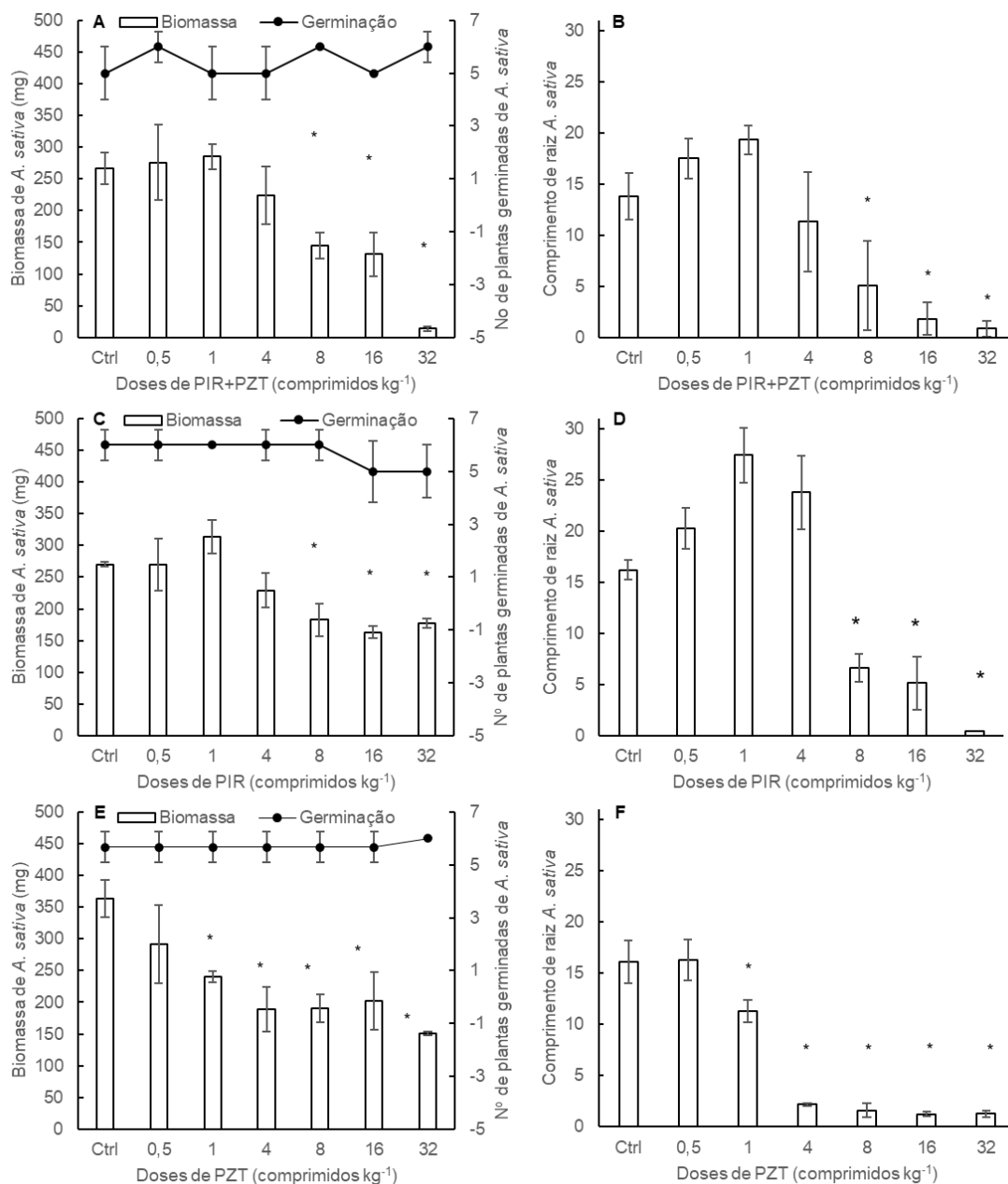
Os resultados obtidos com plantas apresentaram diferentes níveis de toxicidade sobre as espécies testadas. Em relação aos medicamentos presentes no solo, o PZT apresentou maior inibição no crescimento de raiz e na diferença de biomassa (em relação plantas do controle) da *A. sativa* em comparação ao PIR e a interação deles a partir da dose 1 (Figura 7). Foi observada inibição no crescimento de raiz da *A. sativa* a partir da dose 8 tanto no solo contaminado com PIR (Figura 7 D) quanto no solo contaminado com PIR+PZT (Figura 7 B).

Assim como a presença dos medicamentos no solo não afetou significativamente ( $p > 0,05$ ) a germinação do *P. vulgaris* após 7 dias, independente do anti-helmíntico (Figura 8 A, C e E). Porém, o desenvolvimento do *P. vulgaris* ao final de 21 dias, apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na biomassa e no comprimento das raízes em relação as plantas do controle (Figura 8).

O efeito crônico foi observado a partir da dose 1 na biomassa (Figura 8 C) quando exposta ao PIR e, na dose 4 houve a inibição do crescimento de raiz (Figura 8 D). O solo contaminado com o PZT, os efeitos tóxicos crônicos foram observados na primeira dose testada (dose 0,5) tanto na biomassa (Figura 8 E) quanto no crescimento de raiz (Figura 8 F). A toxicidade na biomassa de *P. vulgaris* foi observada a partir da dose 4 (Figura 8 A). Na dose 1 não foi observado efeito significativo ( $p > 0,05$ ) na inibição do crescimento de raiz (Figura 8 B).

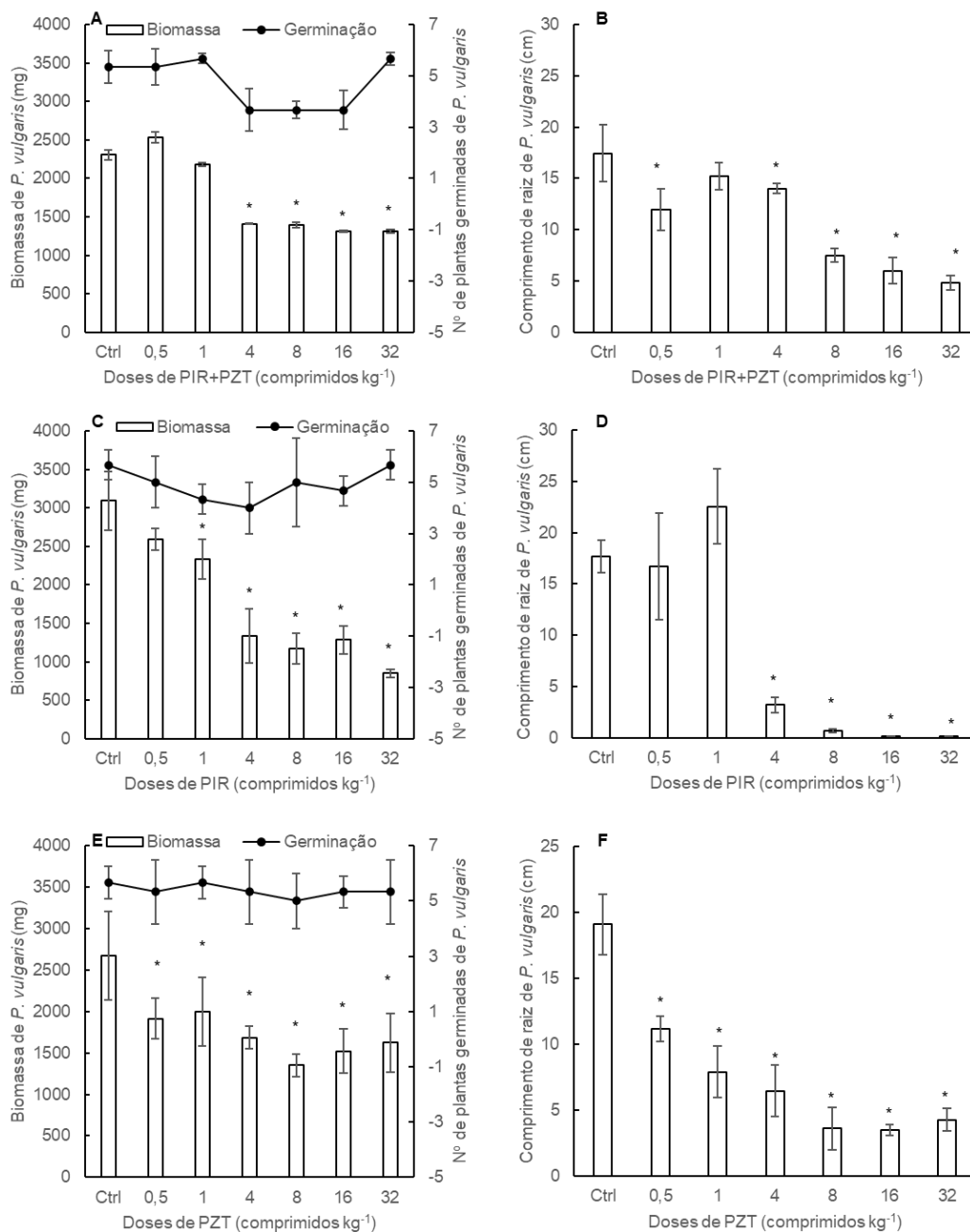
No entanto, a exposição de *D. chinensis* ao solo contaminado com medicamentos, causou efeito tóxico significativo ( $p < 0,05$ ) na germinação e no crescimento das raízes em todos os testes (Figura 9). O solo contaminado com PIR apresentou toxicidade aguda aos 7 dias, a partir da dose 4 (Figura 9, C) e toxicidade crônica aos 21 dias a partir da dose 1 (Figura 9 D). O *D. chinensis* exposto ao solo contaminado com PZT, apresentou toxicidade aguda a partir da dose 8 (Figura 9 E) e toxicidade crônica a partir da primeira dose testada, 0,5 (Figura 9 F). Os resultados obtidos com a interação dos medicamentos PIR+PZT apresentou toxicidade aguda a partir da dose 1 (Figura 9 A) e, toxicidade crônica a partir da dose 4 (Figura 9 B).

Figura 7 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *Avena sativa* quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D e F a inibição do crescimento de raiz. ( $\bar{x}$ ) desvio-padrão (n = 4). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença da biomassa e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

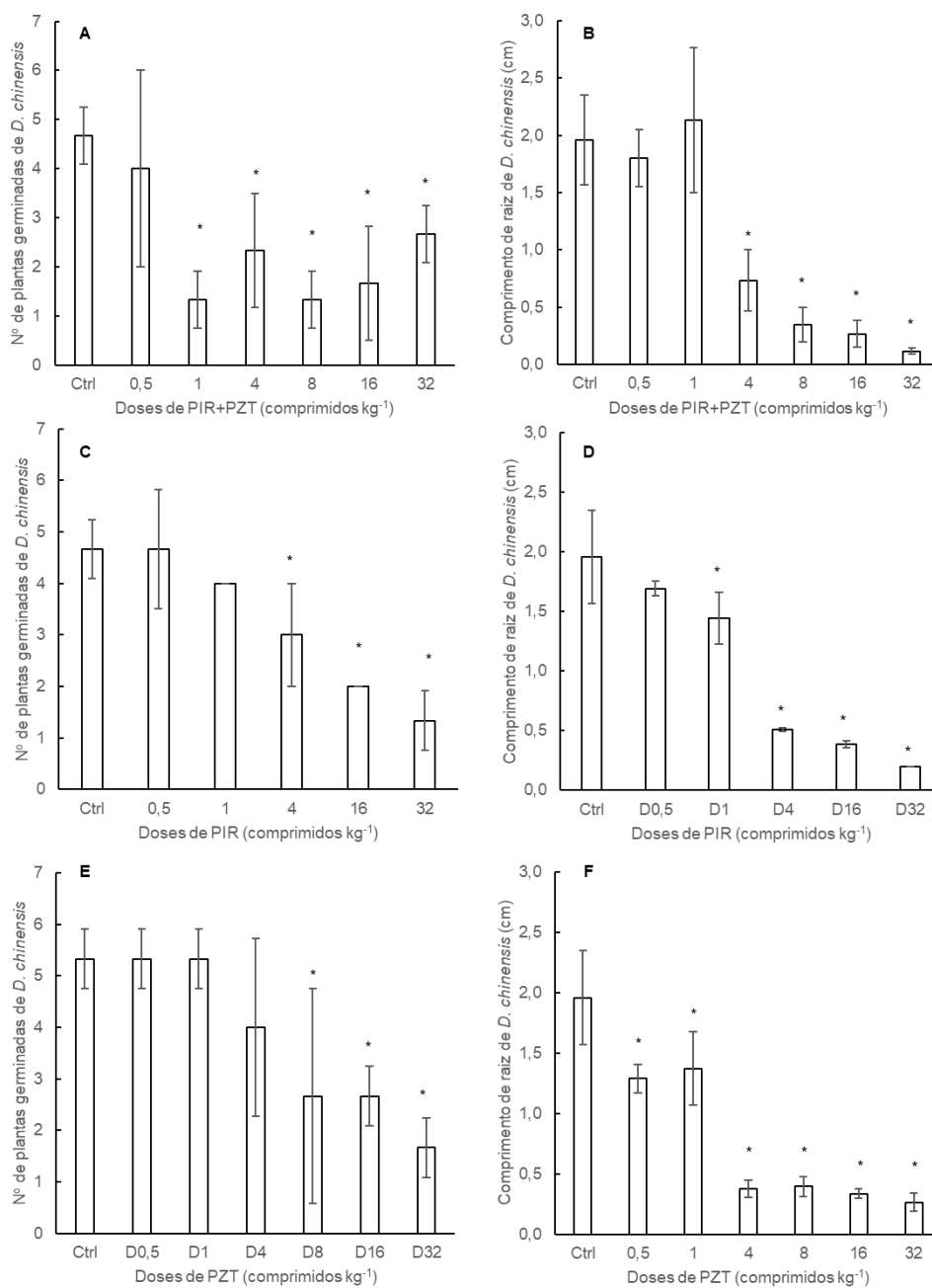
Figura 8 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *Phaseolus vulgaris* quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D e F a inibição do crescimento de raiz. (⊥) desvio-padrão (n = 4). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença da biomassa e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.



Figura 9 – Número de plantas germinadas (Germinação, linhas) e crescimento de raiz (barras) de *Dhiantus chinensis* quando expostas a doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e PIR+PZT em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C e E indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D e F a inibição do crescimento de raiz. (⊎) desvio-padrão (n = 4). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença do número de plantas germinadas e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

A fitotoxicidade potencial de medicamentos veterinários é pouco estudada, embora esse conhecimento auxilie a prever seu impacto na biodiversidade e a melhorar as estratégias de fitorremediação (OROBETS et al., 2019). É importante investigar mais detalhadamente os efeitos a longo prazo dos medicamentos veterinários e seus metabólitos, bem como o comportamento de misturas de outras substâncias químicas nos ecossistemas, para obter informações mais completas sobre o impacto dos medicamentos no meio ambiente (HORVAT, A.J.M. et al., 2012a; MUTAVDŽIĆ PAVLOVIĆ et al., 2022; NAVRÁTILOVÁ et al., 2020).

Marsik; Podlipna; Vanek, (2017) realizara um estudo com intuito de verificar o potencial de fitorremediação do PZT com a planta *Phragmites australis*, relatando que após 21 dias de exposição em um meio aquoso com 20 mg mL<sup>-1</sup> de PZT, a planta não apresentou sinais de toxicidades (i.e., como clorose inibição no crescimento). Além disso, relataram que 90% do medicamento foi extraído pela planta do meio aquoso e foi aferida a presença do medicamento na raiz, no caule e nas folhas apresentado valores muito similares em toda planta (MARSIK; PODLIPNA; VANEK, 2017).

Diferente do que foi observado neste estudo, onde dentre os medicamentos testados, o PZT apresentou maior inibição no crescimento de raiz e na diferença de biomassa da *A. sativa* (Figura 7), *P. vulgaris* (Figura 8), assim como *D. chinensis* (Figura 9). Vale ressaltar que embora o PZT tenha sido usado rotineiramente desde a década de 70, o seu mecanismo de ação preciso ainda não foi identificado (ARAGON et al., 2009; FUKUSHIGE et al., 2021; KÖHLER, 2001; THOMAS; TIMSON, 2018).

Como o esperado, os resultados de toxicidade crônica se mostraram mais sensíveis em relação aos ensaios agudos. Esses ensaios são mais relevantes pois permitem prever impactos sobre os ecossistemas do solo, mostrando perdas de funções biológicas como inibição do crescimento e diminuição da taxa de reprodução, afetando a dinâmica populacional dos organismos do solo ao longo do tempo (DAAM et al., 2019; NIVA et al., 2016; ROSA et al., 2019).

Os valores de concentração efetiva (EC<sub>10</sub> e EC<sub>50</sub>) foram calculados a partir dos resultados de reprodução estimados para as espécies das oligoquetas, colêmbolos e do comprimento de raiz para as plantas. Esses, quando expostos

ao Solo Artificial Tropical contaminado com doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação deles (PIR+PZT) apresentados nas tabelas a seguir (Tabela 8 e Tabela 9).

Tabela 8 - Valores de concentração efetiva  $EC_{10}$  (concentração efetiva que causou redução em 10% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a solo artificial contaminado com doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação deles (PIR+PZT). Valores expressos em mg de ingrediente ativo por quilograma de solo seco ( $mg\ kg^{-1}$ ).

Organismo	PIR+PZT	PIR	PZT
	$EC_{10}\ mg\ kg^{-1}$		
<i>E. andrei</i>	70,0 (50,0-85,0)	21,7 (11,6-30,4)	9,6 (6,1-13,6)
<i>P. excavatus</i>	20,0 (2,0-40,0)	4,3 (0,1-8,7)	12,1 (9,1-14,6)
<i>E. crypticus</i>	935,0 (745,0-1135,0)	7,1 (3,5-10,7)	1,0 (0,9-2,9)
<i>E. dudichi</i>	540,0 (330,0-1480,0)	143,6 (1,9-484,3)	120,2 (34,8-205,0)
<i>F. candida</i>	260,0 (150,0-370,0)	26,1 (17,4-36,2)	168,2 (96,5-239,9)
<i>P. minuta</i>	435,0 (270,0-605,0)	580,0 (66,7-971,5)	60,6 (1,0-123,2)
<i>Avena sativa</i>	1690,0 (245,0-3135,0)	539,4 (47,8-1031,0)	25,2 (13,1-37,4)
<i>P. vulgaris</i>	2510,0 (680,0-4340,0)	39,2 (27,5-107,3)	15,6 (8,6-22,7)
<i>D. chinensis</i>	815,0 (145,0-1485,0)	91,3 (47,8-134,8)	27,8 (12,1-43,9)

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

No presente estudo, os resultados de toxicidade crônica para as espécies alternativas mostraram que de modo geral, a interação dos anti-helmínticos (PIR+PZT) foram mais sensíveis do que as espécies padronizadas (Tabela 8 e Tabela 9). Contudo, o uso de espécies o uso de espécies tropicais e alternativas

para testes ecotoxicológicos com medicamentos veterinários em regiões tropicais deve ser incentivado (BANDEIRA et al., 2021; BANDOW; COORS; RÖMBKE, 2013; NG; CHANABUN; PANHA, 2019).

Tabela 9 - Valores de concentração efetiva  $EC_{50}$  (concentração efetiva que causou redução em 50% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a solo artificial contaminado com doses crescentes dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação deles (PIR+PZT). Valores expressos em mg de ingrediente ativo por quilograma de solo seco ( $mg\ kg^{-1}$ ).

Organismo	PIR+PZT	PIR	PZT
	$EC_{50}\ mg\ kg^{-1}$		
<i>E. andrei</i>	440,0 (385,0-490,0)	71,1 (47,8-94,2)	42,9 (36,4-49,9)
<i>P. excavatus</i>	140,0 (85,0-195,0)	55,1 (36,2-75,4)	28,8 (26,3- 31,3)
<i>E. crypticus</i>	2190,0 (2040,0-2340,0)	533,6 (450,9-617,7)	236,8 (107,1-367,1)
<i>E. dudichi</i>	6045,0 (2705,0-9385,0)	3166,8 (893,2-7226,8)	201,5 (163,1-239,4)
<i>F. candida</i>	610,0 (385,0-830,0)	66,7 (47,8-87,0)	326,7 (221,7-431,4)
<i>P. minuta</i>	740,0 (490,0-990,0)	1435,5 (841,0-2030,0)	385,8 (228,8-542,4)
<i>Avena sativa</i>	3205,0 (2120,0-4290,0)	1206,4 (804,7-1464,5)	76,8 (55,6-97,5)
<i>P. vulgaris</i>	5095,0 (2245,0-7950,0)	323,6 (146,4-388,6)	36,4 (22,7-49,5)
<i>D. chinensis</i>	1775,0 (970,0-2580,0)	281,3 (174,0-388,6)	78,3 (39,4-116,6)

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Assim como encontrado por Goodenough; Webb; Yardley, (2019) os resultados obtidos para os medicamentos PIR e PZT demonstram uma toxicidade espécie específica. Os medicamentos possuem uma característica única, que é a sua capacidade de se ligar especificamente a alvos biológicos e causar uma resposta específica no organismo (MEQUANENT, 2022).

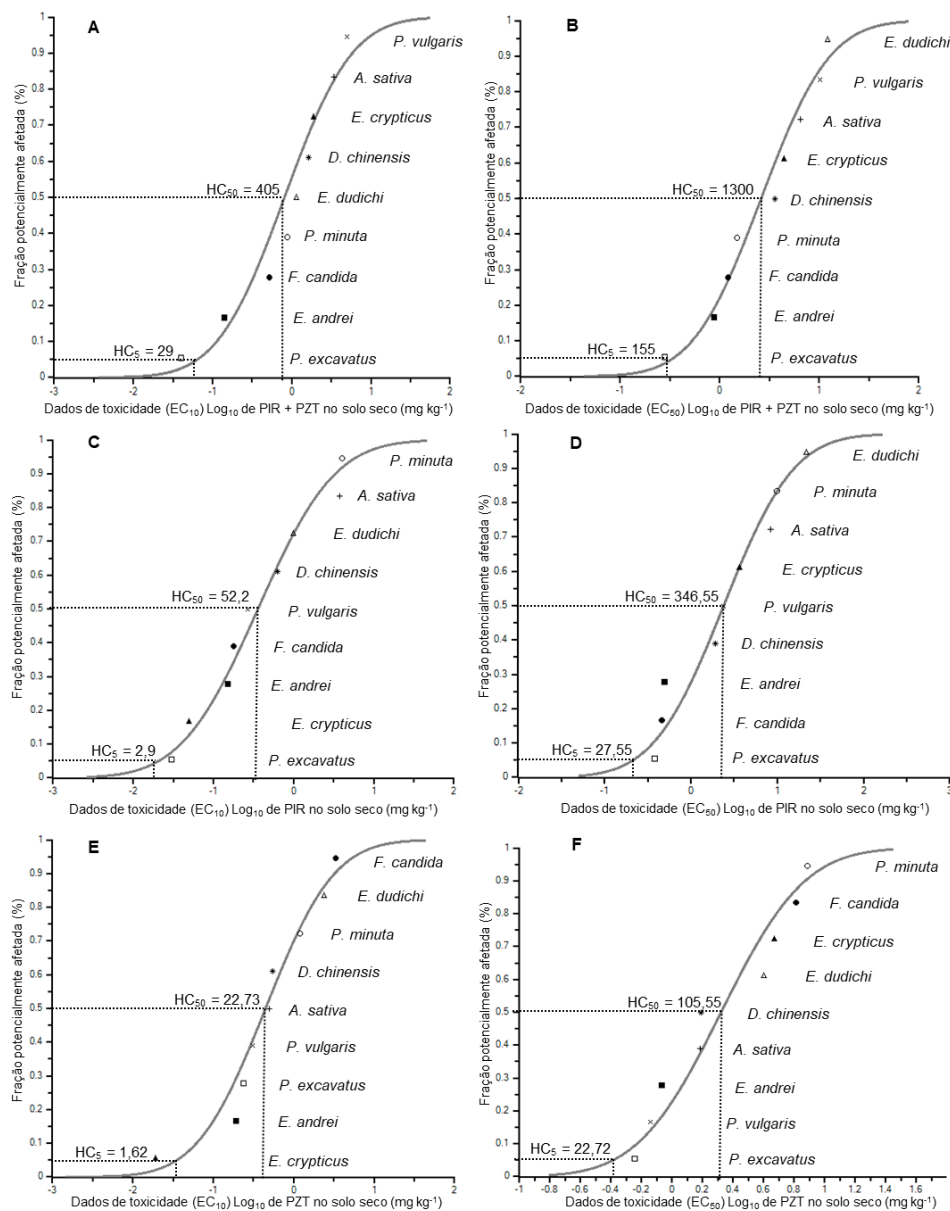
Quando os fármacos são liberados no ambiente, seja na sua forma original ou alterada, eles podem afetar diferentes organismos e compartimentos ambientais (HORVAT, *et al.*, 2012; KAR; ROY; LESZCZYNSKI, 2018). Por essa razão, é importante realizar monitoramento e avaliação dos potenciais efeitos dos fármacos no meio ambiente, para compreender as implicações da sua presença e tomar medidas apropriadas para mitigá-los (ARION *et al.*, 2018; MUTAVDŽIĆ PAVLOVIĆ *et al.*, 2022).

No presente estudo foram observados efeitos tóxicos agudos e crônicos em invertebrados do solo e plantas, na presença dos medicamentos PIR, PZT e a interação deles (PIR+PZT). No entanto, poucos foram os estudos que aferiram a toxicidade com outros organismos e estas moléculas (GOODENOUGH; WEBB; YARDLEY, 2019; HEMPEL *et al.*, 2006; MARSIK; PODLIPNA; VANEK, 2017; RYU *et al.*, 2018). Embora algumas espécies ou grupos taxonômicos possam ser redundantes em termos de suporte a serviços ecossistêmicos (ALEXANDRE *et al.*, 2022; KRAFT *et al.*, 2020, 2022; NIEDERAUER POMPEO *et al.*, 2016; POMPEO *et al.*, 2017), é fundamental compreender os efeitos ecotoxicológicos dos compostos, neste caso PIR e PZT, em um amplo conjunto de espécies ou grupos, que possuem diferentes sensibilidades e exposições.

Dessa forma a SSD é uma ferramenta que utiliza uma distribuição probabilística baseada em conjuntos de dados de toxicidade obtidos a partir de testes laboratoriais com várias espécies, e permite quantificar os riscos ecológicos dos poluentes do ponto de vista do ecossistema, reduzindo a incerteza associada às diferenças específicas das espécies nas respostas à toxicidade e na estimativa de perigo (BELANGER *et al.*, 2017; DEL SIGNORE *et al.*, 2016; FRAMPTON *et al.*, 2006; VAN STRAALLEN, 2002). Nesse sentido, as SSD e os valores de Concentração de Perigo (HC), auxiliam para se obter uma resposta que auxilie a tomada de decisão.

A Figura 10 apresenta as SSDs para o grupo de invertebrados do solo e plantas expostas ao SAT contaminados com os anti-helmínticos PIR, PZT e a interação deles (PIR+PZT) desse estudo. E a Tabela 10 fornece os valores das HC obtidos a partir dos resultados das concentrações efetivas de EC<sub>10</sub> (Figura 10 A, C e E) e EC<sub>50</sub> (Figura 10 B, D e F) de cada espécie testada.

Figura 10 - Curvas de Distribuição da Sensibilidade de Espécies para os anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR), Praziquantel (PZT) e a interação deles (PIR+PZT) em um Solo Artificial Tropical com base nos valores de EC (concentração efetiva que causou redução em 10% ou 50% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento de raiz para as plantas) para diferentes espécies de invertebrados do solo e plantas. O tracejado representa o HC<sub>5</sub>: a concentração de perigo para 5% (eixo y=0,05) das espécies avaliadas e HC<sub>50</sub>: a concentração de perigo para 50% (eixo y=0,5) das espécies avaliadas. Valores expressos em mg de ingrediente ativo por quilograma de solo seco (mg kg<sup>-1</sup>).



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Tabela 10 - Concentrações de perigo (HC, com respectivos intervalos de confiança de 95%) expressas em mg kg<sup>-1</sup> de ingrediente ativo no solo seco para um nível de proteção de 95% e 50% com base nos valores de EC<sub>10</sub> (HC<sub>5</sub> e HC<sub>50</sub>) e EC<sub>50</sub> (HC<sub>5</sub> e HC<sub>50</sub>) estimados através das curvas de Distribuição de Sensibilidade de Espécies (SSD) geradas a partir diferentes espécies de invertebrados do solo e plantas.

	PIR+PZT	PIR	PZT
<b>EC<sub>10</sub></b>			
<b>HC<sub>5</sub></b>	29 (3,5-88)	2,9 (0,29-8,7)	1,62 (0,202-4,9)
<b>HC<sub>50</sub></b>	405 (155-1050)	52,2 (17,4-152,25)	22,73 (8,59-58,58)
<b>EC<sub>50</sub></b>			
<b>HC<sub>5</sub></b>	155 (30-380)	27,55 (4,35-81,2)	22,72 (5,05-39,39)
<b>HC<sub>50</sub></b>	1300 (600-2815)	346,55 (139,2-864,2)	105,55 (57,06-194,93)

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

De modo geral, a espécie que foi mais sensível dentre as curvas geradas neste estudo, foi a *P. excavatus* (Figura 10 A, B, C, D e F) e a menos sensível oscilou entre as espécies *P. vulgaris* e *E. dudichi* com a interação dos medicamentos PIR+PZT (Figura 10 A e B); *P. minuta* e *E. dudichi* para PIR (Figura 10 C e D); e *F. candida* e *P. minuta* para PZT (Figura 10 E e F). De modo que responde a primeira hipótese levantada deste trabalho. Vale ressaltar que, (até onde se tem conhecimento) no Brasil há apenas um trabalho publicado em revista científica, que apresenta as SSDs com invertebrados do solo, onde foi estudado o inseticida clotianidina que é utilizado no tratamento de sementes e age como inseticida (BANDEIRA et al., 2021).

Neste estudo dos dados obtidos com o PIR, indicam que o HC<sub>5</sub>EC<sub>10</sub> é 2,9 (0,29 - 8,7) mg kg<sup>-1</sup> de solo (Tabela 10), foi suficientemente protetivo para todas as espécies testadas quando comparado com os EC<sub>10</sub> (Tabela 8) individualmente de cada espécie. Porém, quando usado HC<sub>50</sub>EC<sub>10</sub> 52,2 (17,4 - 152,25) mg kg<sup>-1</sup> de solo (Tabela 10), comparado com EC<sub>50</sub> (Tabela 8), ele não foi protetivo para cinco das espécies testadas. Goodenough; Webb; Yardley

(2019), estimaram duas possíveis concentrações realistas da presença de pirantel no solo, sendo 79,48 e 397,4 mg kg<sup>-1</sup> de solo. Esta seria a forma mais restritiva, porém pode ser incompatível com a realidade.

Sendo assim, ao observar os valores de HCs provindos dos EC<sub>50</sub>, o valor de HC<sub>5EC<sub>50</sub></sub> obtido foi 27,55 (4,35 - 81,2) mg kg<sup>-1</sup> de solo (Tabela 10), quando comparado com os EC<sub>50</sub> individuais das espécies testadas (Tabela 9), foi passível de proteger todas as espécies. Se comparado com os EC<sub>10</sub> não protegeu quatro espécies (Tabela 8), isto é, o HC<sub>5EC<sub>50</sub></sub> foi mais protetivo que HC<sub>50EC<sub>10</sub></sub> (Tabela 10).

Também foram estimados por Goodenough; Webb; Yardley (2019), dois valores de concentração de PZT no solo, sendo 2,29 e 11,49 mg kg<sup>-1</sup> de solo. O valor obtido de HC<sub>5EC<sub>10</sub></sub> é 1,62 (0,2 - 4,9) mg kg<sup>-1</sup> de solo não foi suficientemente protetivo (comparado com os EC<sub>10</sub> individualmente de cada espécie) apenas para *E. crypticus* (EC<sub>10</sub>=0,95 mg kg<sup>-1</sup> de solo). Porém, quando usado HC<sub>50EC<sub>10</sub></sub> (Tabela 10), comparado com EC<sub>50</sub> (Tabela 9), ele foi protetivo para todas as espécies. Assim como o HC<sub>5EC<sub>50</sub></sub> (Tabela 10), pois a diferença entre os valores de HCs obtidos foi de 0,01. No entanto, neste caso os valores de HC<sub>5EC<sub>10</sub></sub> e HC<sub>50EC<sub>10</sub></sub> (22,73 e 22,72 mg kg<sup>-1</sup> de solo, respectivamente) foram aproximadamente o dobro do maior valor estimado estar presente no solo (GOODENOUGH; WEBB; YARDLEY, 2019).

Os HCs obtidos a partir dos dados de PIR+PZT mostram que o HC<sub>5EC<sub>10</sub></sub> é 29 (3,5 - 88 mg kg<sup>-1</sup> de solo) não foi suficientemente protetivo apenas para a espécie *P. excavatus* (EC<sub>10</sub>=0,95 mg kg<sup>-1</sup> de solo) ao comparar com o EC<sub>10</sub> individualmente de cada espécie. Já o HC<sub>50EC<sub>10</sub></sub> teve um valor menor do que o HC<sub>5EC<sub>50</sub></sub>. Diante disso, por não haver um critério específico para SSDs e HCs, poderia ser sugerido o uso do HC<sub>5E<sub>50</sub></sub> para o PIR e o HC<sub>5E<sub>10</sub></sub> para o PZT, dessa forma seriam valores intermediários e passível de estar mais próximo dos valores que possam ser encontrados no ambiente protegendo a fauna e flora edáfica.

Pôde ser observado que dentre a ordem das espécies mais sensíveis para os mesmos medicamentos, foram diferentes dependendo do parâmetro de avaliação utilizado, isto é, qual EC foi levado em consideração. Esta questão é recorrente em diversos artigos e são variados os critérios para escolha do parâmetro de avaliação na construção das SSDs. Isto é, LC<sub>50</sub> para dados de



toxicidade aguda,  $EC_{10}$  para dados crônicos, entre outros (BANDEIRA et al., 2021; BELANGER et al., 2017; DEL SIGNORE et al., 2016; PRINCZ et al., 2017).

Percebe-se a falta de requisitos regulatórios como: conjunto mínimo de dados (número de espécies na curva), tipo de solo, parâmetro escolhido para a construção das SSDs, uso de dados já existentes, entre outros (SANNI et al., 2017). Com base em comparações entre parâmetros escolhidos derivados de experimentos de semicampo e SSDs baseados experimentos de laboratório, os valores de HCs seriam mais apropriados e então fortaleceria o uso da abordagem SSDs na avaliação de risco (DEL SIGNORE et al., 2016). Tal fato foi constatado por Carniel (2019) em sua tese, na qual demonstrada que os valores de HCs são uma ferramenta passível de ser utilizada como uma etapa intermediária na avaliação de risco ambiental, em que os ensaios de laboratório puderam prever os riscos das etapas seguintes.

A dificuldade e incerteza de estimar/propor valores vai de encontro com a falta de dados de ecotoxicidade de diferentes espécies. Grande parte disso é por falta de um banco de dados devidamente documentado, o que pode-se afirmar ser a necessidade do momento para os ambientalistas (KAR; ROY; LESZCZYNSKI, 2018).

É importante salientar que as propriedades e características de cada tipo de solo, influenciam na disponibilidade dos medicamentos, e quando estão biodisponíveis, influenciam na toxicidade dos contaminantes a fauna e flora presente no solo (BÁRTÍKOVÁ; PODLIPNÁ; SKÁLOVÁ, 2016; HAVLÍKOVÁ; ŠATÍNSKÝ; SOLICH, 2016; MUTAVDŽIĆ PAVLOVIĆ *et al.*, 2022; 2022) sendo necessário avançar os estudos em solos naturais, para assim, determinar o potencial de toxicidade desses compostos ao meio ambiente.

## 4.2 ETAPA 2

A umidade do solo se manteve constante ao longo de todos os testes. A variação do pH entre o início e o final, para todas as doses, foi igual ou inferior à 0,5 para independente do composto orgânico oriundo de fezes de cães testado,

em relação aos controles. Os testes com as espécies avaliadas foram validados conforme os seus respectivos protocolos e/ou adaptações.

Porém os testes realizados com as espécies *E. andrei* e *P. excavatus* foram validados pela ISO 11268 – 2 no critério de número de indivíduos adultos aos 28 dias (ISO, 2015), onde, a mortalidade das adultas foi inferior a 10%. Entretanto, o critério de se obter um número superior à 30 indivíduos juvenis em cada repetição dos controles ao final dos 56 dias não foi atendido. Desta forma, optou-se por avaliar a biomassa aos 28 dias, com o propósito de se obter um parâmetro de avaliação de toxicidade crônica. Lowe & Butt (2007) apontaram em sua revisão sobre minhocas em estudos ecotoxicológicos crônicos, encorajam a adoção de outros protocolos experimentais padrão de determinação de biomassa.

Apesar de poucas pesquisas, há uma preocupação sobre os efeitos da aplicação de medicamentos veterinários aos animais (RODRÍGUEZ; IGLESIAS; DE LA TORRE, 2022), motivos como o retardo na degradação das fezes no ambiente e/ou impacto nos organismos do solo (KOOLS et al., 2008; MACCARI et al., 2016a; RÖMBKE; DUIS, 2018; SEGAT et al., 2015a; ZORTÉA et al., 2017, 2018). Somado à magnitude dos efeitos dos medicamentos veterinários no ambiente, ao passar pelo metabolismo do animal, os efeitos das moléculas podem mudar após a excreção nas fezes (ZORTÉA, 2017). Os efeitos dos medicamentos PIR+PZT presentes nas fezes de cães da raça Beagle (após a passagem pelo metabolismo animal), com ou sem efeito do processo de vermicompostagem, mostraram toxicidades diferentes às espécies testadas, variando o grau de toxicidade entre espécies padronizadas e não padronizadas.

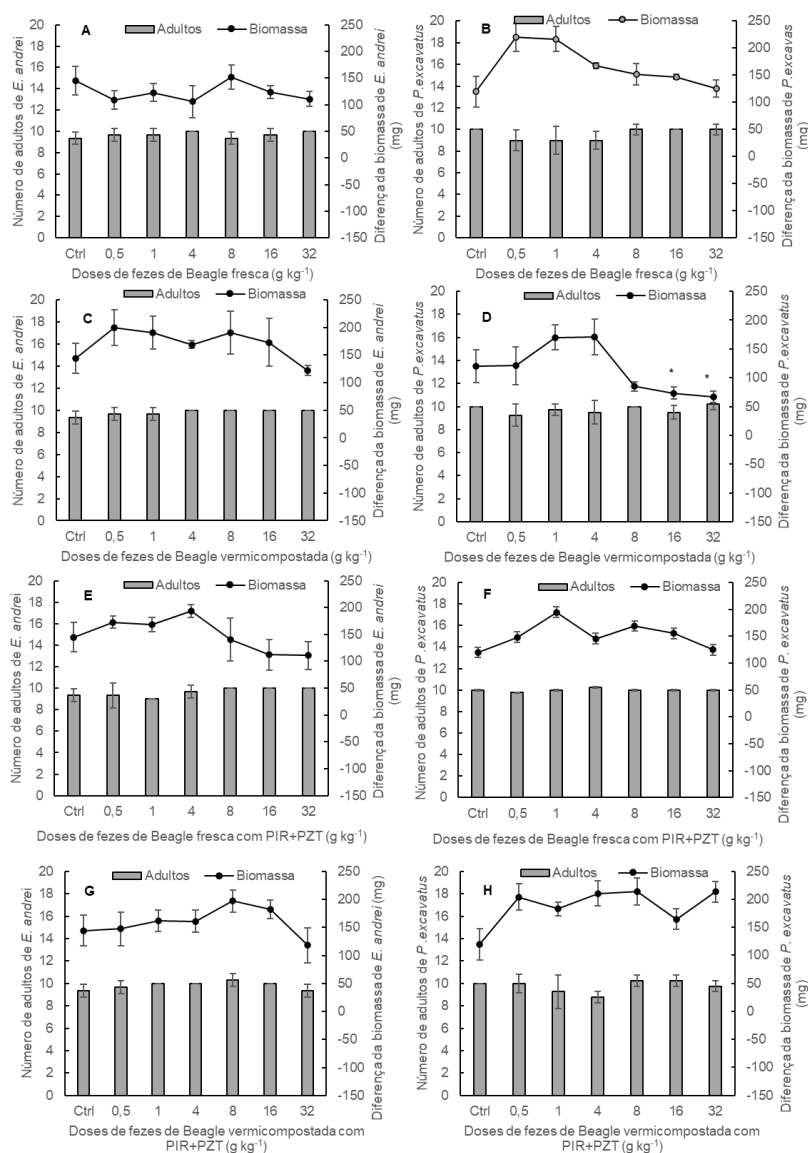
A segunda hipótese desse estudo pressupunha que a presença do PIR+PZT nos compostos orgânicos oriundos de fezes de cães da raça Beagle aplicado no solo testado afetaria negativamente os organismos testados. No presente estudo, a exposição dos invertebrados do solo (5 espécies) e plantas (3 espécies) aos compostos orgânicos oriundos de fezes de Beagle na presença/ausência do PIR+PTZ em SAT, não apresentou efeitos negativos significativos apenas para as minhocas (Figura 11 E, F, G e H) confirmando parcialmente a segunda hipótese.

Nos testes com os quatro compostos orgânicos oriundo de fezes de cães da raça Beagle, as minhocas da espécie *E. andrei* não apresentaram efeito letal e variação na diferença da biomassa significativos ( $p > 0,05$ ) em relação ao controle (Figura 11 A, C, E e G). Os resultados para a espécie *P. excavatus* para a taxa de letalidade das minhocas não variou significativamente ( $p > 0,05$ ) para nenhum dos compostos orgânicos testados (Figura 11 B, D, F e H). No entanto, foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na diferença da biomassa quando exposta ao composto de fezes de Beagle vermicompostada, a partir da dose 16 (Figura 11 D).

No entanto, o parâmetro de avaliação utilizado como resposta, foi a diferença da biomassa dos organismos e não o número de juvenis gerados. Conforme descrito por Lowe & Butt (2007), apesar de que as minhocas sejam distribuídas de maneira uniforme entre os tratamentos em relação à massa, a massa individual tem um impacto significativo nos resultados. Há uma tendência onde as minhocas com menor massa apresentem um aumento na biomassa, enquanto aquelas com maior massa não sofram alterações ou diminuem (LOWE; BUTT, 2007). Neste estudo, foi observada diferença na biomassa apenas para a espécie *P. excavatus* na presença do vermicomposto de fezes de Beagle (FBV) a partir da dose 16 (Figura 11 D).

Nos testes com enquitreídeos da espécie *E. crypticus* em relação a letalidade não houve efeito significativo ( $p > 0,05$ ) diante da exposição aos compostos orgânicos oriundos das fezes de cães da raça Beagle (Figura 12 A, C, E e G). Em relação a reprodução de *E. crypticus*, não foi observado efeito significativo ( $p > 0,05$ ) ao aumento das doses dos compostos orgânicos oriundos de fezes caninas apenas quando expostos as Fezes de Beagle Fresca com PIR+PZT (Figura 12 E). A espécie *E. dudichi* apresentou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) em relação a reprodução quando exposta aos compostos orgânicos vermicompostado, seja na presença dos anti-helmínticos (Figura 12 D) ou na ausência deles (Figura 12 H) na maior dose testada.

Figura 11 - Sobrevivência (linhas) e diferença da biomassa (barras) de minhocas quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (PIR+PZT); em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados da espécie *E. andrei* e os gráficos B, D, F e H a espécie *P. excavatus*. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para média na diferença da biomassa de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

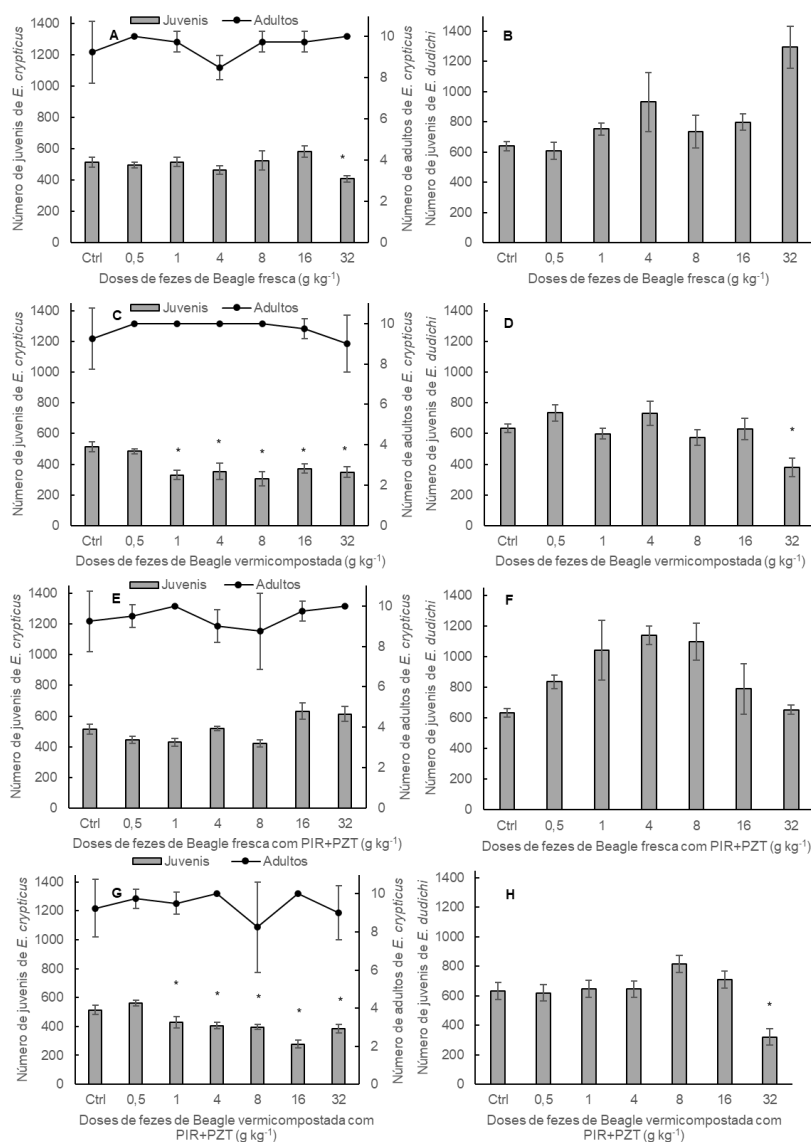
Diferentemente dos resultados obtidos com *F. candida*, onde o processo de vermicompostagem (quando observada apenas o efeito das doses testadas), contribuiu para reduzir os efeitos dos compostos orgânicos oriundos de fezes de Beagle (Figura 13). Efeito este também observado em outros estudos onde foram compararam os efeitos dos processos da compostagem e não estabilização dos compostos orgânicos sobre *F. candida*, resultando menores efeitos tóxicos em resíduos compostados (DOMENE *et al.*, 2008; MACCARI, 2018; RENAUD *et al.*, 2017).

Os resultados obtidos com os colêmbolos da espécie *Folsomia candida*, ao serem expostos aos compostos orgânicos oriundos de fezes de Beagle, revelaram diferentes toxicidade ( $p < 0,05$ ). No solo contaminado com Fezes de Beagle Fresca, apresentou redução ( $p < 0,05$ ) na letalidade nas doses 16 e 32 de Fezes de Beagle Fresca (Figura 13 A).

Sobre a reprodução dos colêmbolos, a redução significativa ( $p < 0,05$ ) foi observada a partir da primeira dose testada com as Fezes de Beagle Fresca (Figura 13 A). Por outro lado, quando expostos a doses crescentes de Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com PIR+PZT, não foi observado redução significativa ( $p > 0,05$ ) em relação a letalidade (Figura 13 B). Porém, foi observada redução significativa ( $p < 0,05$ ) na reprodução dos colêmbolos a partir da primeira dose testada 0,5 de Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com PIR+PZT (Figura 13 B).

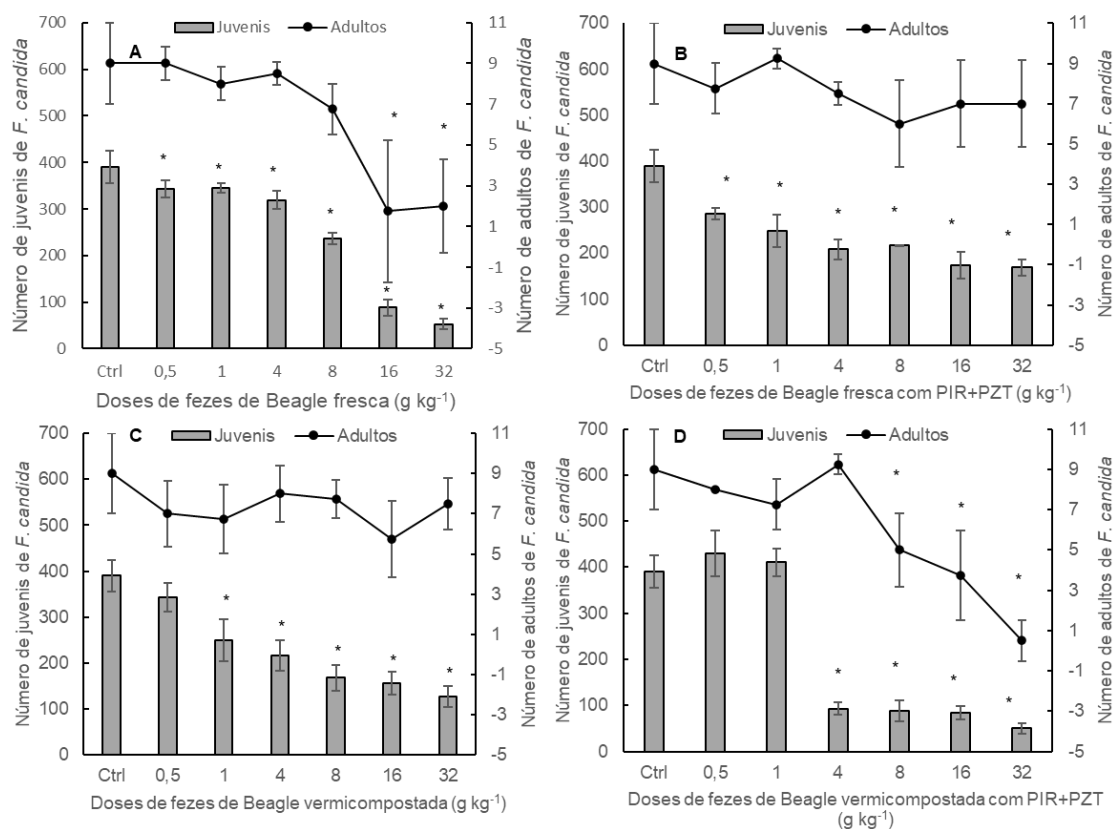
Quando expostos ao solo contaminado com vermicomposto oriundo de fezes de Beagle, não foi observado diferença significativa sobre a letalidade ( $p > 0,05$ ), no entanto houve redução significativa ( $p < 0,05$ ) em relação a reprodução a partir da segunda dose testada (Figura 13 C). Em relação a exposição ao composto orgânico com fezes de Beagle vermicompostada de animais tratados com PIR+PZT, os colêmbolos apresentaram redução significativa ( $p < 0,05$ ) na letalidade a partir da dose 8 e a reprodução a partir da dose 4 (Figura 13 D).

Figura 12 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de enquitreídeos quando expostos a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados da espécie *E. crypticus* e os gráficos B, D, F e H a espécie *E. dudichi*. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 13 - Sobrevivência (linhas) e reprodução (barras) de colêmbolos da espécie *F. candida* quando expostos a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (A); Fezes de Beagle Vermicompostada (C); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (B); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (D); em Solo Artificial Tropical. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio de juvenis e número médio de adultos ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

No presente estudo pode-se observar que o composto orgânico oriundo de Fezes de Beagle vermicompostada com PIR+PZT afetou o crescimento de raiz das três espécies de plantas a partir da primeira dose testada (*A. sativa* Figura 14 H; *P. vulgaris* Figura 15 H; *D. chinensis* Figura 16 H). Em relação aos

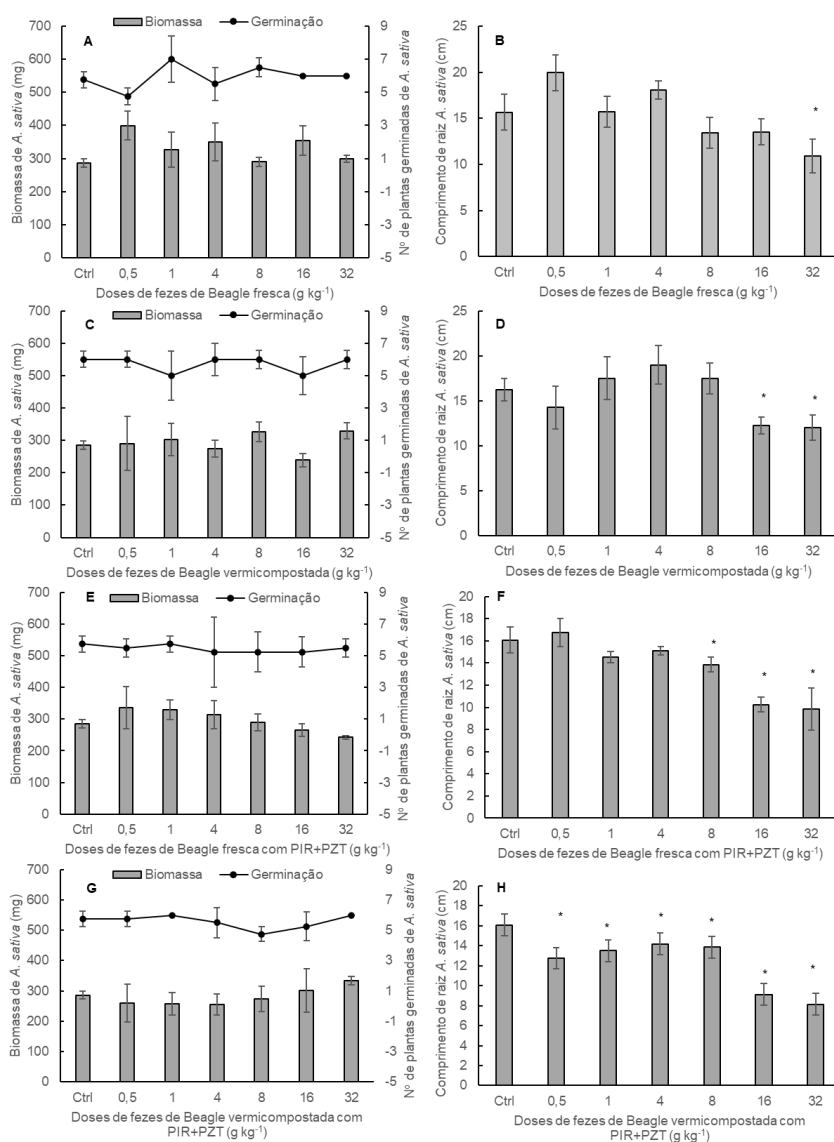
valores dos ECs encontrados para os compostos orgânicos, apenas foi possível determinar todos os valores de EC<sub>50</sub> da espécie *A. sativa* (Tabela 11). Dentre eles pôde ser observado que a presença do PIR+PZT nos compostos orgânicos apresentaram os menores valores (Tabela 11).

A germinação da *A. sativa* após 7 dias e a biomassa (massa seca) aos 21 dias, não foram afetadas significativamente ( $p > 0,05$ ) pela presença dos diferentes compostos orgânicos no solo (Figura 14 A, C, E e G). No entanto, em relação comprimento de raiz ao final de 21 dias, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação as plantas do controle (Figura 14 B, D, F e H). O crescimento de raiz de *A. sativa* quando exposta as Fezes de Beagle Fresca, apresentou toxicidade apenas na última dose (Figura 14 B). Quando exposta ao solo contaminado com vermicomposto de fezes de Beagle, apresentou toxicidade a partir da dose 16 (Figura 14, D). À exposição das fezes de Beagle frescas tratados com os anti-helmínticos inibiu o crescimento das raízes a partir da dose 8 (Figura 14 F). Na presença do vermicomposto oriundo de Beagle tratados com PIR+PZT, apresentou toxicidade ao crescimento de raiz de *A. sativa* a partir da primeira dose testada (Figura 14 H).

A germinação da *P. vulgaris* após 7 dias não foi afetada significativamente ( $p > 0,05$ ) pela presença dos diferentes compostos orgânicos no solo (Figura 15 A, C, E e G). Quando avaliada a biomassa (massa seca) aos 21 dias, foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) apenas nas fezes de Beagle tratadas com PIR+PZT (Figura 15 A e E). Em relação ao crescimento de raiz de *P. vulgaris* quando exposta as Fezes de Beagle Fresca, foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) a partir da dose de 8. Quando exposta ao solo contaminado com vermicomposto de fezes de Beagle, apresentou toxicidade a partir da dose 16 (Figura 14 D). A exposição as fezes frescas de Beagle tratados com os anti-helmínticos inibiu o crescimento das raízes apenas na dose 8 (Figura 14 F). Na presença do vermicomposto oriundo de Beagles tratados com PIR+PZT, apresentou toxicidade ao crescimento de raiz de *P. vulgaris*, a partir da primeira dose testada (Figura 14 H).

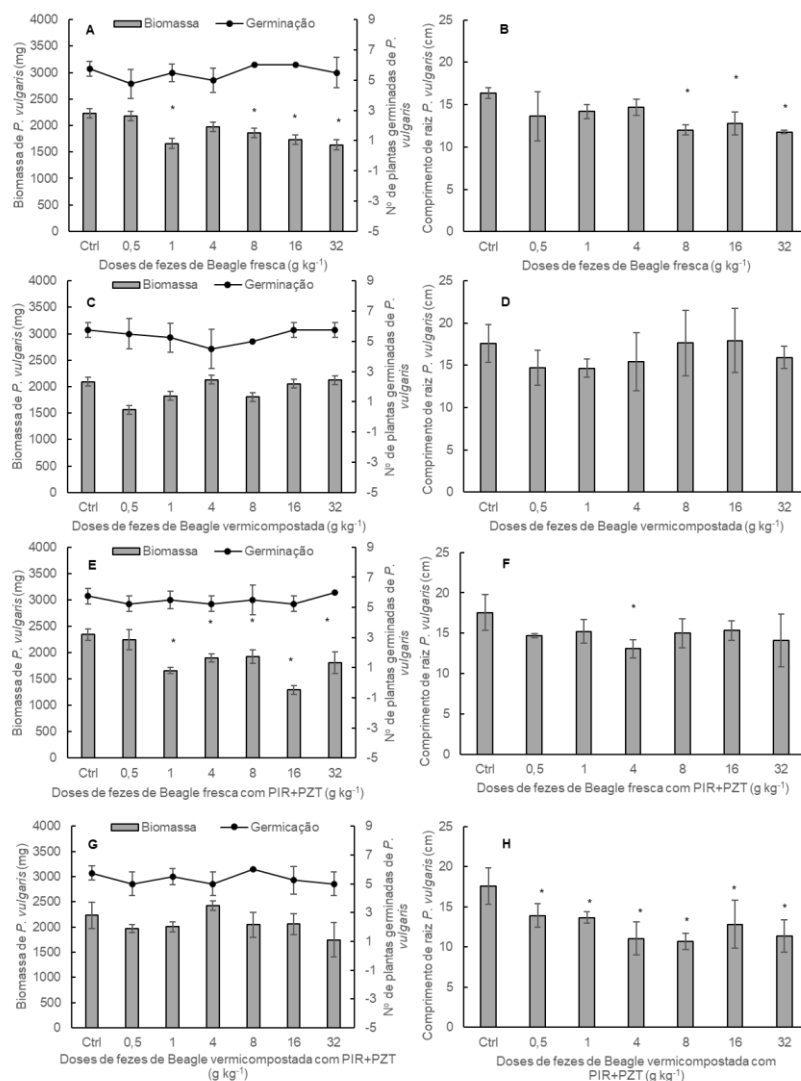


Figura 14 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *Avena sativa* quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D, F e H a inibição do crescimento de raiz. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio do comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



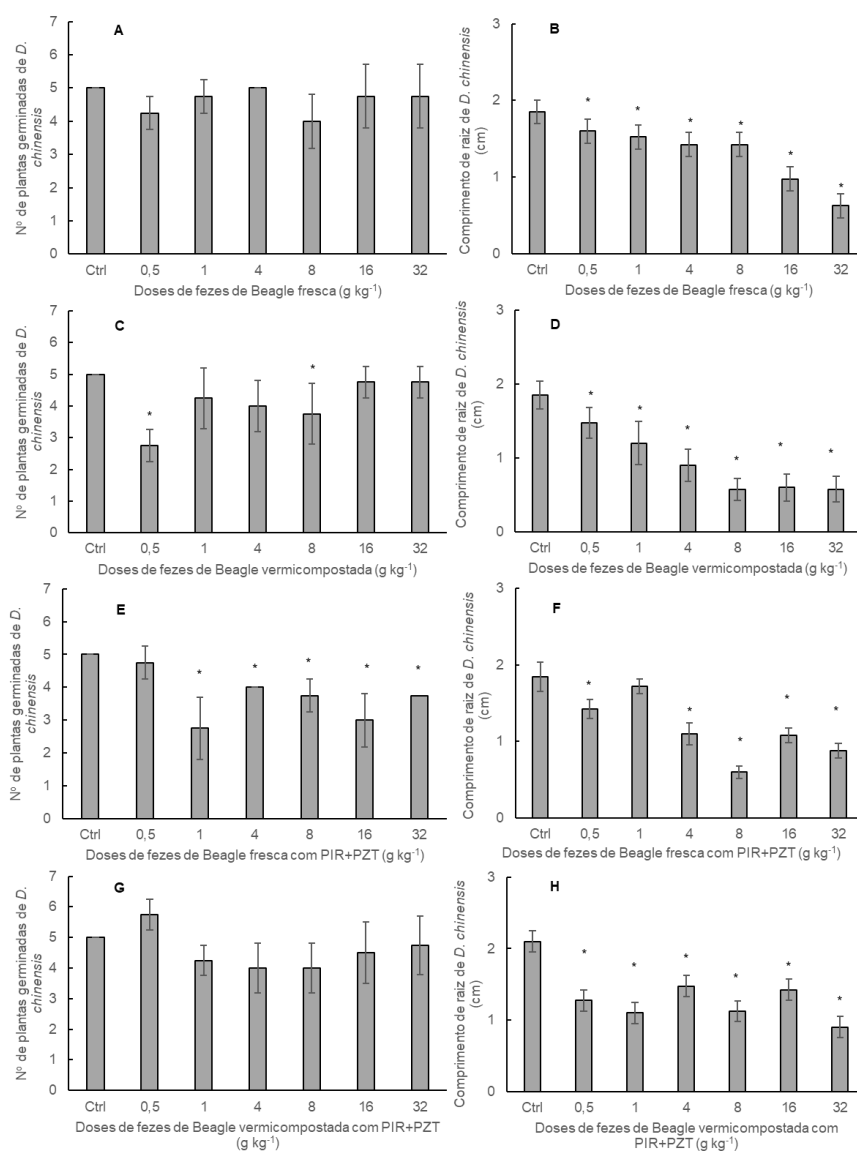
Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 15 - Germinação (linhas) e, biomassa e crescimento de raiz (barras) de *P. vulgaris* quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados de germinação e biomassa e os gráficos B, D, F e H a inibição do crescimento de raiz. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\top$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença da biomassa e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 16 - Germinação (linhas) e crescimento de raiz (barras) de *D. chinensis* quando expostas a doses crescentes tipos de materiais orgânicos: Fezes de Beagle Fresca; Fezes de Beagle Vermicompostada; Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; em Solo Artificial Tropical. Os gráficos A, C, E e G indicam os resultados de germinação e os gráficos B, D, F e H a inibição do crescimento de raiz. Valores expressos em gramas de composto orgânico por quilograma de solo seco ( $\text{g kg}^{-1}$ ). ( $\bar{\tau}$ ) desvio-padrão ( $n = 4$ ). Asteriscos (\*) indicam diferença significativa para número médio da diferença do número de plantas germinadas e comprimento de raiz ( $p < 0,05$ ) *one-way* ANOVA seguido de teste de Dunnett.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

A germinação da *D. chinensis* após 7 dias não foi afetada significativamente ( $p > 0,05$ ) pela presença dos compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca e fezes de Beagle vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel no solo (Figura 16 A e G). Na presença de fezes de Beagle vermicompostada foi observada redução no número de plantas germinadas ( $p < 0,5$ ) nas doses 0,5 (Figura 16 C). Também houve redução na germinação de plantas expostas ao composto que continha fezes de Beagle tratadas com PIR+PZT a partir da dose 1 (Figura 16 E). Quando avaliada o comprimento de raiz aos 21 dias, foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em todos os compostos testados a partir da primeira dose testada (Figura 16 B, D, F e H).

Os valores de concentração efetiva ( $EC_{10}$  e  $EC_{50}$ ) foram calculados a partir dos resultados na diferença da biomassa de minhocas, reprodução para enquitreídeos e colêmbolos e, do comprimento de raiz para as plantas. Esses, quando expostos ao Solo Artificial Tropical contaminado com doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel; Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel. Os cálculos foram realizados com base nas doses (Tabela 6). Os resultados de  $EC_{10}$  e  $EC_{50}$  se encontram na Tabela 11.

Um dos objetivos do presente estudo foi avaliar se o tratamento de vermicompostagem das fezes de Beagle afetaria a composição química dos compostos orgânicos e a sua toxicidade para os organismos edáficos. Ao contrário do que era esperado, as fezes vermicompostadas foram de modo geral mais tóxicas que as fezes frescas. Esses resultados divergem dos relatados em outros estudos, os quais apresentam resultados de menor toxicidade nos compostos orgânicos que passaram por algum processo de tratamento e/ou estabilização sobre os organismos edáficos (DOMENE *et al.*, 2008; MACCARI *et al.*, 2020).

Em relação a alteração dos parâmetros físico-químicos dos compostos orgânicos após passarem pelo processo de vermicompostagem, pôde-se observar diferenças contrastantes na presença do PIR+PZT nos compostos

oriundos de fezes de Beagle. Na ausência do PIR+PZT, foi observado um aumento em todos os parâmetros físico-químicos avaliados e o efeito oposto ocorreu na presença do PIR+PZT (Tabela 5). Em relação ao comportamento do PZT no ambiente, em cinco diferentes solos testados foi observado uma correlação positiva em solos com maior teor de argila e uma correlação negativa com o Fe e o Mn, e não apresentou mudança na com o aumento da matéria orgânica nos solos (MUTAVDŽIĆ PAVLOVIĆ *et al.*, 2022b, 2022a).

Tabela 11 - Valores de concentração efetiva EC<sub>10</sub> e EC<sub>50</sub> (concentração efetiva que causou redução em 10% e 50% na biomassa de minhocas, reprodução de enquitreídeos e colêmbolos e, de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a doses crescentes de compostos orgânicos: Fezes de Beagle Fresca (FBF); Fezes de Beagle Vermicompostada (FBV); Fezes de Beagle Fresca de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBPP); Fezes de Beagle Vermicompostada de animais tratados com Pamoato de Pirantel+Praziquantel (FBVPP); em Solo Artificial Tropical.

Espécie	FBF	FBV	FBPP	FBVPP
<i>E. andrei</i>	> 32,0	> 32,0	> 32,0	> 32,0
<i>P. excavatus</i>	> 32,0	19,9 (6,8-32,9)	> 32,0	> 32,0
<i>E. crypticus</i>	não foi possível calcular	não foi possível calcular	> 32,0	não foi possível calcular
<i>E. dudichi</i>	> 32,0	34,7 (28,9-40,6)	> 32,0	32,6 (29,0-36,1)
<i>F. candida</i>	10,4 (9,9-11,6)	5,5 (2,0-9,0)	Não foi possível calcular	2,9 (2,1-3,6)
<i>A. sativa</i>	45,7 (17,1-74,3)	47,5 (12,9-80,0)	40,9 (26,1-55,7)	34,1 (23,1-45,2)
<i>P. vulgaris</i>	não foi possível calcular	> 32,0	não foi possível calcular	não foi possível calcular
<i>D. chinensis</i>	22,0 (16,4-27,6)	2,6 (1,1-4,1)	12,4 (0,6-24,3)	não foi possível calcular

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Apesar disso, os resultados deste estudo apontam para a importância de tratamentos de estabilização, como a vermicompostagem, antes do uso de resíduos orgânicos nos solos, pois ao longo do tempo foi verificada a diminuição da presença dos medicamentos do vermicomposto de fezes de Beagle (Tabela 12). Além disso, foi observado que essas substâncias podem afetar negativamente a qualidade do solo e a saúde dos organismos presentes nele. Uma vez que diferentes valores de concentração efetiva foram encontrados para as diferentes espécies de invertebrados do solo. Ressaltando a importância da utilização de mais de uma espécie indicadora para a avaliação da toxicidade de um contaminante (DOMENE *et al.*, 2008; MACCARI, 2018; RENAUD *et al.*, 2017). Adicionalmente, sugere-se a realização da avaliação dos compostos orgânicos em diferentes condições ambientais e em diferentes classes de solo.

Tabela 12 - Alteração dos ingredientes ativos do medicamento ao longo do processo de reciclagem das fezes de Beagle em relação ao tempo. Local das fezes no momento da coleta (Fase), dose real encontrada nas fezes controle e nas fezes de animais tratados com Pamoato de Pirantel (PIR) + Praziquantel (PZT).

Tempo de transformação das moléculas	Fase	Dose real em mg kg <sup>-1</sup> do PIR		Dose real em mg kg <sup>-1</sup> do PZT	
		Fezes Controle	Fezes PIR+PZT	Fezes Controle	Fezes PIR+PZT
Quantidade fornecida	No medicamento	-	145	-	50,5
Dia 1°	Fezes frescas	0	52,7 ± 4,8	0	37,1 ± 4
Dia 24°	Compostagem	0	39,1 ± 5,2	0	25,2 ± 3,7
Dia 56°	Transição da compostagem para vermicompostagem	0	33,7 ± 4,5	0	17,03 ± 3,2
Dia 72°	Vermicomposto final	0	19,2 ± 3,0	0	12,2 ± 3,4

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

### 4.3 ETAPA 3

Se sabe que a forma de entrada de medicamentos veterinários no ambiente é muito complexa, por causa dos diferentes padrões de uso dos produtos podendo ser direta ou indiretamente (OLIVEIRA et al., 2009). Duas das formas de entrada dos medicamentos são: animais criados livres com emissões diretas para o solo e águas superficiais via excreção de fezes e urina e, com a dispersão no solo através de aplicação de fertilizantes orgânicos oriundo de dejetos/resíduos de animais (DAUGHTON, 2013; MACCARI et al., 2016b, 2022; SEGAT et al., 2015; TESTA et al., 2020; ZORTÉA et al., 2021).

A segunda hipótese levantada no presente estudo foi que o vermicomposto oriundo de fezes de cães no solo testado afetaria negativamente a sobrevivência, reprodução de invertebrados do solo e a germinação e o crescimento de plantas. Tal hipótese foi confirmada para todos os organismos testados exceto a espécie *E. dudichi* que não apresentou efeitos negativos perante a presença do vermicomposto independente da dose testada.

Os valores de concentração efetiva ( $EC_{10}$  e  $EC_{50}$ ) foram calculados a partir dos resultados na reprodução de oligoquetas e colêmbolos e, do comprimento de raiz para as plantas. Esses, quando expostos ao SAT contaminado com doses crescentes de FCV. Os cálculos foram realizados com base nas doses (Tabela 7). Os resultados de  $EC_{10}$  e  $EC_{50}$  se encontram na Tabela 13.

No presente estudo pôde-se observar que em relação aos  $EC_{50}$  a ordem crescente de sensibilidade das espécies foi *F. candida* > *P. excavatus* > *A. sativa* > *E. crypticus* > *E. andrei* > *D. chinensis*. Uma das explicações para isto ocorrer, pode ser devido às diferentes vias de exposição de cada espécie. Fato que ressalta a necessidade do uso de espécies de diferentes níveis tróficos e parâmetros ecofisiológicos para avaliação de contaminantes (DE MENEZES OLIVEIRA; DE OLIVEIRA BIANCHI; ESPÍNDOLA, 2018; MACCARI et al., 2020; SEGAT et al., 2015b; ZORTÉA, T. et al., 2021).

Tabela 13 - Valores de concentração efetiva (EC - concentração efetiva que causou redução em 10% ou 50% na reprodução de espécies de oligoquetas, colêmbolos e de comprimento de raiz para as plantas), quando expostas a doses crescentes de fezes canina vermicompostada (FCV).

Espécie	FCV	
	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>
<i>E. andrei</i>	26,4 (11,6-41,1)	71,7 (35,7-107,7)
<i>P. excavatus</i>	7,7 (0,2-15,2)	38,6 (23,3-53,9)
<i>E. crypticus</i>	não foi possível calcular	66,6 (28,3-283,5)
<i>E. dudichi</i>	> 64,0	>64,0
<i>F. candida</i>	<0,2	<0,2
<i>A. sativa</i>	2,9 (2,4-8,3)	60,2 (32,9-87,6)
<i>P. vulgaris</i>	não foi possível calcular	não foi possível calcular
<i>D. chinensis</i>	11,3 (1,7-20,9)	98,1 (60,8-135,3)

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Os resultados obtidos para verificar se as FCV é um composto orgânico com potencial uso como fertilizante orgânico, no que se refere às concentrações máximas admitidas pelas instruções normativas nº 61 (BRASIL, 2020) e nº 27 do MAPA (BRASIL, 2016), encontram-se na Tabela 14. A umidade máxima permitida para comercialização de fertilizantes orgânicos (i.a. 50%) não foi atendida no FCV, em que se excedeu em 6,19%. O teor mínimo total dos nutrientes potássio (i.e. 0,5%), magnésio (i.e. 0,14%), cobre (i.e. 0,014%), e zinco (i.e. 0,083%), também não atenderam os valores preconizados pela IN nº 61/2020 (BRASIL, 2020). Em relação aos requisitos de concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos patogênicos ao homem, animais e plantas e metais pesados tóxicos, todos foram atendidos (BRASIL, 2020).

Assim como neste estudo, Flores et al. (2015) avaliaram a introdução de fezes caninas em um processo de compostagem de pequena escala (em baldes). Desta forma constataram que a adição dos dejetos não interferiu no processo de maturação dos compostos (relação C/N) e não foi observada presença de *Salmonella* sp. e ovos de helmintos em nenhum dos compostos gerados (FLORES et al., 2015). Além disso, Flores et al. (2015), demonstraram



que a utilização de dejetos caninos em sistemas de compostagem doméstica de pequena escala é uma alternativa viável para o tratamento deste resíduo no local de sua geração.

Ademais, os resultados obtidos abrangem dados inéditos com os contaminantes testados, além de testar espécies alternativas às aquelas propostas pelos protocolos ISO e ABNT, incluindo espécie de clima tropical (i.e. *P. excavatus*), espécies encontradas em solos brasileiros como *E. dudichi*, *F. candida* e *P. minuta* (BUCH *et al.*, 2016; NIVA; SCHMELZ; BROWN, 2012; SCHMELZ *et al.*, 2013) e com caráter econômico relevante de plantas ornamentais cultivadas no Brasil (i.e. *D. chinensis*) (SÃO JOSÉ *et al.*, 2021).

O uso de espécies alternativas e o aumento da quantidade de organismos para estimar os valores de toxicidade dos contaminantes, auxiliam a compreender se as espécies padronizadas são protetoras aos seus grupos correspondentes (e.g. fauna do solo, plantas), e então permitem elaborar diretrizes de proteção mais específicas a regiões tropicais e subtropicais (DAAM *et al.*, 2019; NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017; NIVA *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2019).

Os fertilizantes orgânicos provindos de animais são heterogêneos (BORGES, 2021). Isto é, dependem de fatores como: raça, a composição da dieta fornecida, estágio/estádio fisiológico que o animal se encontra (a idade do animal altera o metabolismo, assim como quando está enfermo), o tipo de resíduo animal (e.g. cama de aves, dejetos suínos, animais criados a campo), tipo de tratamento dos resíduos (e.g. uso biodigestor, lagoa de tratamento de resíduos, compostagem), entre outros fatores que tornam as características físico-químicas-biológicas distintas (MACCARI *et al.*, 2016b, 2022; SEGAT *et al.*, 2015; TESTA *et al.*, 2020; ZORTÉA *et al.*, 2021). Apesar disso a legislação brasileira não considera os efeitos sinérgicos no solo e das interferências da aplicação do composto orgânico sobre a fauna no solo (MASSUKADO; SCHALCH, 2010; NIVA *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2019).

Tabela 14- Valores dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do vermicomposto proveniente de fezes canina e valores balizadores da Instrução Normativa nº 61, de 2020 e da Instrução Normativa SDA nº 7, de 2016, do MAPA. Máximo (máx). Mínimo (mín). Instrução Normativa (IN). Atende a IN (c). Não atende a IN (ϕ). Número mais provável (NMP). Sólidos totais (ST). Matéria Seca (MS).

	Umidade (máx) %	pH (mín) -	C orgânico (mín)	N total (mín)	C/N (máx) %.....%			
IN nº 61/2020	50,0	6,0 (em água)	10,0	0,5	20,0			
FCV	56,2	5,9 (CaCl <sub>2</sub> )	13,6	2,1	6,4			
Interpretação	ϕ	c	c	c	c			
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
Teor mínimo total (%)								
IN nº 61/2020	1,0	1,0	1,0	1,0	0,02	0,02	0,02	0,10
FCV	18,7	0,5	2,9	0,1	0,30	0,04	0,01	0,08
Interpretação	c	ϕ	c	ϕ	c	c	ϕ	ϕ
Valores máximos admitidos								
	Ovos viáveis de helminthos (Nº ovos em 4 g ST <sup>-1</sup> )	NMP Coliforme termotolerantes (g MS <sup>-1</sup> )			Salmonella sp. Ausência em 10g de MS			
IN SDA nº 7/2016	1,00	1000,00			Ausência			
FCV	<0,1	<1,1			Ausência			
Interpretação	c	c			c			
Valores máximos admitidos de metais pesados (mg kg <sup>-1</sup> )								
	As	Cd	Pb	Cr hexavalente	Hg	Ni	Se	
IN SDA nº 7/2016	20,0	3,0	150,0	2,0	1,0	70,0	80,0	
FVC	<0,4	<0,2	<3,1	Não detetável	<0,2	3,9	3,9	
Interpretação	c	c	c	c	c	c	c	

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

De encontro com a necessidade de caracterização dos compostos orgânicos, serem utilizados como fertilizantes, o vermicomposto oriundo de fezes caninas, apresentou toxicidades diferentes às espécies testadas, variando o grau de toxicidade entre espécies padronizadas e não padronizadas. Dessa forma, o vermicomposto canino apresentou potencial como fertilizante orgânico. Porém, por não ser um fertilizante químico com formulações específicas para cada cultura e solo, os fertilizantes orgânicos podem apresentar, quantidades de nutrientes desproporcionais em relação à capacidade de extração das culturas ocasionar desequilíbrios químicos, físicos e biológicos (MACCARI *et al.*, 2022).

Dessa forma, se ressalta a importância de fazer o uso dos compostos orgânicos analisando pontualmente cada situação. Buscando uma proteção ambiental mais eficiente, sendo extremamente necessário no Brasil e no mundo o estabelecimento de legislação exigindo mais estudos ecotoxicológicos terrestres para atividades que utilizam contaminantes químicos (DAAM *et al.*, 2019; NIEMEYER; CHELINHO; SOUSA, 2017; NIVA *et al.*, 2016; ROSA, V. M. D. *et al.*, 2017). No entanto, os resultados obtidos enfatizam a necessidade da realização de mais estudos incluindo outros tipos de solos naturais para avaliar os riscos potenciais desse resíduo sobre a biota do solo e para compreender melhor quais os mecanismos que influenciam na toxicidade.

## 5 CONCLUSÃO

1. A presença dos medicamentos PIR e PZT no solo afetou as espécies testadas;
2. O processo de vermicompostagem reduziu a quantidade dos medicamentos das fezes de Beagle;
3. Do ponto de vista agrônomo do vermicomposto, demonstrou ser um potencial fertilizante orgânico para ser utilizado em solos urbanos.

## 6 REFERÊNCIAS

(SINDAN), S. N. DA I. DE P. PARA S. A. Anuário da indústria de produtos para saúde animal. **Texto de comunicação corporativa**, 2018.

(SINDAN), S. N. DA I. DE P. PARA S. A. **Mercado Pet na Pandemia**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://sindan.org.br/sobre-o-sindan/>>.

ABINPET. **Mercado**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://abinpet.org.br>>.

ABINPET. Abinpet - Mercado Petfood. **Abinpet - Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação**, 2022b.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR: 16387 Qualidade do solo - Efeito de Poluentes em Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) - Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência**. [s.l: s.n.].

ABNT, A. B. DE N. T. **Qualidade do solo – Efeitos de poluentes em Enchytraeidae ( Enchytraeus sp ) – Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivênciaNBR/ISO 16387**, 2012.

ALDENBERG, T.; JAWORSKA, J. S. Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, n. 1, p. 1–18, 2000.

ALEXANDRE, D. et al. First record on enchytraeids in a Savanna Tall Woodland (Cerradão) and Upper Montane Atlantic Forest in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 4, p. e20200892, 2022.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. DE. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. [s.l.] Editora FIOCRUZ, 2002.

ARAGON, A. D. et al. Towards an understanding of the mechanism of action of praziquantel. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 164, n. 1, p. 57–65, mar. 2009.

ARION, A. et al. Pharmacokinetics of praziquantel and pyrantel pamoate combination following oral administration in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 20, n. 10, p. 900–904, 11 out. 2018.

BANDEIRA, F. O. et al. Chronic effects of clothianidin to non-target soil invertebrates: Ecological risk assessment using the species sensitivity

distribution (SSD) approach. **Journal of Hazardous Materials**, v. 419, n. April, p. 126491, out. 2021.

BANDOW, C.; COORS, A.; RÖMBKE, J. Enchytraeus bigeminus (Enchytraeidae , Oligochaeta) as a new candidate for ecotoxicological laboratory tests. **Soil Organisms**, v. 85, n. 2, p. 103–112, 2013.

BARETTA, D. et al. Soil fauna and its relation with environmental variables in soil management systems. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 5spe, p. 871–879, 2014.

BÁRTÍKOVÁ, H.; PODLIPNÁ, R.; SKÁLOVÁ, L. Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants. **Chemosphere**, v. 144, p. 2290–2301, fev. 2016.

BEIRÃO, B. C. B. et al. PROTOCOLOS UTILIZADOS EM CONSULTÓRIOS, CLÍNICAS E HOSPITAIS VETERINÁRIOS PARA O CONTROLE DE ENDO E ECTOPARASITAS EM PEQUENOS ANIMAIS EM CURITIBA. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n. 4, p. 221–227, 31 dez. 2009.

BELANGER, S. et al. Future needs and recommendations in the development of species sensitivity distributions: Estimating toxicity thresholds for aquatic ecological communities and assessing impacts of chemical exposures. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 13, n. 4, p. 664–674, 2017.

BJØRN, H.; HENNESSY, D. R.; FRIIS, C. The kinetic disposition of pyrantel citrate and pamoate and their efficacy against pyrantel-resistant Oesophagostomum dentatum in pigs. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 12, p. 1375–1380, 1996.

BOLMAN, B. **Dogs for Life: Beagles, Drugs, and Capital in the Twentieth Century**. [s.l.] Springer Netherlands, 2022. v. 55

BORGES, A. L. **Recomendações de calagem e adubação para abacaxi, acerola, banana, citros, mamão, mandioca, manga e maracujá**. 2. ed ed. Brasília: Embrapa, 2021.

BOXALL, A. B. A. et al. **Review of Veterinary Medicines in the Environment**. Bristol: [s.n.]. Disponível em: <www.environment-agency.gov.uk>.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E A. **Instrução Normativa Nº 61, de 8 de julho de 2020**Instrução Normativa Nº 61, de 8 de julho de 2020, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-61-de-8-7-2020-organicos-e-biofertilizantes-dou-15-7-20.pdf>>

BRASIL. **DECRETO-LEI No 467, DE 13 DE FEVEREIRO DE 1969**. Disponível em: <[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto-lei/del0467.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto-lei/del0467.htm)>.

BRASIL. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos**. [s.l: s.n.].

BRAZIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E A.-M. **INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 27, 05 DE JUNHO DE 2006 (Alterada pela IN SDA nº 7, de 12/04/2016, republicada em 02/05/2016)** O, 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-sda-27-de-05-06-2006-alterada-pela-in-sda-07-de-12-4-16-republicada-em-2-5-16.pdf>>

BUCH, A. C. et al. Ecotoxicity of mercury to *Folsomia candida* and *Proisotoma minuta* (Collembola: Isotomidae) in tropical soils: Baseline for ecological risk assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 127, p. 22–29, 1 maio 2016.

CABAN, M.; STEPNOWSKI, P. How to decrease pharmaceuticals in the environment? A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 4, p. 3115–3138, 2021.

CANATTO, B. D. et al. Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1515–1523, dez. 2012.

CARLA, G. et al. Placing arbuscular mycorrhizal fungi on the risk assessment test battery of plant protection products ( PPPs ). **Ecotoxicology**, 2018.

CARNIEL, L. S. C. **NOVEL APPROACHES AND FUTURE DIRECTIONS FOR PESTICIDE ECOLOGICAL RISK ASSESSMENT TO IN-SOIL FAUNA**. [s.l.] Universidade do Estado de Santa Catarina, 2019.

CHRISTIAN, T. et al. Determination of Antibiotic Residues in Manure , Soil

, and Surface Waters \*. n. May 2002, p. 36–44, 2003.

CIOLI, D. et al. Schistosomiasis control: praziquantel forever? **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 195, n. 1, p. 23–29, jun. 2014.

COOPER, K. M. et al. Potential impacts of climate change on veterinary medicinal residues in livestock produce: An island of Ireland perspective††This paper is one of a series of reviews on “Climate Change and Food Safety – an Island of Ireland perspective”. **Trends in Food Science & Technology**, v. 44, n. 1, p. 21–35, jul. 2015.

CORÁ, J. et al. Ecotoxicology and Environmental Safety Disentangling the effects of the aqueous matrix on the potential toxicity of liquid pig manure in subtropical soils under semi-field conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 168, n. May 2018, p. 457–465, 2019.

DA ROSA, M. G. et al. Diversity of soil spiders in land use and management systems in santa catarina, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 19, n. 2, 2019.

DA SILVA, R. R.; FAREZIN, E. C.; SOTO, F. R. M. Avaliação microbiológica e físico-química de um sistema experimental de tratamento de resíduos sólidos de hortaliças. **Revista Agrogeoambiental**, v. 10, n. 2, p. 89–98, 2018.

DAAM, M. A. et al. Environmental risk assessment of pesticides in tropical terrestrial ecosystems: Test procedures, current status and future perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 181, p. 534–547, 15 out. 2019.

DAUGHTON, C. G. Pharmaceuticals in the Environment. In: **Pharmaceutical Technology**. [s.l: s.n.]. v. 42p. 37–69.

DE MELO, P. H. M. et al. Revisão bibliográfica – Ancilostomíase / Bibliographic review – Hookworm. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 90835–90852, 20 set. 2021.

DE MENEZES OLIVEIRA, V. B.; DE OLIVEIRA BIANCHI, M.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Hazard assessment of the pesticides KRAFT 36 EC and SCORE in a tropical natural soil using an ecotoxicological test battery. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 11, p. 2919–2924, nov. 2018.

DE OLIVEIRA-NETO, R. R. et al. Level of knowledge on zoonoses in dog



and cat owners. **Revista de Salud Publica**, v. 20, n. 2, p. 198–203, 2018.

DE SILVA, P. M. C. S.; PATHIRATNE, A.; VAN GESTEL, C. A. M. Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. **Applied Soil Ecology**, v. 44, n. 1, p. 56–60, jan. 2010.

DE SILVA, P. M. C. S.; VAN GESTEL, C. A. M. Comparative sensitivity of *Eisenia andrei* and *Perionyx excavatus* in earthworm avoidance tests using two soil types in the tropics. **Chemosphere**, v. 77, n. 11, p. 1609–1613, 2009a.

DE SILVA, P. M. C. S.; VAN GESTEL, C. A. M. Development of an alternative artificial soil for earthworm toxicity testing in tropical countries. **Applied Soil Ecology**, v. 43, n. 2–3, p. 170–174, 2009b.

DE SOUZA, R. B.; GUIMARÃES, J. R. Effects of Avermectins on the Environment Based on Its Toxicity to Plants and Soil Invertebrates—a Review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 233, n. 7, 2022.

DEL SIGNORE, A. et al. Development and application of the SSD approach in scientific case studies for ecological risk assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 9, p. 2149–2161, set. 2016.

DOMENE, X. et al. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. **Environmental Pollution**, v. 155, n. 2, p. 227–236, 2008.

ENVIRONMENT CANADA. **Guidance document: Statistical methods for environmental toxicity tests. Environmental Protection Series, EPS1/RM/46.** Ottawa, ON: [s.n.].

FRAMPTON, G. K. et al. Effects of pesticides on soil invertebrates in laboratory studies: A review and analysis using species sensitivity distributions. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 9, p. 2480–2489, 2006.

FREITAS, M. S. DE et al. Avaliação ecotoxicológica de medicamentos tuberculostáticos: Concentrações Ambientais Estimadas e efeitos biológicos em *Daphnia similis* e *Echinometra lucunter*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e42310514825, 2021.

FREZZA, T. F. et al. Efeito do praziquantel incorporado a lipossomas nos diferentes estágios de desenvolvimento dos ovos de *Schistosoma mansoni*.

**Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p. 209–214, 2007.

FUKUSHIGE, M. et al. Efficacy of praziquantel has been maintained over four decades (from 1977 to 2018): A systematic review and meta-analysis of factors influence its efficacy. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, p. e0009189, 17 mar. 2021.

GOMES, A. R. et al. Review of the ecotoxicological effects of emerging contaminants to soil biota. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 52, n. 10, p. 992–1007, 24 ago. 2017.

GOODENOUGH, A. E.; WEBB, J. C.; YARDLEY, J. Environmentally-realistic concentrations of anthelmintic drugs affect survival and motility in the cosmopolitan earthworm *Lumbricus terrestris* (Linnaeus, 1758). **Applied Soil Ecology**, v. 137, n. February, p. 87–95, 1 maio 2019.

GORDON&WHITLOCK. A. Technique for Counting Trematode Eggs in Sheep Faeces. **Journal of the Council for Scientific and industrial Research**, v. 12, n. 1, p. 50–52, 18 ago. 1939.

GREENSLADE, P.; VAUGHAN, G. T. A comparison of Collembola species for toxicity testing of Australian soils. **Pedobiologia**, v. 47, n. 2, p. 171–179, jan. 2003.

GUTIÉRREZ, M. L. et al. Pharmacokinetics of a novel spot-on formulation of praziquantel for dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 239, n. February, p. 46–49, maio 2017.

HAVLÍKOVÁ, L.; ŠATÍNSKÝ, D.; SOLICH, P. Aspects of decontamination of ivermectin and praziquantel from environmental waters using advanced oxidation technology. **Chemosphere**, v. 144, p. 21–28, fev. 2016.

HECK, K. et al. Temperatura de degradação de resíduos em processo de compostagem e qualidade microbiológica do composto final. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 1, p. 54–59, jan. 2013.

HEMPEL, H. et al. Toxicity of four veterinary parasiticides on larvae of the dung beetle *Aphodius constans* in the laboratory. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 3155–3163, 2006.

HERNANDES, J. C. et al. Artigo Original Prevalência de enteroparasitos em alfaces ( *Lactuca sativa* ) comercializadas em estabelecimentos no Sul do

Rio Grande do Sul , Brasil. 2018.

HORVAT, A. J. M. et al. Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p. 61–84, jan. 2012a.

HORVAT, A. J. M. et al. Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p. 61–84, 1 jan. 2012b.

IBGE. **Projeções da população: Brasil e unidades da Federação**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/index.html>>.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Domicílios com algum cachorro**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/4930#resultado>>.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Dados gerais das indústrias**, 2020. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/industria/9042-pesquisa-industrial-anual.html?=&t=destaques>>

INC., S. **STATISTICA**, 2004. Disponível em: <[www.statsoft.com](http://www.statsoft.com), 2004.>

ISO. Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. **TC 190 Soil Quality**, v. ICS: 13.08, p. Section 4, 2005.

ISO. **ISO 11267. 2014. Soil quality — Inhibition of reproduction of Collembola (Folsomia candida) by soil contaminants**, 2014.

ISO, 11268-1 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality — Effects of pollutants on earthworms — Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*. **61010-1 © Iec:2001**, n. 40, p. 1–13, 2012.

ISO, I. O. FOR S.-. **Soil quality - Effects of pollutants on earthworms - Part 2: Determination of effects on reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* (ISO 11268-2:2012)** International Organization for Standardization - **ISO 11268-2.**, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1085209/manual-de-metodos-de-analise-de-solo>>

JAMES OKOT-OKUMU, ELIAS MAZHINDU, TRYNOS GUMBO, TENDAYI GONDO, JAYASHREE SREENIVASAN, MARTHANDAN

GOVINDAN, MALARVIZHI CHINNASAMI, INDRAKARAN KADIRESU, ARETHA APRILIA, TETSUO TEZUKA, GERT SPAARGAREN, ASMAWATI DESA, NOR BA'YAH ABD KADIR, FATIMAH YUSOOFF, MA, F. S. **Waste Management - An Integrated Vision**. 1. ed. Rijeka, Croatia: InTech, 2012.

JUNQUEIRA, A. N. N.; GALERA, P. D. Characteristics of the population of dogs and cats in Brazil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 13, n. 2, p. 77–86, 24 jun. 2019.

KACZALA, F.; BLUM, S. E. The Occurrence of Veterinary Pharmaceuticals in the Environment: A Review. **Current Analytical Chemistry**, v. 12, n. 3, p. 169–182, 2016.

KAR, S.; ROY, K.; LESZCZYNSKI, J. Impact of Pharmaceuticals on the Environment: Risk Assessment Using QSAR Modeling Approach. In: **Computational Toxicology: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology**, vol.1800. [s.l: s.n.]. v. 1800p. 395–443.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G. ZOONOSES CAUSADAS POR PARASITAS INTESTINAIS DE CÃES E O PROBLEMA DO DIAGNÓSTICO. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 2, p. 175–184, jun. 2007.

KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 4, p. 336–345, abr. 2001.

KOLAR, L. et al. Toxicity of abamectin and doramectin to soil invertebrates. **Environmental Pollution**, v. 151, n. 1, p. 182–189, 2008.

KOOLS, S. A. E. et al. A Ranking of European Veterinary Medicines Based on Environmental Risks. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 4, n. 4, p. 399, 2008.

KOPP, S. R. et al. Pyrantel in small animal medicine: 30 years on. **The Veterinary Journal**, v. 178, n. 2, p. 177–184, nov. 2008.

KRAFT, E. et al. Edaphic fauna affects soybean productivity under no-till system. **Scientia Agricola**, v. 78, n. 2, 2020.

KRAFT, E. et al. First record of Enchytraeidae in a no-tillage system in Southern Brazil. **Pedobiologia**, v. 95, n. July, p. 150846, 2022.

KREUZIG, R. The Reference Manure Concept for Transformation Tests of Veterinary Medicines and Biocides in Liquid Manure. **CLEAN - Soil, Air, Water**,

v. 38, n. 8, p. 697–705, ago. 2010.

KULA, C.; RÖMBKE, J. Evaluation of soil ecotoxicity tests with functional endpoints for the risk assessment of plant protection products. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 5, n. 1, p. 55–60, mar. 1998.

KWAK, J. IL et al. Species Sensitivity Distributions for Nonylphenol to Estimate Soil Hazardous Concentration. **Environmental Science and Technology**, v. 51, n. 23, p. 13957–13966, 2017.

LAVELLE, P. et al. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**, v. 42, n. SUPPL. 1, p. S3–S15, nov. 2006.

LEE, J. M. et al. Evaluating the effects of canine urine on urban soil microbial communities. **Urban Ecosystems**, v. 22, n. 4, p. 721–732, 9 ago. 2019.

LOWE, C. N.; BUTT, K. R. Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: A critical review. **European Journal of Soil Biology**, v. 43, n. SUPPL. 1, 2007.

MACCARI, A. N. A. P. **AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE CAMA DE AVES EM SOLOS DO LAGES , SC**. [s.l.] Universidade do Estado de Santa Catarina, 2018.

MACCARI, A. P. et al. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 314, p. 113–120, 15 ago. 2016a.

MACCARI, A. P. et al. Ecotoxicological effects of pig manure on *Folsomia candida* in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 314, p. 113–120, 15 ago. 2016b.

MACCARI, A. P. et al. The effect of composted and non-composted poultry litter on survival and reproduction of *Folsomia candida*. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 9, n. 1, p. 99–105, 2020.

MACCARI, A. P. et al. Ecotoxicological effects of untreated pig manure from diets with or without growth-promoting supplements on *Eisenia andrei* in subtropical soils. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 1, p. 1–11, 4 maio 2022.

MAHAJAN, A. A. et al. Characterization and toxicity evaluation of degradation products of febantel. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 127, 9 dez. 2020.

MALHEIROS, A. F. Contaminação Ambiental por enteroparasitas presentes em fezes de cães em uma região do Pantanal Environmental Contamination by enteroparasites present in the feces of dogs in a Pantanal region. 2016.

MALLMANN, G. C. et al. Placing arbuscular mycorrhizal fungi on the risk assessment test battery of plant protection products (PPPs). **Ecotoxicology**, v. 27, n. 7, p. 809–818, 25 set. 2018.

MALTBY, L.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J. Fungicide risk assessment for aquatic ecosystems: Importance of interspecific variation, toxic mode of action, and exposure regime. **Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 19, p. 7556–7563, 2009.

MARSIK, P.; PODLIPNA, R.; VANEK, T. Study of praziquantel phytoremediation and transformation and its removal in constructed wetland. **Journal of Hazardous Materials**, v. 323, p. 394–399, 2017.

MARTINEZI SCHEMES, C.; MARTINEZI SCHMES, C.; DALPICOLLI RODRIGUES, A. PREVALÊNCIA DE PARASITOS EM ALFACES (LACTUCA SATIVA) DE SUPERMERCADOS DE UMA CIDADE NO SUL DO BRASIL. (Portuguese). **Revista Saúde**, v. 9, n. 3/4, p. 18, 2015.

MASSUKADO, L. M.; SCHALCH, V. Avaliação da qualidade do composto proveniente da compostagem da fração orgânica dos resíduos sólidos domiciliares. **Revista DAE**, v. 58, n. 183, p. 9–15, 2010.

MATOS, M. S. et al. Anti - helmínticos em animais de companhia : quando o fim justifica o meio. n. December, 2013.

MEDEIROS, C. B. N. DE; SILVA, M. L. P. DA; ATAÍDE, R. M. DA C. AS HORTAS URBANAS COMO UMA CONTRIBUIÇÃO ÀS CIDADES SUSTENTÁVEIS: O CASO DO GRAMOREZINHO EM NATAL/RN. **Periódico Técnico e Científico Cidades Verdes**, v. 3, n. 8, p. 16–32, 31 ago. 2015.

MENEZES-OLIVEIRA, V. et al. Hazard assessment of the veterinary pharmaceuticals monensin and nicarbazin using a soil test battery. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 12, p. 3145–3153, 2018.

MEQUANENT, A. General Veterinary Pharmacology and Drugs Used for Treatment of Bacteria, Virus, Fungus and Parasites in Animals. **Life Science Journal**, v. 19, n. 8, p. 1–13, 2022.

MICHELLON, E. et al. Cultivation and use of medicinal plants by the producers of the Community Garden. **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Produtos veterinários farmacêuticos**. Disponível em: <<https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/single/?appid=a3e9ce67-d63b-43ff-a295-20123996ead7&sheet=4c2ec12f-be27-47f2-8136-e2fd18cbb54a&lang=pt-BR&opt=ctxmenu&select=clearall>>.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 11 jul. 2017.

MUTAVDŽIĆ PAVLOVIĆ, D. et al. Sorption of cefdinir, memantine, praziquantel and trimethoprim in sediment and soil samples. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 44, p. 66841–66857, 5 set. 2022a.

MUTAVDŽIĆ PAVLOVIĆ, D. et al. Influence of Organic Matter on the Sorption of Cefdinir, Memantine and Praziquantel on Different Soil and Sediment Samples. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 8008, 18 nov. 2022b.

NAGASAWA, M. et al. Oxytocin-gaze positive loop and the coevolution of human-dog bonds. **Science**, v. 348, n. 6232, p. 333–336, 2015.

NAVRÁTILOVÁ, M. et al. The Uptake of Ivermectin and Its Effects in Roots, Leaves and Seeds of Soybean (*Glycine max*). **Molecules**, v. 25, n. 16, p. 3655, 11 ago. 2020.

NG, B.; CHANABUN, R.; PANHA, S. Biological and physiological responses of *Perionyx excavatus* to abamectin. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 27, p. 28309–28318, set. 2019.

NIEDERAUER POMPEO, P. et al. FAUNA E SUA RELAÇÃO COM ATRIBUTOS EDÁFICOS EM LAGES, SANTA CATARINA - BRASIL. **Scientia Agraria**, v. 17, n. 1, p. 42–51, 13 out. 2016.

NIEMEYER, J. C.; CHELINHO, S.; SOUSA, J. P. Soil ecotoxicology in Latin America: Current research and perspectives. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 7, p. 1795–1810, jul. 2017.

NIVA, C. C. et al. Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course.

**Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 11, p. 11363–11378, 2016.

NIVA, C. C.; SCHMELZ, R. M.; BROWN, G. G. Notes on the reproduction, fragmentation and regeneration of *Enchytraeus dudichi* Dózsa-Farkas, 1995 sensu lato (Enchytraeidae, Oligochaeta) found in Paraná State, Brazil. **Landbauforschung – vTI Agriculture and Forestry Research**, n. Special Issue 357, p. 13–20, 2012.

OLIVEIRA, D. A. DE. **VALORES ORIENTADORES DE PREVENÇÃO PARA COBRE E ZINCO EM SOLOS DO ESTADO DE SANTA CATARINA**. [s.l.] Universidade do Estado de Santa Catarina, 2019.

OLIVEIRA, V. et al. Os medicamentos veterinários no meio ambiente: aplicações e implicações. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 1, n. 2, p. 183–192, 2009.

OROBETS, V. et al. Control of fish parasites in aquaculture. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 403, n. 1, p. 012065, 1 dez. 2019.

OTRANTO, D. et al. Zoonotic Parasites of Sheltered and Stray Dogs in the Era of the Global Economic and Political Crisis. **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 10, p. 813–825, out. 2017.

PEREIRA, A. et al. Parasitic zoonoses associated with dogs and cats: a survey of Portuguese pet owners' awareness and deworming practices. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 245, 10 dez. 2016.

POMPEO, P. N. et al. Morphological diversity of coleoptera (Arthropoda: Insecta) in agriculture and forest systems. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 41, p. 1–15, 2017.

PRINCZ, J. et al. Ecotoxicity of boric acid in standard laboratory tests with plants and soil organisms. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 4, p. 471–481, 2017.

RAKONJAC, N. et al. Emission estimation and prioritization of veterinary pharmaceuticals in manure slurries applied to soil. **Science of The Total Environment**, v. 815, p. 152938, abr. 2022.

RENAUD, M. et al. Organic wastes as soil amendments – Effects assessment towards soil invertebrates. **Journal of Hazardous Materials**, v. 330, p. 149–156, 2017.



RODRÍGUEZ, A.; IGLESIAS, I.; DE LA TORRE, A. Prioritisation tool for targeting the monitoring of veterinary pharmaceuticals in soils at a national level: The case of Spain. **European Journal of Soil Science**, v. 73, n. 4, p. 1–12, 11 jul. 2022.

RÖMBKE, J.; DUIS, K. Proposal for a Monitoring Concept for Veterinary Medicinal Products with PBT Properties, Using Parasiticides as a Case Study. **Toxics**, v. 6, n. 1, p. 14, 9 fev. 2018.

RÖMBKE, J.; KNACKER, T.; TEICHMANN, H. Ecotoxicological Evaluation of Pharmaceuticals. In: **Pharmaceuticals in the Environment**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2001. p. 123–141.

RÖMBKE, J.; SCHMELZ, R. M.; PÉLOSI, C. Effects of organic pesticides on enchytraeids (Oligochaeta) in agroecosystems: Laboratory and higher-tier tests. **Frontiers in Environmental Science**, v. 5, n. MAY, p. 1–23, 2017.

ROSA, M. G. DA et al. Macrofauna Edáfica e Atributos Físicos e Químicos em Sistemas de Uso do Solo no Planalto Catarinense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 6, p. 1544–1553, dez. 2015.

ROSA, V. M. D. et al. Ecotoxicological potential of bordeaux mixture and Neem oil on non-Target soil organisms. **Revista Brasileirade Ciências Agrarias**, v. 12, n. 4, p. 470–474, 2017.

ROSA, V. M. D. **Avaliação De Toxicidade Do Fungicida Clorotalonil E Do Inseticida Clorpirifós Em Solos Subtropicais Brasileiros**. [s.l.] Universidade do Estado de Santa Catarina, 2018.

ROSA, V. M. D. et al. Ecotoxicology as a tool for soil sustainability: Agrochemicals and Veterinary Pharmaceuticals in Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 9, p. 16070–16084, 2019.

RS/SC, C. DE Q. E F. DO S.-. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. [s.l: s.n.].

RYU, TAEKWON;KIM, JUNGKON;KIM, KYUNGTAE;LEE, JAEWOO;KIM, JIEUN;CHO, JAEGU;YOON, JUNHEON;LEE, JAEAN;KIM, PILJE;RYU, J. Environmental Risk Assessment for Ivermectin, Praziquantel, Tamiflu and Triclosan. **Journal of Environmental Health Sciences**, v. 44, n. 2, p. 196–203, 2018.

SANNI, S. et al. II. Species sensitivity distributions based on biomarkers

and whole organism responses for integrated impact and risk assessment criteria. **Marine Environmental Research**, v. 127, p. 11–23, jun. 2017.

SÃO JOSÉ, T. DE O. et al. Emergence and development of *Dianthus chinensis* and *Limonium sinuatum* seedlings on commercial substrate. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e04101119143, 2021.

SCHLOSSBERG, D. L.; SAMUEL, R. ANTIMINTH (Pyrantel Pamoate). p. 2498, [s.d.].

SCHMELZ, R. M. et al. Diversity of terrestrial Enchytraeidae (Oligochaeta) in Latin America: Current knowledge and future research potential. **Applied Soil Ecology**, v. 69, p. 13–20, 2013.

SEGAT, J. C. et al. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 122, p. 91–97, 1 dez. 2015a.

SEGAT, J. C. et al. Ecotoxicological evaluation of swine manure disposal on tropical soils in Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 122, p. 91–97, 1 dez. 2015b.

SILVA, L. M. B. DA et al. Hortaliças orgânicas: alimentos saudáveis ou um risco à saúde? TT - Organic vegetables: healthy foods or a health risk? **Semina cienc. biol. saude**, v. 39, n. 2, p. 119–128, 2018.

SOCHOVÁ, I.; HOFMAN, J.; HOLOUBEK, I. Using nematodes in soil ecotoxicology. **Environment International**, v. 32, n. 3, p. 374–383, 2006.

SWATI PATTNAIK. Heavy metals remediation from urban wastes using three species of earthworm (*Eudrilus eugeniae*, *Eisenia fetida* and *Perionyx excavatus*). **Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, v. 3, n. 14, p. 345–356, dez. 2011.

TAKAYANAGUI, O. M. M. et al. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 1, p. 37–41, fev. 2001.

TESTA, M. et al. Impacts on reproduction of *Enchytraeus crypticus* in fertilized soils with chicken litter treated with synthetic and natural insecticide. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 78, p. 103386, 1 ago. 2020.

THOMAS, C. M.; TIMSON, D. J. The Mechanism of Action of Praziquantel: Six Hypotheses. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 18, p. 1575–

1584, 6 dez. 2018.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 1, n. 2, p. 151–173, set. 1977.

VALENTE, B. S. et al. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 224, p. 59–85, 17 set. 2008.

VAN STRAALLEN, N. M. Threshold models for species sensitivity distributions applied to aquatic risk assessment for zinc. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, n. 3–4, p. 167–172, jul. 2002.

VAN VLAARDINGEN, P. et al. ETX 2.0. A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data. **RIVM Report no. 601501028**, n. November 2014, p. 1–68, 2004.

VAN WIJNGAARDEN, R. P.; MALTBY, L.; BROCK, T. C. Acute tier-1 and tier-2 effect assessment approaches in the EFSA Aquatic Guidance Document: are they sufficiently protective for insecticides? **Pest Management Science**, v. 71, n. 8, p. 1059–1067, 2015.

ZORTÉA, T. **EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DO FÁRMACO FIPRONIL E PRODUTOS DERIVADOS DE NIM ( Azadirachta indica ) SOBRE ORGANISMOS BIOINDICADORES**. [s.l.] Universidade do Estado de Santa Catarina, 2017.

ZORTÉA, T. et al. Toxicity of four veterinary pharmaceuticals on the survival and reproduction of *Folsomia candida* in tropical soils. **Chemosphere**, v. 173, p. 460–465, abr. 2017.

ZORTÉA, T. et al. Ecotoxicological effects of fipronil, neem cake and neem extract in edaphic organisms from tropical soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 166, p. 207–214, 30 dez. 2018.

ZORTÉA, T. et al. Effects of sheep manure in agricultural soils on the behavior of *Folsomia candida* and initial growth and development of *avena sativa*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 4, p. 1030–1035, 2021.

## APÊNDICES

Apêndice A - Concentrações utilizadas e aferidas dos testes ecotoxicológicos de reprodução dos artrópodes do solo (i.e. minhocas, enquitreídeos e colêmbolos). Quantidade de comprimido de Canex Composto®, doses nominais, doses reais mensuradas e porcentagem em relação às doses nominais dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR) e Praziquantel (PZT) em miligrama (mg) por quilograma (kg) de solo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Quantidade de comprimido de Canex Composto®	Dose nominal em mg do PIR	Dose real em mg do PIR	Porcentagem da dose nominal de PIR	Dose nominal em mg do PZT	Dose real em mg do PZT	Porcentagem da dose nominal de PZT
Testes com minhocas ( <i>E. andrei</i> e <i>P. excavatus</i> )						
0	0,0	Não detectada	100%	0,0	Não detectada	100%
0,5	72,5	41,1 ± 31,4	56,6%	25,2	24,5 ± 26,0	96,6%
1	145,0	34,9 ± 11,7	24,1%	50,5	26,3 ± 11,4	52,0%
4	580,0	125,6 ± 34,2	21,7%	202,0	110,0 ± 51,3	54,4%
8	1160,0	275,2 ± 51,0	23,7%	404,0	221,1 ± 75,4	54,7%
16	2320,0	530,4 ± 41,3	22,9%	808,0	4302,2 ± 201,8	532,5%
Testes com enquitreídeos ( <i>E. crypticus</i> e <i>E. dudichi</i> )						
0	0,0	Não detectada	100%	0,0	Não detectada	100%
0,25	36,2	27,4 ± 38,9	75,6%	12,6	15,7 ± 29,8	124,0%
0,5	72,5	55,7 ± 21,2	76,8%	25,2	23,3 ± 55,4	92,1%
1	145,0	104,6 ± 74,5	72,2%	50,5	35,8 ± 20,4	70,9%
4	580,0	432,6 ± 208,4	74,6%	202,0	165,5 ± 91,0	82,0%
8	1160,0	873,9 ± 350,6	75,3%	404,0	331,1 ± 141,8	82,0%
Testes com colêmbolos ( <i>F. candida</i> e <i>P. minuta</i> )						
0	0,0	Não detectada	100%	0,0	Não detectada	100%
0,125	18,1	17,5 ± 10,8	96,6%	6,3	7,1 ± 25,7	111,7%
0,25	36,2	32 ± 44,4	88,3%	12,6	12,1 ± 31,0	95,8%
0,5	72,5	47,1 ± 31,5	65,0%	25,2	23,2 ± 55,4	91,9%
1	145,0	124,7 ± 79,1	86,0%	50,5	47,4 ± 59,1	93,9%
2	290,0	234,8 ± 51,7	81,0%	101,0	85,8 ± 108,4	85,0%
4	580,0	461,3 ± 101,4	79,5%	202,0	171,6 ± 91,2	85,0%
8	1160,0	910,2 ± 71,0	78,5%	404,0	343,2 ± 101,4	85,0%
16	2320,0	1847,5 ± 92,4	79,6%	808,0	656,4 ± 374,4	81,2
32	4640,0	3722,7 ± 201,8	80,2%	1616,0	1282,7 ± 587,4	79,4%

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Apêndice B - Concentrações utilizadas e aferidas dos testes ecotoxicológicos de reprodução dos artrópodes do solo (i.e. minhocas, enquitreídeos e

colêmbolos). Quantidade de comprimido de Canex Original<sup>®</sup>, doses nominais, doses reais mensuradas e porcentagem das doses mensuradas em relação às doses nominais dos anti-helmínticos Pamoato de Pirantel (PIR) em miligrama (mg) por quilograma (kg) de solo seco (mg kg<sup>-1</sup>).

Quantidade de Canex Original <sup>®</sup>	Dose nominal em mg do PIR	Dose real em mg do PIR	Porcentagem da dose nominal de PIR
Teste com minhocas			
0	0,0	0	100%
0,5	72,5	34,13 ± 24,4	46,9%
1	145,0	37,4 ± 9,7	25,8%
4	580,0	132,7 ± 44,2	22,9%
8	1160,0	242,7 ± 25,0	20,9%
16	2320,0	523,8 ± 35,3	22,6%
Teste com enquitreídeos			
0	0,0	0,0	
0,25	36,2	23,3 ± 11,1	64,4%
0,5	72,5	61,4 ± 27,2	84,7%
1	145,0	97,4 ± 33,8	67,2%
4	580,0	412,0 ± 148,0	71,0%
8	1160,0	847,4 ± 250,7	73,1%
Teste com colêmbolos			
0	0,0	0,0	100%
0,125	18,1	13,1 ± 10,0	72,3%
0,25	36,2	42,0 ± 31,9	115,5%
0,5	72,5	39,1 ± 16,5	53,9%
1	145,0	122,5 ± 69,7	84,5%
2	290,0	222,8 ± 31,0	76,8%
4	580,0	432,4 ± 58,7	74,6%
8	1160,0	907,0 ± 41,6	78,2%
16	2320,0	1825,1 ± 72,8	78,7%
32	4640,0	3584,3 ± 201,5	77,2%

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Apêndice C - Concentrações utilizadas e aferidas dos testes ecotoxicológicos de reprodução dos artrópodes do solo (i.e. minhocas, enquitreídeos e colêmbolos). Quantidade de comprimido de Praziquantel manipulado, doses nominais, doses reais mensuradas e porcentagem das doses mensuradas em relação às doses nominais dos anti-helmínticos Praziquantel (PZT) em miligrama (mg) por quilograma (kg) de solo seco ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Quantidade de comprimido de PZT	Dose nominal em mg do PZT	Dose real em mg do PZT	Porcentagem da dose nominal de PZT
Teste com minhocas			
0	0,0	0,0	100%
0,5	25,2	34,1 ± 22,07	135,7%
1	50,5	17,0 ± 22,9	33,7%
4	202,0	95,0 ± 41,0	47,1%
8	404,0	202,0 ± 58,0	50,0%
16	808,0	4172,1 ± 95,3	516,4%
Teste com enquitreídeos			
0	0,0	0,0	100%
0,25	12,6	10,2 ± 19,5	81,0%
0,5	25,2	36,6 ± 55,4	144,8%
1	50,5	39,5 ± 11,4	78,2%
4	202,0	142,2 ± 71,7	70,4%
8	404,0	342,0 ± 107,0	84,7%
Teste com colêmbolos			
0	0,0	0	100%
0,125	6,3	10,1 ± 21,0	159,0%
0,25	12,6	17,1 ± 21,4	135,5%
0,5	25,2	19,3 ± 42,8	76,4%
1	50,5	57,4 ± 69,0	113,7%
2	101,0	80,3 ± 88,7	79,5%
4	202,0	180,6 ± 64,6	89,4%
8	404,0	308,0 ± 94,0	76,2%
16	808,0	621,7 ± 307,0	76,9%
32	1616,0	1372,5 ± 217,4	84,9%

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.