

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ENGENHARIA FLORESTAL
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

ARIANE SOMMER REBOLHO

**EFEITO DE FERTILIZANTE ORGÂNICO A BASE DE EXTRATO
PIROLENHOSO EM TESTES DE TOXIDADE AGUDA E CRÔNICA
SOBRE *Folsomia candida***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2021

ARIANE SOMMER REBOLHO

**EFEITO DE FERTILIZANTE ORGÂNICO A BASE DE EXTRATO
PIROLENHOSO EM TESTES DE TOXIDADE AGUDA E CRÔNICA
SOB *Folsomia candida***

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Engenharia Florestal da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR.

Orientador: Prof. Dra. Dinéia Tessaro.

Coorientador: Prof. Dra. Flávia Pereira
Alves.

DOIS VIZINHOS

2021



TERMO DE APROVAÇÃO

EFEITO DE FERTILIZANTE ORGÂNICO A BASE DE EXTRATO PIROLENHOSO
EM TESTES DE TOXIDADE AGUDA E CRÔNICA SOB *Folsomia candida*

por

ARIANE SOMMER REBOLHO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 30 de abril de 2021 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. O (a) candidato (a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dra. Dinéia Tessaro
Orientadora

Prof. Dra. Regiane Franco
Membro Titular (Mater Dei – Pato Branco)

Ma. Vanessa Mignon Dalla Rosa
Membro Titular (UDESC OESTE – Chapecó)

Prof. Dr. Paulo Cesar Conceição
Membro suplente (UTFPR – Dois Vizinhos)

Prof. Dra. Flávia Alves Pereira
Responsável pelos Trabalhos
de Conclusão de Curso

Prof. Dr. Edgar de Souza Vismara.
Coordenador do Curso

A Deus por sempre iluminar e abençoar meu caminho, para concretizar meus objetivos e não desistir.

Aos meus pais, Edison Fontoura Rebolho e Jussara Sommer Rebolho (in memoriam) por trabalharem muito para que eu pudesse estudar e por sempre me incentivar a continuar mesmo depois das quedas, sempre honestamente e respeitando o próximo.

Aos meus sobrinhos, cunhados e em especial as minhas irmãs, que sempre estiveram ao meu lado, me dando apoio e força para não desistir, aguentando a saudade de estar tão longe, sem elas estar aqui não seria possível.

Ao meu amor Fabricio, por todo carinho, pelas caronas e por todo o incentivo, nas horas mais difíceis sendo companheiro e me fortalecendo. A minha sogra Roseli, por ser tão boa para mim e sempre me ajudar quando preciso,
Dedico

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Dinéia Tessaro pela paciência, dedicação, e por todas as suas contribuições ao meu projeto e vida.

A minha coorientadora Flávia Alves Pereira, por todos os ensinamentos, e por estar presente e a disposição para ajudar em qualquer momento que fosse necessário.

A Vanessa Mignon Dalla Rosa, por me ensinar e auxiliar durante toda minha trajetória, o que tornou possível a realização desse trabalho.

A banca, por todas as contribuições para a concretização desse projeto, as quais foram construtivas e de grande relevância.

A empresa Biocarbo por ceder gentilmente o produto BiopiroI[®], a UDESC OESTE por ceder as matrizes de *F. candida*, e a professora Michele Potrich, por ceder o laboratório para realização do experimento.

Aos meus amigos, em especial, Diogo Nicaretta Zanella e Carlyne Madel, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e auxiliando de alguma forma.

A minhas amigas Naiara Alves, Sandiane Krefta e Larissa Estrelow, que me ouviram, me acalmaram e me fortaleceram quando as coisas não davam certo.

RESUMO

REBOLHO, Ariane Sommer. **Efeito de fertilizante orgânico a base de extrato pirolenhoso em testes de toxicidade aguda e crônica sobre *Folsomia candida***. 2021. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

A ecotoxicologia é definida como uma ciência que estuda as ações de substâncias sobre os organismos vivos. Ela é fundamental na definição de doses não letais de contaminantes, principalmente quando se trata de compostos orgânicos que são aplicados ao solo e água. Dentro desse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar através de ensaio ecotoxicológico com *Folsomia candida*, a toxicidade aguda e crônica de diferentes doses do fertilizante orgânico a base de extrato pirolenhoso. A metodologia adotada é de Oliveira Filho et al. (2018), que seguiu os princípios da normativa ISO – *International Organization for Standardization* para Collembola. Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA One-way) seguida pelo teste de médias de Dunnett ($p < 0,05$). O extrato pirolenhoso utilizado comercialmente foi o BiopiroI[®], produzido pela empresa Biocarbo Ind. Com. Ltda. O teste avaliou duas variáveis durante 28 dias sobre *Folsomia candida*: toxicidade aguda (sobrevivência) e toxicidade crônica (reprodução). O delineamento foi casualizado, com 8 tratamentos nas concentrações de 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 3 %, em 6 repetições. Para toxicidade aguda, houve diferença estatística nos tratamentos D0,2 (dose 0,2 ml, concentração 0,1%) e D4 (dose 4 ml, concentração 2%), não sendo possível calcular a dose letal que diminuiu 50% da população do teste (LC50). Já para o teste de toxicidade crônica, a partir da primeira dose testada houve diferença significativa, a dose que reduz 50% da capacidade reprodutiva dos colêmbolos foi EC50=25,15 ml. Os resultados encontrados indicam que as doses de extrato pirolenhoso são capazes de afetar a reprodução e sobrevivência de *Folsomia candida*, sendo esse trabalho um embasamento para novas pesquisas envolvendo estudos ecotoxicológicos e BiopiroI[®] como fertilizante de solo.

Palavras-Chaves: Solo, Colêmbolos, Bioindicadores de qualidade do solo, Ecotoxicologia.

ABSTRACT

REBOLHO, Ariane Sommer. **Effect of organic fertilizer based on pyroligneous extract in acute and chronic toxicity tests on *Folsomia candida***. 2021. 53f. Course Conclusion Paper - Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

Ecotoxicology is defined as a science that studies how substances act on living organisms. It is essential in defining non-lethal doses of contaminants, especially when it comes to compounds that are identified in soil and water. Within this context, the present study aimed to evaluate, through ecotoxicological assay with *Folsomia candida*, an acute and chronic toxicity of different doses of organic fertilizer based on pyroligneous extract. The methodology adopted is by Oliveira Filho et al. (2018), which followed the principles as normative ISO - International Organization for Standardization for Collembola. Data were obtained through analysis of variance (One-way ANOVA) followed by Dunnett's test of means ($p < 0.05$). The priolenous layer used commercially is BiopiroI®, produced by the company Biocarbo Ind. Com. Ltda. The test evaluated two variables for 28 days on *Folsomia candida*: acute toxicity (appear) and chronic toxicity (reproduction). The design was randomized, with 8 treatments in the recommendations of 0; 0.05; 0.1; 0.2; 0.5; 1; two; 3%, in 6 repetitions. For acute toxicity, there was a statistical difference in the treatments D0.2 (dose 0.2 ml, concentration 0.1%) and D4 (dose 4 ml, concentration 2%), it is not possible to calculate the lethal dose that decreased 50% of the population do the test (LC50). As for the chronic toxicity test, from the first dose tested it showed a difference, the dose that reduces 50% of the reproductive capacity of the collemboli was EC50 = 25.15 ml. The results found indicate that the doses of pyroligneous extract are capable of affecting the reproduction and occurrences of *Folsomia candida*, and this work is a basis for further research involving ecotoxicological studies and BiopiroI® as a soil fertilizer.

Key words: Soil, Springtails, Bioindicators of soil quality, Ecotoxicology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações e doses utilizadas em laboratório de extrato pirolenhoso Biopiroi® para contaminação de substrato teste e	29
Tabela 2 – Relação quantitativa de colêmbolos <i>F. candida</i> adultos (A) e juvenis (J) ao final dos ensaios ecotoxicológico utilizando doses de extrato pirolenhoso.	32
Tabela 4 - Parâmetros ecotoxicológicos calculados com base em teste de reprodução com colêmbolos <i>F. candida</i> , expostos a concentrações crescentes de Biopiroi® em solo artificial tropical (SAT).....	33
Tabela 3 – Valores de pH inicial aferidos no solo contaminado no início do teste (dia 1), e valores de pH aferido ao final do teste (dia 28), de cada tratamento testado. ..	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sequência para preparo de meio de cultura para multiplicação de <i>Folsomia candida</i>	25
Figura 2 – Preparação de substrato para o Solo Artificial Tropical (SAT) a ser utilizado no teste ecotoxicológico utilizando o fertilizante orgânico a base de extrato pirolenhoso Biopiról®	27
Figura 3 – Unidades experimentais acondicionadas na B.O.D. para manter o ambiente nas condições favoráveis a criação dos colêmbolos durante os 28 dias de teste.....	30
Figura 4 - Número médio de indivíduos adultos sobreviventes de <i>F. candida</i> , após 28 dias de exposição ao contaminante Biopiról® em concentrações crescentes em Solo Artificial Tropical (SAT).....	33
Figura 5 - Número médio de juvenis de <i>F. candida</i> , após 28 dias de exposição ao contaminante Biopiról® em concentrações crescentes em Solo Artificial Tropical (SAT).....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

B.O.D – *Biochemical Oxygen Demand*.

CRA – Capacidade de Retenção de Água

Ctrl – Controle. Amostra livre de contaminantes

EC50 – Concentração estimada para reduzir a taxa de reprodução no final do teste em 50%

ISO – *International Organization for Standardization* (Organização Internacional de Normalização)

LC50 – Concentração letal que reduz 50% da população

LOEC - Menor concentração com efeitos observáveis;

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NBR – Norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas

NOEC - Concentração sem efeitos observáveis

OECD – *Organization for Economic Co-operation and Development* (Organização para

Cooperação e Desenvolvimento Econômico)

CRA – Capacidade de retenção de água

SAT – Solo Artificial Tropical

Software – Programa

UDESC – Universidade do Estado de Santa Catarina

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	OBJETIVOS	14
2.1.	Objetivo geral	14
2.2.	Objetivos específicos	14
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1.	Solo	15
3.2.	Fertilizantes orgânicos	16
3.2.1.	Extrato pirolenhoso.....	18
3.3.	Ecotoxicologia.....	20
3.4.	Collembola como indicador em testes ecotoxicológicos.....	22
4.	METODOLOGIA.....	24
4.1.	Criação do Organismos – teste: <i>Folsomia candida</i>	24
4.1.1.	Preparo do meio de cultura para criação	24
4.2.	Manutenção das matrizes no laboratório.....	26
4.3.	Sincronização dos colêmbolos para testes.....	26
4.4.	Preparo do solo artificial tropical (SAT) para o teste ecotoxicológico..	27
4.4.1.	Mensuração do pH do SAT em KCl.....	28
4.4.2.	Mensuração e correção da Capacidade de Retenção de Água	28
4.5.	Tratamentos avaliados	28
4.6.	Teste de toxicidade aguda e toxicidade crônica	30
4.7.	Validação do teste.....	31
4.8.	Análise estatística	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1.	Toxicidade aguda.....	32
5.2.	Toxicidade crônica.....	37
6.	CONCLUSÃO.....	39
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1. INTRODUÇÃO

O solo representa uma das grandes riquezas da humanidade, pois é a base para a produção da maioria dos alimentos consumidos no mundo (RENNER et al., 2017). O consumo alimentício aumenta de acordo com o acréscimo populacional, tornando a busca por fertilizantes sustentáveis e novas tecnologias uma grande estratégia para a valorização de alimentos provindos da agricultura (ZHANG et al., 2015). Uma proposta é o uso de fertilizantes orgânicos, oriundos de animais, plantas e adubos verdes, os quais melhoram as características físicas, químicas e biológicas do solo, além de auxiliarem no sequestro de carbono (LI et al., 2011; LIANG et al., 2012; BUSARI et al., 2016; DI et al., 2020).

Com intuito de minimizar a emissão de gases atmosféricos, oriundos da carbonização da madeira, o uso do extrato pirolenhoso, subproduto da condensação desses gases voláteis, vem demonstrando resultados promissores como fertilizante, e regulador de crescimento vegetal, auxiliando ainda no controle de pragas e nematoides (SILVEIRA, 2010; FARIAS et al., 2020). Entretanto no Brasil, devido à carência de estudos científicos, sua eficiência como fertilizante ainda é limitada, tornando necessária a obtenção de informações que delimitem doses adequadas do extrato pirolenhoso para as culturas.

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de carvão (IBÁ, 2020), e conseqüentemente o maior produtor do subproduto extrato pirolenhoso, o qual ao ser descartado erroneamente, pode ser uma ameaça potencial à biodiversidade e a ecologia dos organismos que habitam o solo (CHELINHO et al., 2013). A biodiversidade edáfica é responsável pelo bom funcionamento do sistema-solo, formação e decomposição de matéria orgânica, biorremediação de solos contaminados, o que ampara sua incorporação como bioindicador nas avaliações referentes a qualidade do solo (MENDES et al., 2015).

Através de ensaios ecotoxicológicos é possível delimitar doses aceitáveis de uma substância específica quando aplicada ao solo, por meio do estudo dos efeitos tóxicos de doses específicas de tal substância quando aplicadas a biota do solo (CESAR, 2013). Apesar da crescente demanda de testes ecotoxicológicos para determinação de presença de metais e poluentes de águas contaminadas, o uso de ensaios que avaliem contaminação do solo ainda é pouco investigado, elevando a ecotoxicologia terrestre a um patamar de grande importância para fornecimento de

informações mais realistas e precisas das concentrações de substâncias-teste potencialmente tóxicas a biota do solo, e que conseqüentemente irão contaminar o solo (SISINNO et al., 2019).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Através de teste ecotoxicológico, determinar a toxicidade aguda e crônica de diferentes doses do fertilizante orgânico a base de extrato pirolenhoso, atendendo os critérios da ISO para validação do teste.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a toxicidade de diferentes doses do fertilizante orgânico a base de extrato pirolenhoso em teste ecotoxicológico, avaliando os parâmetros de toxicidade aguda e crônica sobre *Folsomia candida* utilizando solo artificial tropical.
- Avaliar o uso do produto Biopiról® como fertilizante de solo frente as respostas geradas pelos organismos utilizados nos ensaios ecotoxicológicos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Solo

O solo é um sistema aberto e dinâmico, que se desenvolve e evolui continuamente através de transformações. Sua formação se dá pela interação de diversos fatores como o material de origem, o relevo, os organismos que nele vivem e a vegetação que o recobre ao longo do tempo (SANTOS et al., 2018). O solo como um sistema integrado pode sofrer alterações de sua estrutura (SOUZA et al., 2014), através da degradação ou perturbação de seus atributos físico-químicos, tanto por atividade antrópica quanto natural, sendo as técnicas mais destacadas o desmatamento, as queimadas e o preparo do solo, exposição do solo aos fatores climáticos, os quais aumentam a degradação (SILVA et al., 2015).

Esse sistema complexo chamado solo constitui a base para desenvolvimento e nutrição de diversas plantas, sendo importante verificar sua fertilidade, para que esse forneça as necessidades básicas exigidas com o intuito de que as plantas expressem todo seu potencial, alcançando a máxima produtividade. A fertilidade do solo averigua a capacidade em que o sistema solo consegue suprir os nutrientes necessários ao bom desenvolvimento vegetal (MUNIZ et al., 2018).

Sua qualidade pode ser definida como a capacidade que o solo possui de funcionar em conjunto ao ecossistema, sustentando a diversidade biológica e mantendo a sanidade e qualidade do ambiente, animais (BARETTA et al., 2010), e é dependente de fatores externos, os quais não podem ser quantificados (ROUSSEAU et al., 2013), sua aferição se dá através de indicadores da qualidade do solo e estes são geralmente divididos em físicos, químicos e biológicos (FREITAS et al., 2012).

O uso de bioindicadores para a avaliação de alteração do solo é uma maneira eficiente e eficaz de delimitar o estado atual em que o solo se encontra (ANDRÉA, 2010). Os indicadores de qualidade física do solo são os principais fatores que irão salientar a necessidade da adesão de novos sistemas que recuperem a estrutura do solo, e que elevem assim os teores de matéria orgânica após degradação (STEFANOSKI et al., 2013). Bem como as características químicas do solo, as quais são modificadas através da retirada da cobertura vegetal, sendo necessária a reposição desses nutrientes por fertilizantes (FREITAS et al., 2017), os quais devem

estar em equilíbrio com o solo para que as plantas desenvolvam-se satisfatoriamente, absorvendo as quantidades suficientes e em proporções balanceadas desses compostos, gerando assim uma alta produção e maior potencial genético (RONQUIM, 2010).

3.2. Fertilizantes orgânicos

Aubos orgânicos podem aumentar o teor de matéria orgânica no solo, aumentando a fertilidade e melhorando suas propriedades físico-químicas (YANG et al., 2017). A incorporação de compostos orgânicos ao solo, torna mais eficiente a absorção de fosforo e nitrogênio pelas plantas (CESTONARO et al., 2014).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa Nº 61, dia 08 de julho de 2020, que tem como um de seus objetivos estabelecer procedimentos mais rápidos e eficientes, através das mudanças tecnológicas mais atuais, a qual teve alto impacto na busca por fontes mais sustentáveis de fertilização (BRASIL, 2020). Essas fontes de fertilização alternativas são menos agressivas ao meio ambiente e ao solo, pois elas sofrem um processo natural de degradação através da compostagem por microorganismos, o que resulta em matéria orgânica pura, a qual tem um alto valor agregado (TIECHER, 2016).

Mesmo que conste na Instrução Normativa do MAPA Nº 46, de 06 de outubro de 2011, regulamentada até hoje, que não é permitido o uso de extrato pirolenhoso em sistemas de cultivo orgânico, quando a atividade de onde o produto oriundo é legalizado, o seu uso é recomendável mediante a avaliação da ausência de contaminantes (BRASIL, 2011a).

As plantas são detentoras de 118 elementos químicos naturais, porém ainda existem 17 elementos essenciais que auxiliam em seu desenvolvimento e crescimento, os quais devem ser acrescentados através da adubação, tanto mineral quanto orgânica (REETZ, 2017). Os fertilizantes orgânicos são subprodutos de procedência vegetal ou animal, que aplicado ao solo, respeitando limites de aplicação, podem servir como adubo para as culturas, destacando-se entre eles: vinhaça (DA SILVA et al., 2014), torta de filtro (NOLLA et al., 2015), dejetos suínos (LOCATELLI et al., 2019), material oriundo de biodigestores (OLIVEIRA et al., 2019), cama de aves (BELLE et al., 2021), dejetos líquidos de bovinos (MATOS et al., 2017) manipueira

(DE LIMA; VALENTE, 2017) e o extrato pirolenhoso (VEIGA; BRESOLIN, 2019). Souza-Silva et al. (2015) utilizaram o extrato pirolenhoso como fertilizante foliar em mudas clonais de híbrido de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* á campo, seguindo as doses recomendadas pela Biocarbo Indústria e Comércio Ltda., nas diluições de 0,1%, 0,5%, 1,0% e 2,0%, e por fim, obtiveram maior altura, MSPA (matéria seca da parte aérea), MSR (matéria seca do sistema radicular) e PCR (reação da cadeia de polimerases) das mudas, quando sua aplicação de 100% de cobertura das folhas.

Entretanto, os benefícios gerados pelo uso de fertilizantes orgânicos tanto na agricultura quanto no setor florestal não demonstram resultados imediatos, pois precisam passar pelo processo de mineralização para serem absorvidos pelas plantas (SILVA, 2016). Essa lenta liberação de nutrientes é um ponto positivo, já que os adubos minerais possuem uma liberação mais rápida de nutrientes no solo, reduzindo assim a sua disponibilidade para as plantas ao longo do tempo (MUMBACH, 2016). Dessa forma, o uso de fertilizantes orgânicos pode elevar e manter o teor de matéria orgânica no solo em longo prazo, melhorando as condições físicas do solo.

Contudo, o uso de subprodutos vegetais e agroindustriais como fertilizantes, esbarra, muitas vezes, na sua composição variável, a qual pode conter elementos-traço (ETs) (VAN LEEUWEN et al., 2015), dos quais, alguns são considerados tóxicos as plantas em qualquer concentração, podendo ocasionar ainda a contaminação do solo e da água, bem como danos diretos às plantas (ALLOWAY, 1993). Se aplicados com frequência no solo, podem ocasionar o acúmulo de elementos potencialmente tóxicos como cobre (Cu), zinco (Zn), cromo (Cr) e chumbo (Pb), tanto no perfil do solo como nas células dos vegetais (PÉREZ-GIMENO et al., 2016), afetando ainda a dinâmica biológica do solo, a qual pode ser demonstrada através de análises de fauna do solo e do seu componente microbiano (SILVA, 2016).

Neste cenário, é evidente seu potencial uso, desde que bem manejados e analisados quanto a sua composição, buscando respeitar a capacidade de suporte do solo e de exportação das culturas associadas, caracterizando-se como uma fonte promissora de nutrientes a baixo custo (CRUZ et al., 2017), considerando que, em geral estes resíduos são ricos em macro e micronutrientes, melhorando o funcionamento, estrutura e fertilidade do solo (RONQUIM, 2010).

Balerini et al. (2018) estudaram a adubação orgânica com biofertilizantes líquidos, compostos orgânicos (os quais não foram especificados) e cobertura verde,

durante quatro anos de aplicação no solo, concluindo que altas doses desses fertilizantes podem ocasionar o incremento de metais considerados elementos-traço, principalmente na camada superficial de 0-10 cm. Alguns elementos-traço ligam-se aos teores de matéria orgânica presente no solo, o que comprova a extrema importância da aplicação de componentes orgânicos ao solo, tendo em vista que eles diminuem a mobilidade desses elementos indesejados.

Ao estudarem, Alves et al. (2018), constataram que o comportamento da fauna do solo em solo submetido a diferentes formas de adubação, que a adubação orgânica, com dejetos de suínos, e a adubação organo-mineral favoreceram maior abundância e riqueza de organismos. Resultado semelhante é reportado por Silva et al. (2014), os quais observaram que os usos de dejetos de suínos em doses limitadas aumentaram a abundância da fauna.

Outros autores como Migliavacca et al. (2019), estudaram a qualidade do solo após o uso de cama de aves como fertilizante, relatando seu potencial como fonte de fósforo, potássio, enxofre, cobre e zinco no solo. No entanto, destacam que a dose utilizada varia de acordo com a cultura e o tipo de solo, buscando evitar o acúmulo de nutrientes e, por consequência, a contaminação do solo e da água.

3.2.1. Extrato pirolenhoso

A aplicação racional e sustentável de fertilizantes traz à tona o possível uso de fertilizantes a base de extrato pirolenhoso, o qual pode auxiliar na minimização do impacto ambiental causado pela liberação dos gases na atmosfera, bem como auxilia na reciclagem de resíduos oriundos da madeira e gera alternativas de emprego para a população (TOGORO, 2012). Tendo em vista que o extrato pirolenhoso é um composto muito ácido, devido sua composição ser em grande parte o ácido acético e outros ácidos carboxílicos (BATISTA, 2013), é fato que ele influencia na movimentação e adsorção de nutrientes no perfil do solo (TOGORO, 2012).

O processo que leva ao extrato pirolenhoso final inicia através da madeira, a qual é composta principalmente de carbono, oxigênio, água, hidrogênio, nitrogênio e sais, que formam a biomassa vegetal (KLOCK; ANDRADE, 2013). Essa biomassa passa pelo processo de pirólise, a qual através da ausência de um agente oxidante, como o oxigênio, torna possível a degradação térmica de qualquer material orgânico. O processo de pirólise lenta ou carbonização, é destinado a produção de carvão e

seus subprodutos, já que levam em consideração variáveis como temperatura, taxa de aquecimento e o tempo (VIEIRA et al., 2011).

A madeira ao passar pelo processo de carbonização, como subprodutos são gerados o carvão vegetal e gases não condensáveis, bem como o líquido pirolenhoso e o alcatrão vegetal (MEDEIROS, 2018). Como os líquidos condensáveis gerados durante a carbonização são compostos por extrato pirolenhoso, óleos vegetais e o alcatrão, esse composto precisa passar pelo processo de decantação e destilação, para que o extrato pirolenhoso, que é solúvel em água possa ser separado do alcatrão e dos óleos vegetais (WU et al., 2015).

Muitos estudos enfatizam o uso do extrato pirolenhoso como nematicida, herbicida, germinante e fungicida, entretanto, ainda é notável a escassez de estudos que fomentem sua utilização como fertilizante de solo, tendo em vista que seu potencial no controle de pragas e doenças é muito mais explorado.

Estudos como o de Lopes et al. (2020) obtiveram êxito ao utilizar o extrato pirolenhoso como nematicida de *Neoechinorhynchus buttnerae* (acanthocephala), endoparasita do tabaqui. Outros autores como Zeferino et al. (2018) testaram seu uso como coadjuvante a herbicidas no controle de sementes de plantas daninhas, concluindo que tanto em conjunto como solo o extrato pirolenhoso funciona como herbicida pré-emergente, inibindo 100% das sementes em altas dosagens. Esse resultado citado anteriormente foi semelhante ao encontrado por Lourenço (2019), que avaliou a germinação e desenvolvimento de sementes de *Brachiaria britzantha* cv. Piatã em diferentes concentrações de extrato pirolenhoso, o qual obteve sucesso na germinação das sementes sob o uso do extrato.

Várias espécies arbóreas podem ser utilizadas na produção do extrato pirolenhoso. Como por exemplo, o extrato pirolenhoso produzido a partir da carbonização de *Mimosa tenuiflora* e de *Eucalyptus urograndis* que apresenta alta inibição de bactérias e fungos, demonstrando assim grande potencial como produtor de agentes antibacterianos e antifúngicos naturais (ARAÚJO, 2018). O extrato pirolenhoso em geral, possui alto potencial antifúngico e antibacteriano, quando comparado com antifúngicos e antibactericidas comerciais, evidenciando assim maior taxa de inibição na reprodução desses organismos (VIEIRA, 2019).

O extrato pirolenhoso quando aplicado ao solo acarreta melhorias nas propriedades físicas, químicas e biológicas, bem como estimula a germinação e a qualidade das plantas (SCHNITZER et al., 2010). Schnitzer et al. (2015), avaliando o

efeito de diferentes doses de extrato pirolenhoso no cultivo de orquídeas, constatou que seu uso como fertilizante de solo aumentou a produção de pseudobulbos, diretamente proporcional a dose aplicada a cada tratamento. Os pseudobulbos são as partes da planta que garantem a sustentação das folhas e flores, conseqüentemente com o seu aumento, o número de flores também aumentou, podendo assim ter potencial no incremento de nutrientes.

Veiga e Bresolin (2020) tiveram como objetivo em seu estudo avaliar a utilização de extrato pirolenhoso Bioquim® nas doses 0%, 1%, 2%, 4% e 6% em mudas de alface, concluindo que a partir da dose 4% ocorreu um efeito de fitotoxicidade do extrato. Porém, concluíram que em geral, os efeitos do produto sob as plantas foram variáveis, e salientaram a grande importância de mais estudos sobre seu uso como fertilizante.

3.3. Ecotoxicologia

A fauna edáfica é altamente sensível as técnicas de manejo aplicadas sobre o solo, e por isso, os organismos que compõe esse grande grupo podem ser utilizados como indicador de qualidade do solo (BARETTA et al., 2011; CICHELERO et al., 2019) através de testes Ecotoxicológico.

No ano de 1969, o toxicologista francês René Truhaut propôs pela primeira vez o conceito do termo ecotoxicologia, definindo-a como a ciência, que objetiva estudar os efeitos de substâncias sobre organismos vivos (TRUHAUT, 1997). Neste mesmo viés, Brown et al. (2015) afirmam que a fauna é afetada pelo clima, e a sua interação com o solo e a vegetação, o que salienta o estudo do elo entre a biodiversidade que há acima e abaixo do solo.

A ecotoxicologia surge como uma ciência associada a estudos de contaminação de solo ou água, e através da aplicação de testes ecotoxicológicos é possível avaliar a ação das substancias toxicas no ambiente, já que os organismos são altamente sensíveis as mudanças ecossistêmicas (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008). Neste contexto, os ensaios ecotoxicológicos devem ser padronizados conforme normas já estabelecidas, contribuindo para maior confiabilidade no monitoramento e avaliação dos ambientes (OECD, 1984).

Nos ensaios ecotoxicológicos, os organismos utilizados podem ser expostos a testes agudos ou/e crônicos. Os testes de exposição aguda consistem no contato direto com o composto químico, podendo ser um único contato ou múltiplas vezes, e o efeito é imediato. Por outro lado, nos testes de exposição crônica, os organismos entram em contato com baixas concentrações do composto, liberado gradativamente ao longo de um determinado tempo, e nesse caso, os efeitos são observados lentamente (OLIVEIRA FILHO et al., 2018). Fatores como frequência de exposição, suscetibilidade, metabolismo dos organismos, e as condições de aclimação podem afetar diretamente os testes, de acordo com um dos primeiros estudos sobre ecotoxicologia realizado por Rand e Petrocelli (1985), conceitos os quais permanecem até hoje. Nos testes de ecotoxicidade crônica, os efeitos observados são sub-letais, permitindo assim a sobrevivência, contudo, afetam diretamente as funções biológicas, como reprodução e crescimento (MAGALHÃES; FERRÃO-FILHO, 2008).

O ensaio de sobrevivência faz parte dos testes agudos, tendo em vista que analisa a resposta das concentrações com toxicidade extrema de uma substância sob os organismos, servindo assim para determinar as concentrações de letalidade no ensaio de reprodução, o qual avalia o efeito de diferentes concentrações de uma substância sobre o número de juvenis gerados por indivíduos adultos (OLIVEIRA FILHO et al., 2018). Os testes ecotoxicológicos são realizados com organismos padrões, que devem ser representativos, sensíveis, de alta abundância no ambiente e de fácil manipulação em laboratório (CARVALHO et al., 2009). No caso dos grupos terrestres, os representantes são colêmbolos, minhocas, enquitreídeos, isópodas e ácaros (NIVA; BROWN, 2019).

No caso o teste de toxicidade aguda, é possível determinar concentrações que são letais a uma porcentagem específica de indivíduos, como LC50, correspondente a concentração letal que matou 50% dos indivíduos. Já no teste de toxicidade crônica, o parâmetro avaliado é EC50, o qual determina a concentração estimada para reduzir a taxa de reprodução no final do teste em 50%. Para as duas toxicidades é possível determinar valores de NOEC, que é a maior concentração testada de uma substância de teste na qual nenhum efeito letal foi observado e LOEC, que corresponde a menor concentração da substância de teste que se observa ter um efeito significativo quando comparada com o controle

Esses organismos são considerados bioindicadores, os quais tendem a indicar a incidência de perturbações naturais ou antrópicas de um determinado ecossistema

(HEGER et al., 2012). Os organismos respondem quando são submetidos a estressores incomuns em seu habitat, os quais alteram sua estrutura populacional, e dessa forma eles podem ser utilizados como bioindicadores da qualidade do solo (CARVALHO, 2014).

3.4. Collembola como indicador em testes ecotoxicológicos

Os colêmbolos fazem parte do grupo dos artrópodes, apresentando pequena dimensão, com o corpo recoberto por cerdas, sensilas e trocóbrias com função sensorial e escamas com função de proteção (OLIVEIRA FILHO et al., 2018). Estes organismos, foram classificados em três categorias de acordo com Gisin (1943): edáficos (habitam as camadas abaixo da superfície do solo); hemiedáficos (habitam as camadas superiores do solo e a serapilheira) e epiedáficos (habitam a superfície e a vegetação).

Estes organismos vêm sendo amplamente utilizados como modelos de ensaios ecotoxicológicos, tendo em vista sua alta sensibilidade (CARVALHO, 2014). Neste contexto, a espécie *Folsomia candida* (Willem 1902) faz parte da ordem *Entomobryomorpha*, e família *Isotomidae*, amplamente distribuída em todo o mundo. Atingem seu estágio adulto entre 21 a 24 dias após eclosão, reproduzindo-se através da partenogênese, o que diminui em grande parte a variabilidade genética (FOUNTAIN; HOPKIN, 2005). Os ovos são produzidos e incubados e temperatura ideal, de 21 °C, sendo gerados cerca de 30 a 50 ovos por indivíduo, os quais levam de 7 a 12 dias para eclosão (OLIVEIRA FILHO et al., 2018). Sua alimentação ocorre através das hifas de fungos, e possui preferência por algumas espécies, por exemplo as leveduras, presentes no fermento biológico (HOPKIN, 1997).

A espécie *F. candida* é recomendada para testes ecotoxicológicos conforme normativa ISO 11267 (ISO, 1999) e são considerados bioindicadores por sua sensibilidade a contaminantes, bem como pela facilidade de amostragem e cultivo em condições de laboratório. Estudos recentes mostram a sensibilidade desses organismos à aplicação de fungicidas e inseticidas, que afetam a sobrevivência, a reprodução e a expressão gênica, causando também efeitos de genotoxicidade e citotoxicidade nas espécies (JEGEDE; OWOJORI; RÖMBKE, 2017; SIMÕES et al., 2019; GÜNDEL et al., 2019). Para teste que avaliam a toxicidade aguda, é possível

obter uma resposta desses organismos em 14 dias. E para avaliações de toxicidade crônica a resposta se dá em 28 dias de exposição dos organismos ao contaminante.

A aplicação de produtos no solo pode interferir sobre a abundância das populações da fauna, e os organismos mais sensíveis demonstram maiores resultados em testes ecotoxicológicos (FIOREZE, 2018; MACCARI, 2018).

Fatores como o grupo de fauna edáfica e o tipo de solo utilizado, ocasionam variações nos resultados e os resíduos avaliados podem apresentar toxidez diferente no ambiente (TESTA, 2018). Outros estudos recentes confirmam também a eficiência da ecotoxicologia para determinação da toxicidade de compostos, como o trabalho de Bernardino (2019), que avaliou através de testes ecotoxicológicos a concentração de pesticidas em solos do Cerrado, utilizando como organismos teste *Eisenia andrei* (minhocas) e *Folsomia candida* (colêmbolos).

Souza e Coneglian (2019) objetivaram em seu trabalho através de testes ecotoxicológicos com *F. candida* avaliar a toxicidade do resíduo de hidrocarboneto presente na borra oleosa residual da troca de óleos de motores e de combustível presentes no solo. E como resultado detectaram que nas amostras de solo contaminado com óleo não houve toxicidade significativa aos organismos, porém a gasolina apresentou toxicidade no teste de letalidade. Já Cardoso e Da Silva Leal (2016) avaliaram a toxicidade da manipueira a partir de teste ecotoxicológicos de fuga, com o uso de *F. candida* como organismo-teste, e concluíram que em geral a curto prazo não houve toxicidade aos organismos quando submetidos ao solo contaminado.

4. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), utilizando a estrutura e dependências dos Laboratórios de Solos e de Controle Biológico. A metodologia descrita para o teste foi baseada em Oliveira Filho et al. (2018), seguindo as normas da ISO – *International Organization for Standardization*. O fertilizante orgânico BiopiroI[®], a base de extrato pirolenhoso, utilizado como contaminante para os testes foi cedido gentilmente pela empresa Biocarbo Ind. Com. Ltda.

4.1. Criação do Organismos – teste: *Folsomia candida*

As matrizes de *Folsomia candida* foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Solos e Sustentabilidade, área específica de Ecotoxicologia, da Universidade Estadual do Oeste de Santa Catarina (UNIOESTE), câmpus Chapecó, para dar início à criação desse organismo teste no Laboratório de Controle Biológico UTFPR-DV, em B.O.D. com condições controladas a sua sobrevivência. Tais condições para manutenção e realização dos testes com colêmbolos é padronizado pela ISO 11267 (1999) e ABNT NBR ISO 11267 (2011), com temperatura controlada entre 20 °C± 2 °C e fotoperíodo de 12h:12h, na relação claro/escuro.

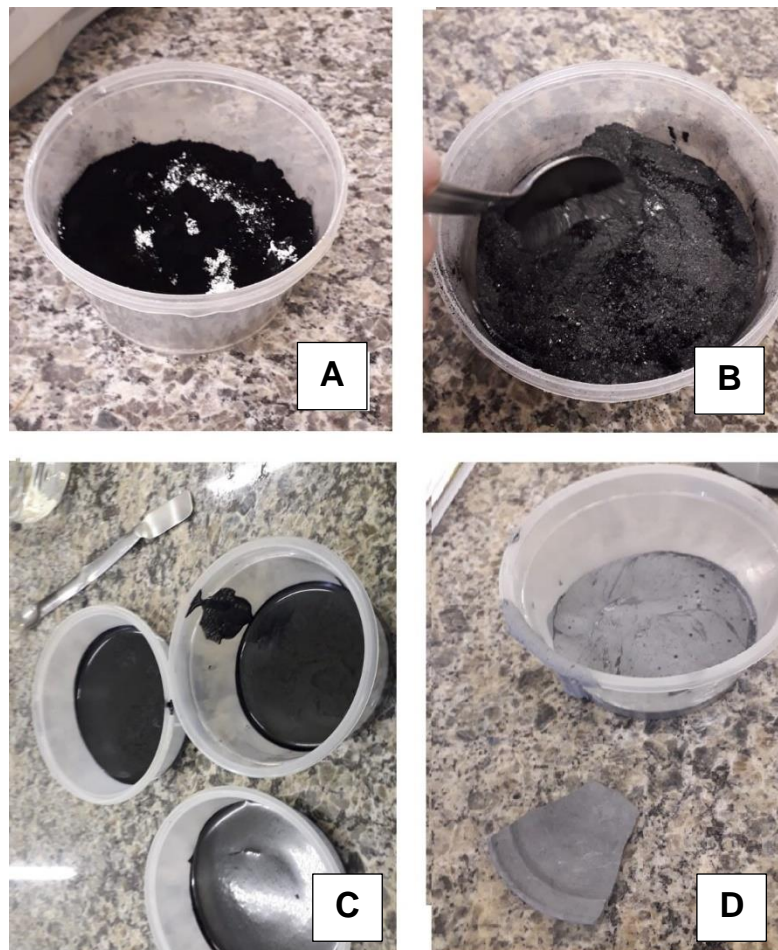
4.1.1. Preparo do meio de cultura para criação

O meio de cultura utilizado para a criação dos organismos teste foi composto por carvão ativado e gesso, misturados com água destilada. Conforme descrito pela ISO 11267 (ISO, 1999) adaptadas pelo protocolo da Oliveira Filho et al. (2018), as proporções dos constituintes carvão/gesso foram de 1:11 para um volume de água destilada entre 60 a 100 mL para cada 100 gramas da mistura dos pós. O carvão ativado foi utilizado puro, com pH em torno de 6 e 7, e o gesso de secagem lenta, com pH em torno de 6,4, conforme ISO 17512 (ISO, 2008). O carvão e o gesso foram adquiridos já com esse pH.

Para preparo do meio, foram pesados o gesso e o carvão ativado nas proporções acima descritas, em balança semi-analítica (Figura 1A). Em seguida,

esses compostos foram misturados cuidadosamente adicionando água destilada, mexendo vagorosamente, até a mistura apresentar consistência pastosa e homogênea (Figura 1B). Essa mistura foi acondicionada em recipientes plásticos descartáveis, transparentes, com aproximadamente 400 mL de volume, formando uma camada de meio de cultura com espessura entre 0,5 a 1 cm. Buscando remover todo o ar do fundo do pote contendo o meio de cultura, estes foram levemente batidos contra a bancada até a retirada de todo o ar (Figura 1C). Quando a mistura estava quase seca, foram feitos dois sulcos na placa no meio com auxílio de uma espátula de metal, para que a postura dos ovos ocorresse de forma concentrada nesse local (Figura 1D).

Figura 1 – Sequência para preparo de meio de cultura para multiplicação de *Folsomia candida*.



Legenda: A= Gesso e carvão ativado na proporção de 1:11, no recipiente; B= Gesso e carvão ativado misturados com água destilada; C= Mistura pronta no recipiente; D= Mistura pronta e seca, na altura de 1 cm.

Fonte: O autor, 2019.

4.2. Manutenção das matrizes no laboratório

A manutenção das matrizes se dá por meio de correção semanal de umidade e alimentação. Para cerca de 50 a 100 colêmbolos foi adicionado 10 mg de fermento biológico seco (adquirido no supermercado) por recipiente e por semana (ISO, 1999; OECD, 2009), sempre analisando se não há inibição do crescimento populacional dos indivíduos devido ao aumento fúngico através de proliferação das hifas, pois essa situação pode ocasionar a morte dos indivíduos (OLIVEIRA FILHO et al., 2018). Quando o meio de cultura da matriz estiver superlotado, deve-se sincronizá-la (troca de meios de cultura como estimulador da ovoposição).

4.3. Sincronização dos colêmbolos para testes

A sincronização dos organismos teste consiste na troca de meio de cultura, visando gerar um estresse repentino nos indivíduos, estimulando a ovoposição, criando populações homogêneas de 10 a 12 dias de vida.

Para isso, o meio de cultura foi preparado, conforme descrito no item 3.2. e deixado secar por 2 dias dentro da B.O.D. para posterior transferência dos colêmbolos. Em cada frasco com meio foram transferidos cerca de 100 colêmbolos adultos mantidos em criação. Após a transferência para o novo meio, os organismos continuaram sendo mantidos em ambiente controlado em B.O.D., disponibilizando alimento fresco (fermento biológico 2 mg) e saturando a umidade do meio, semanalmente, através da adição de água destilada com um conta-gotas. Os meios de cultura em que ocorreu a sincronização passam a ser matrizes dessa espécie para criação.

Transcorridos 10 dias após a transferência, verificou-se a existência de grande quantidade de ovos a serem retirados. A transferência foi feita com o auxílio de uma lupa, onde foi colocado o recipiente em que se encontravam os ovos, e com um pincel de ponta fina, umedecido em água destilada, foram coletados os ovos e depositados sob uma placa do próprio substrato do meio de cultura. Foi adicionada uma pequena quantidade de comida fora da pedra em que eram depositados os ovos, para atrair os juvenis, evitando o erro de sincronização. Essa pedra foi colocada em um novo meio de cultura, o qual foi umedecido, tampado e etiquetado. Foi marcado o dia de eclosão

dos ovos, e após 12 dias da eclosão, foi possível montar os testes, de acordo com protocolos da ISO (ISO, 1999; ISO, 2008) e OECD (OECD, 2009).

4.4. Preparo do solo artificial tropical (SAT) para o teste ecotoxicológico

O SAT utilizado foi preparado em laboratório seguindo as indicações de Garcia (2004), na qual ocorre a substituição da turfa, descrita inicialmente pela OECD (1984), pela fibra de coco, mantendo a proporção de 10%. Porém, para os testes, tendo em vista maior proximidade com os solos tropicais e as condições de campo (AMORIM et al., 2005), foi adicionado apenas 5% de fibra de coco.

A receita utilizada foi a de Oliveira Filho (2018) adaptada da receita de Garcia (2004) de 75 % de areia fina; 20% de caulim e 5 % de fibra de coco, conforme o peso de substrato que se deseja, devendo ser preparada a quantidade total de solo demandada para a realização dos testes. Para a preparação de 1,6 kg de SAT, a areia foi lavada três vezes com água destilada, sendo em seguida, seca em estufa por 24 horas a 105°C. (OLIVEIRA FILHO et al., 2018). A fibra de coco foi seca em estufa por 48 horas a 60-65°C, logo que resfriada, foi tamisada em peneira de 2mm (Figura 2A). A mistura foi composta de 1,2 kg de areia, 320 gramas de caulim e 80 gramas de fibra de coco (Figuras 2B a 2C).

Figura 2 – Preparação de substrato para o Solo Artificial Tropical (SAT) a ser utilizado no teste ecotoxicológico utilizando o fertilizante orgânico a base de extrato pirolenhoso Biopirol® .



Legenda: A= Moagem da fibra de coco; B= Pesagem da fibra de coco; C= Mistura de areia, caulim e fibra de coco.
Fonte: O autor, 2019.

4.4.1. Mensuração do pH do SAT em KCl

O pH ideal que o SAT deve estar é entre 5,5 e 6,5 para possibilitar as condições favoráveis para sobrevivência e reprodução dos organismos de *F. candida* (ISO, 2001). Para aferição do pH, foram colocadas 10 gramas de SAT em três recipientes, adicionando-se 50 mL de solução de cloreto de potássio (KCl 1 mol); agitando-se manualmente em seguida por 5 minutos e deixado descansar por 2 horas. Transcorrido o tempo, o pH de cada recipiente foi aferido através do peagômetro.

4.4.2. Mensuração e correção da Capacidade de Retenção de Água

A capacidade de retenção de água (CRA) descreve a quantidade máxima de água livre que um solo consegue reter. Para os testes, a determinação da CRA do solo foi feita em laboratório, seguindo o protocolo da ISO 11465 (1993). Após a determinação da CRA máxima, o valor correspondente foi corrigido para 40 a 60% da CRA máxima, através de regra de três simples, sendo essa mensuração feita antes de iniciar o teste.

A CRA máxima do SAT utilizado para estes ensaios foi de 48,28%, e CRA corrigida para 60% foi de 28,97%. Como o produto testado nos ensaios era líquido, e foi diluído em água destilada, os cálculos do volume de água a ser colocado em cada recipiente foram baseados na quantidade de água adicionada para diluição das doses de Biopiról®. Essa mensuração é realizada apenas antes da realização dos testes.

4.5. Tratamentos avaliados

As diluições do produto utilizadas foram de 0,1 ml; 0,2 ml; 0,4 ml; 1,0 ml; 2,0 ml, 4,0 ml e 6,0 ml, na proporção de 0,05%; 0,1%, 0,2%, 0,5%, 1,0%; 2,0% e 3,0 % em 100 ml de água destilada, conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Concentrações e doses utilizadas em laboratório de extrato pirolenhoso Biopiról® para contaminação de substrato teste e

Concentração Biopiról® (%)	Quantidade de água a ser diluído (ml)	Dose da solução (ml)
0	0	0
0,05	100	0,10
0,10	100	0,20
0,20	100	0,40
0,50	100	1,00
1,00	100	2,00
2,00	100	4,00
3,00	100	6,00

Para aplicação dos tratamentos, foram pesadas 200 gramas de SAT para cada tratamento, colocadas em saquinhos identificados, os quais foram contaminados com as respectivas doses, e misturados por agitação do saco plástico até a mistura ficar homogênea. Após, foram transferidas 30 gramas do SAT contaminado para cada recipiente individual. Cada tratamento possui seis repetições, totalizando 48 unidades experimentais. Contudo, para cada tratamento foi preparada uma réplica para aferição do pH final.

Após a transferência do SAT contaminado para os recipientes individuais de acordo com os respectivos tratamentos, foram coletados 10 colêmbolos do meio de cultura com o auxílio de uma pipeta entomológica e pré-transferidos a uma placa de Petri adaptada com fundo preto, o qual facilita a visualização dos indivíduos, transferindo-os em seguida para os recipientes contendo o solo contaminado e solo controle para teste de forma aleatória, segundo um delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Após a transferência dos colêmbolos para o recipiente teste de acordo com o escrito no item 4.6., estes foram alimentados com 2mg de fermento biológico, no 1º, 14º e 21º dia do ensaio, evitando excesso de alimento, o qual pode proliferar fungos. A umidade foi ajustada semanalmente até a saturação inicial, a partir da pesagem do recipiente-teste, e quando necessário foi adicionado algumas gotas de água destilada, para que esse permanecesse com o mesmo peso úmido inicial. Durante a realização dos testes, os frascos foram mantidos em B.O.D. em temperatura entre $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e

fotoperíodo entre 12h:12h, na relação claro/escuro, controladas em laboratório com auxílio de uma B.O.D. (Figura 3).

Figura 3 – Unidades experimentais acondicionadas na B.O.D. para manter o ambiente nas condições favoráveis a criação dos colêmbolos durante os 28 dias de teste.



Fonte: O autor, 2020.

4.6. Teste de toxicidade aguda e toxicidade crônica

O teste de sobrevivência consiste em um ensaio do tipo agudo e é de grande importância para determinar as concentrações a serem utilizadas no teste crônico de reprodução (OLIVEIRA FILHO et al., 2018). Nesse estudo, a contagem foi ao final dos 28 dias, avaliando no teste os parâmetros de toxicidade aguda e crônica em conjunto (ABNT, 2011).

Aos 28 dias do teste, foi realizada a contagem dos indivíduos, do número de juvenis gerados e do número de colêmbolos adultos que sobreviveram. O procedimento consiste na adição de água ao recipiente contendo o tratamento, mexendo o solo vagarosamente com auxílio de uma espátula. Este procedimento faz com que os colêmbolos vivos boiem na superfície. Logo em seguida, foram adicionadas ao frasco algumas gotas de tinta azul carimbo para facilitar a visualização dos organismos, procedendo-se o registro por fotografias. Foram feitas três fotos por

replica, sendo selecionada para a contagem apenas uma, a qual ficou mais nítida. A imagem mais nítida de cada repetição foi avaliada no *software Image J*[®] (IMAGEJ, 2004). Contabilizando inicialmente o número de adultos separadamente, e em seguida o número de juvenis. A contagem foi realizada três vezes para cada réplica.

4.7. Validação do teste

Foram avaliados os critérios de validação conforme as normativas ISO 11267 (ISO, 1999) e ABNT NBR ISO 11267 (ABNT NBR ISO, 2011), onde a mortalidade dos adultos deve ser inferior a 20%, o número de juvenis superior a 100 indivíduos para cada repetição e o coeficiente de variação deve ser inferior à 30%.

4.8. Análise estatística

Após atenderem os critérios de validação dos protocolos os dados foram submetidos à análise de normalidade e homogeneidade da variância utilizando os testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. Diferenças entre as doses de extrato pirolenhoso e o tratamento controle foram avaliadas por meio da análise de variância (ANOVA One-way) seguida pelo teste de médias de Dunnett ($p < 0,05$). Foi estimada a LC50 (concentração letal para 50% dos organismos) com uso do *software* PriProbit 1.63 (SAKUMA, 1998). O valor de EC50 (dose correspondente a concentração do composto para qual 50% do efeito é observado na reprodução) foi estimado por meio de análise de regressão não linear, utilizando o modelo mais cabível aos dados, utilizando o *software* Statistica 7 v7.0 (STATSOFT, 2004).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados indicam que todos os critérios definidos para validação dos testes pela ISO 11267 (ISO, 1999; ABNT NBR ISO 11267, 2011) foram atendidos, em que a mortalidade de adultos foi inferior a 20%, o número de juvenis superior a 100 indivíduos em cada repetição e o coeficiente de variação foi inferior a 30%. O número de indivíduos juvenis e adultos contabilizados ao final de 28 dias de teste é representado na Tabela 2.

Tabela 2 – Relação quantitativa de colêmbolos *F. candida* adultos (A) e juvenis (J) ao final dos ensaios ecotoxicológico utilizando doses de extrato pirolenhoso.

		CTRL	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
R1	A	10	10	5	7	6	10	7	6
	J	1114	766	471	462	349	663	435	204
R2	A	10	10	7	9	8	8	8	7
	J	722	726	428	561	466	437	464	257
R3	A	10	10	5	10	9	10	6	8
	J	906	765	453	793	443	833	304	446
R4	A	9	8	5	5	9	8	6	8
	J	811	530	481	456	458	526	318	356
R5	A	10	6	6	10	9	9	8	9
	J	847	402	448	589	483	498	447	571
R6	A	8	7	8	10	9	8	8	8
	J	793	287	623	509	419	429	514	452

Legenda: A=adultos; J=juvenis; CTRL=controle; D1 =dose 0,1 ml; D2 = dose 0,2 ml; D3 = dose 0,4 ml; D4 = dose 1 ml; D5 = dose 2 ml; D6 = dose 4 ml; D7 = dose 6 ml; R = repetições.

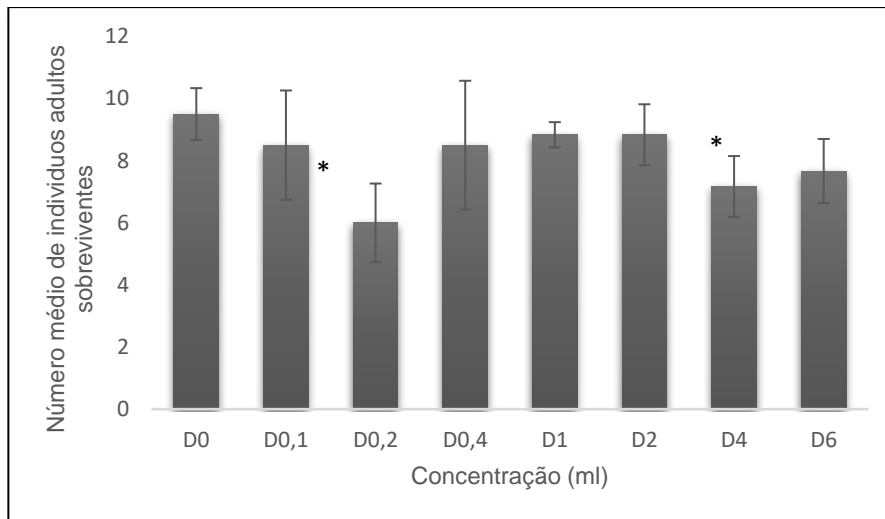
É possível analisar na Tabela 2 acima que em vários recipientes onde o número de adultos foi menor, ocorreu um menor número de juvenis em relação ao controle, sendo uma possível explicação para o fato de uma toxicidade crônica falsa, ou seja, não foi a ação do produto em si sobre os organismos de *F. candida* que causou a toxicidade crônica, mas sim o menor número de adultos sobreviventes que geraram poucos indivíduos juvenis.

5.1. Toxicidade aguda

No teste de toxicidade aguda, o qual avalia quais doses são letais aos organismos, observa-se que houve diferença estatística em relação ao controle nos

tratamentos D0,2(0,2 ml), correspondente a concentração de 0,1% e D4 (4ml), correspondente a concentração de 2% demonstrando que nessas doses o fertilizante BiopiroI® foi tóxico aos organismos (Figura 5).

Figura 4 - Número médio de indivíduos adultos sobreviventes de *F. candida*, após 28 dias de exposição ao contaminante BiopiroI® em concentrações crescentes em Solo Artificial Tropical (SAT).



Legenda: * = demonstra significância, em comparação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$); D0 = controle; D0,1 = dose 0,1 ml; D0,2 = dose 0,2 ml; D0,4 = dose 0,4 ml; D1 = dose 1 ml; D2 = dose 2 ml; D4 = dose 4 ml; D6 = dose 6 ml.

Contudo, não foi possível calcular a concentração letal que causou mortalidade em 50% dos indivíduos adultos (LC50) no teste. A menor dose que afetou os indivíduos foi a D0,2, correspondente a 0,1% que matou até 8 indivíduos adultos, e a dose que não apresentou efeito significativo foi D0,1, correspondente a 0,05 % conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros ecotoxicológicos calculados com base em teste de reprodução com colêmbolos *F. candida*, expostos a concentrações crescentes de BiopiroI® em solo artificial tropical (SAT).

Característica observada	Parâmetro	Dose (ml)
Letalidade (toxicidade aguda)	NOEC	0,1
	LOEC	0,2
Reprodução (toxicidade crônica)	LOEC	0,1
	EC50	25,15 (3,39-46,91)*

Legenda: NOEC = dose correspondente a concentração sem efeitos observáveis; LOEC = dose correspondente a menor concentração com efeitos observáveis; EC50 = dose correspondente a concentração do composto para qual 50% do efeito é observado na reprodução; * = Limites de confiança dos valores estimados.

A análise do pH do SAT realizada após a finalização dos ensaios, indicou que a variação média do pH entre o início (dia 1) e o final (dia 28) foi igual a 0,25 (pH médio inicial 5,64 – pH médio final 5,89), sendo consideravelmente baixa, já que o solo ainda permaneceu na faixa de pH ideal para reprodução de *F. candida*, de 5,5 a 6,5. Na Tabela 3 constam os valores de pH aferidos em cada tratamento no início e no final do teste.

Tabela 3 – Valores de pH inicial aferidos no solo contaminado no início do teste (dia 1), e valores de pH aferido ao final do teste (dia 28), de cada tratamento testado.

Doses	pH inicial	pH final
CTRL	5,73	6,08
D1	5,7	5,45
D2	5,79	6,28
D3	5,58	5,65
D4	5,63	6,17
D5	5,48	5,63
D6	5,42	5,57
D7	5,82	6,32
Média	5,64	5,89

Legenda: CTRL=controle; D1 =dose 0,1 ml; D2 = dose 0,2 ml; D3 = dose 0,4 ml; D4 = dose 1 ml; D5 = dose 2 ml; D6 = dose 4 ml; D7 = dose 6 ml; PH = potencial hidrogeniônico.

Os colêmbolos da espécie *F. candida* são altamente sensíveis, portanto facilmente influenciados por fatores como umidade, temperatura e pH do meio em que estão inseridos (OLIVEIRA FILHO; BARETTA, 2016). Condições favoráveis a sobrevivência e a reprodução de colêmbolos estão diretamente relacionadas ao pH, se os organismos são submetidos a ação de contaminantes que tornam o pH do meio mais baixo (ácido), as condições para a reprodução ficam adversas ao ideal. O mesmo se dá ao contrário, em meios em que o pH está mais próximo a neutralidade, ocorre um maior número de indivíduos devido a maior taxa de reprodução. Os colêmbolos *F. candida* são favorecidos pela elevação do pH, já que podem ser considerados intolerante a acidez, necessitando de pH acima de 5 para sobreviverem (ORTIZ et al., 2019), e a diminuição do pH pode causar efeito danoso na reprodução dos indivíduos (ANTONIOLLI et al., 2013). É possível identificar que ocorreu alta variação dos valores de PH inicial e final. Nos tratamentos D2 e D4 os valores de pH correspondente se tornaram mais ácidos durante o teste, podendo ser uma hipótese para explicar a toxicidade aguda encontrada para essas doses.

Jakoby (2008) avaliou o potencial do óleo de nim (*Azadirachta indica*) no controle de lepidópteros praga na cultura da soja em sistema orgânico. O autor constatou que o óleo de nim provocou mortalidade superior a 98%, nas concentrações baixas, as quais foram adicionadas primeiro, demonstrando que a relação entre tempo de aplicação e a mortalidade dos indivíduos é inversa. E como os colêmbolos foram adicionados nos recipientes de forma aleatória é possível que tenha ocorrido um menor tempo entre a aplicação do produto no SAT e a adição dos colêmbolos, em relação a sua primeira alimentação.

Em estudo realizado por Efron (2009), sobre a ação do óleo de nim (Organic neem[®] e Netuneem[®]), rotenona (Rotenat[®]), calda sulfocálcica, extrato pirolenhoso (Pironat[®] e Biopiro[®] 7M[®]) e fentiona (Lebaycid 500 CE[®]), em sistema orgânico sobre *Anastrepha fraterculus*, *Apis melífera* e *Cryptolaemus montrouzieri*, constatou que os produtos em geral não demonstraram efeitos significativos sobre a mortalidade dos indivíduos, com ressalva para a fentiona e rotenona. Resultado similar foi encontrado por Morandi Filho et al. (2006), os quais testaram Biopiro[®] 7M e Natuneem sobre a mortalidade de adultos de *Argyrotaenia sphaleropa*, não obtendo resultado significativo.

O produto Biopiro[®] pode ter apresentado toxicidade devido sua composição, a qual contém 85% de água, além de fenol (0,2%), guaiacol (0,1%), cresol (0,1%), o-cresol (1,1%), siringol (1,0%), 4-metilsiringol (1,1%), 4-etilsiringol (0,6%), 4-4 alilsiringol (0,2%), ácido acético (5,1%), ácido propiônico (0,7%), ácido butírico (0,2%), ácido crotônico (0,1%), acetona (0,2%), acetado de metila (0,6%), 2-ciclopentadiona (0,1%), 3-propionato de etila (0,2%), furfural (0,1%), metanol (0,1%), acetoinpropilenoglicol (0,1%), álcool furfurílico (0,1%), cicloteno (0,4%), maltol (0,1%) e 5-hidroximetil-2-furfural (1,2%) (ZANETTI, 2004)

Alguns autores sustentam a afirmação de que a passagem pelo processo de compostagem dos resíduos orgânicos antes de sua aplicação no solo é importante para reduzir a toxicidade dos compostos a fauna do solo (DOMENE et al., 2008). Os ácidos carboxílicos e os fenóis são encontrados com maior frequência nas primeiras semanas do processo de compostagem, caracterizando a ação microbiana na decomposição da matéria orgânica, e após 90 a 120 dias, esses ácidos começam a ser liberados (ALUISIO et al., 2019). Este fato pode ser uma hipótese que explique a baixa toxicidade do extrato pirolenhoso nos testes, considerando que sua composição é basicamente de ácidos carboxílicos e fenóis, os quais não são tóxicos ao meio

ambiente e podem auxiliar no crescimento radicular e servir de fonte de alimento para vários microrganismos da biota do solo (FRANCO, 2019; GONÇALVES, 2020).

Estudos em laboratório que utilizaram outros fertilizantes orgânicos sobre *Folsomia candida* também demonstram que a alta toxicidade do composto orgânico pode estar atrelada a sua utilização sem passar pelo processo de compostagem. Como verificado por Maccari et al. (2020) ao utilizarem a cama de aviário compostada e não compostada como fertilizante orgânico, em SAT com *F. candida*, constataram que a cama de frango apresentou maior toxicidade para os colêmbolos, causando 100% de letalidade nas doses de 80 e 100 t ha⁻¹, quando não compostada, o que está diretamente relacionado à presença de compostos tóxicos que são produzidos no processo de compostagem. Situação semelhante foi encontrada por Maccari et al. (2016), que ao utilizar esterco de suíno não curtido como fertilizante orgânico, em laboratório com solos naturais, visualizou efeitos significativos no teste de letalidade, em que o solo contaminado com esterco de suíno causou mortalidade dos indivíduos já na dose mais baixa aplicada.

Autores como Schnitzer et al. (2015), ao estudaram o uso do extrato pirolenhoso como indutor de enraizamento *in vitro* de orquídea, e Pieta (2017), que estudou o uso da substância no controle *in vitro* de patógenos da soja, enfatizam os diversos usos desse produto. Porém, existem poucos estudos que buscam o uso do extrato pirolenhoso como fertilizante, analisando a viabilidade do seu uso através de testes ecotoxicológicos terrestres (SISINNO et al., 2019). Ribeiro (2016) buscou avaliar os efeitos do extrato pirolenhoso em diferentes concentrações sobre variáveis ecológicas, histológicas e reprodutivas de minhocas *Eisenia andrei*, em SAT e em ambiente controlado, concluindo que quando o tempo de exposição ao produto é longo (60 dias), independente da concentração, o produto é de fato tóxico. O tempo de exposição desse trabalho para testes em colêmbolos, onde o teste de toxicidade aguda e crônica podem ser realizados no período de 28 dias, tempo necessário para que o contaminante afete os organismos de *F. candida*.

Ao estudar pesticidas e fertilizantes menos agressivos ao meio ambiente, Hagner (2013) objetivou investigar a toxicidade dos produtos de pirólise lenta derivados de Bétula (*Betula sp.*) (óleo de alcatrão de bétula, extrato pirolenhoso e biochar), em laboratório, constatando que organismos terrestres como a espécie de minhoca *Aporrectodea caliginosa* são mais tolerantes ao extrato pirolenhoso do que organismos aquáticos. O fato da toxidez do extrato pirolenhoso tanto à organismos

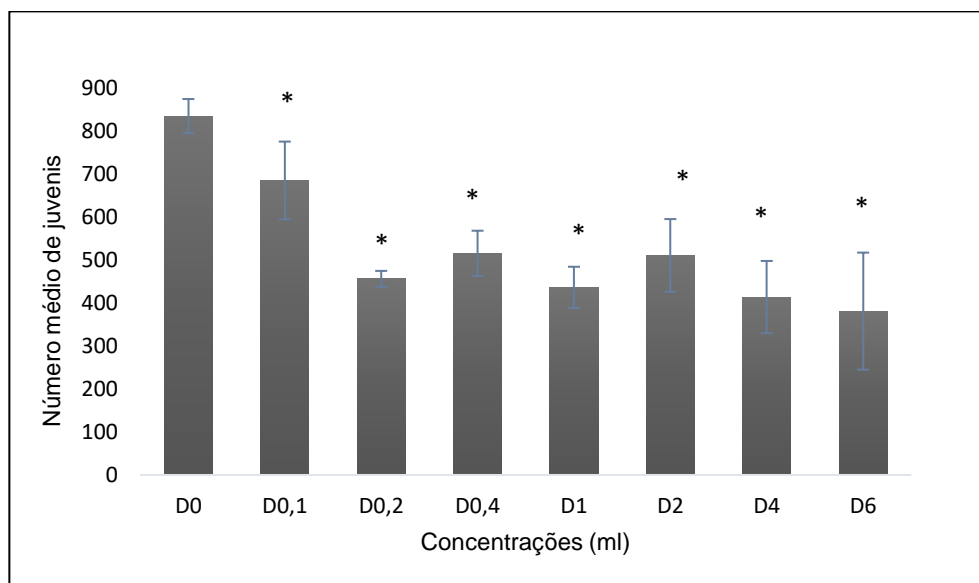
aquáticos como terrestres pode estar relacionada ao fato da presença de compostos fenólicos no produto, os quais mesmo estando em 0,08% da composição total, possuem elevada toxidez aos organismos (MESQUITA, 2011), causando grande variação nos seus ecossistemas (LEITE et al., 2012).

Outra possibilidade da toxicidade aguda do Biopiról[®] pode estar atrelada a condutividade elétrica do extrato pirolenhoso, a qual aumenta conforme as doses e os nutrientes envolvidos (ZANETTI et al., 2004; ANTUNES et al., 2008). Através da adubação com extrato pirolenhoso é possível observar o aumento da condutividade elétrica do solo, principalmente em doses acima de 20% (FARRELL et al., 2010; MENEGALE, 2013). Esse aumento ocorre, pois, o extrato pirolenhoso é também considerado um ativador de compostagem, ocorrendo aumento significativo de micronutrientes, os quais são excelentes condutores elétricos (BENITES et al., 2004).

5.2. Toxicidade crônica

No ensaio de toxicidade crônica, o qual busca avaliar o efeito de diferentes concentrações de um contaminante sobre o número de juvenis gerados por colêmbolos adultos, houve diferença significativa a partir da primeira dose testada (Figura 4).

Figura 5 - Número médio de juvenis de *F. candida*, após 28 dias de exposição ao contaminante Biopiról[®] em concentrações crescentes em Solo Artificial Tropical (SAT).



Legenda: * = demonstra significância, em comparação ao controle pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$); D0 = controle; D0,1 = dose 0,1 ml; D0,2 = dose 0,2 ml; D0,4 = dose 0,4 ml; D1 = dose 1 ml; D2 = dose 2 ml; D4 = dose 4 ml; D6 = dose 6 ml.

O parâmetro EC50, o qual determina a concentração do composto para o qual 50% do efeito é observado, em relação ao controle, foi estimado através de análise de regressão não linear, sendo escolhido o modelo Logístico, mais cabível para demonstração dos resultados. O valor estimado para EC50 foi de 25,15 ml de solução do produto diluído em 100 ml, com um intervalo de confiança de 3,39-46,91 e $R = 85\%$. No teste de toxicidade crônica não foi possível delimitar a dose que não apresentou efeitos observáveis (NOEC), pois todas as doses testadas apresentaram diferença em relação ao controle.

Macêdo (2019) comparou a toxicidade dos compostos ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio através de testes ecotoxicológicos com *Dugesia tigrina* e *Chironomus xanthus*, constatando que o ácido peracético afetou os organismos no teste de toxicidade crônica, diminuindo significativamente a taxa de fecundação. Tendo em vista que o ácido peracético é classificado como desinfetante de alto nível com eficácia microbiológica, de acordo com a legislação (BRASIL, 2010; BRASIL, 2011b), sua alta toxicidade afeta os níveis populacionais dos organismos, através da redução da reprodução (CAMPOS et al., 2016). O ácido peracético é composto por ácido acético e peróxido de hidrogênio (SANTA BÁRBARA; MIYAMARU, 2014), sendo que o ácido acético representa boa parcela da composição do extrato pirolenhoso, o que pode justificar a toxicidade do produto Biopiról® na reprodução de organismos de *F. candida* nesse trabalho. Zanetti (2004) demonstra que dentre componentes do extrato pirolenhoso Biopiról®, da empresa Biocarbo Indústria e Comércio Ltda., cerca de 5,1% da sua composição é de ácido acético.

Trabalhos como o de Corbani (2008) também demonstrou a toxicidade a presença do ácido acético do extrato pirolenhoso, quando avaliou a ação do Biopiról® por cinco dias, sobre a eclosão e a atividade de juvenis de nematóides *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne avanica* e *Tylenchulus semipenetrans*, em laboratório nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5, 2,0% e 4,0%. O autor constatou que para *M. incognita* nos 3 primeiros dias não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Para *T. semipenetrans*, a taxa de eclosão de juvenis foi afetada em todas as concentrações, sendo a concentração sem efeitos observáveis (NOEC) a menor concentração testada, de 0,5 %.

6. CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos nesse estudo, conclui-se que:

- Todas as doses testadas de extrato pirolenhoso demonstraram afetar a reprodução de *Folsomia candida*. Levando em consideração as concentrações avaliadas foi possível identificar para toxicidade crônica um valor de 25,15 ml para EC50.
- As doses D0,2(0,2 ml) e D4 (4ml), correspondentes as concentrações de 0,1% e 2% respectivamente, demonstraram efeito tóxico sobre a sobrevivências dos organismos, não sendo possível calcular o valor de LC50 devido o número de unidades amostrais.
- Nenhuma concentração de extrato pirolenhoso testada nesse trabalho é segura para uso como fertilizante de solo, por apresentarem toxicidade.
- Esse estudo serve como embasamento para novas pesquisas visando o uso do Biopirol® como fertilizante de solo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALOISIO, C. M.; SANTOS, F. T.; FEHMBERG, C.; BAUTITZ, I. R.; HERMES, E. Ácidos carboxílicos na compostagem de resíduos orgânicos de aves de corte e glicerina bruta. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS AGROPECUÁRIOS E AGROINDUSTRIAIS, 6., 2019, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBERA; Embrapa, 2019.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1993.
- ALVES, M. V.; SANTOS, J. C. P.; SEGAT, J. C.; SOUSA, D. G. DE; BARETTA, D. Influência de fertilizantes químicos e dejetos líquidos de suínos na fauna do solo. **Revista Agrarian**, v.11, n.41, p. 219-229, 2018.
- AMORIM, M. J.; RÖMBKE, J.; SCHALLNASS, H. J.; SOARES, A. M. V. M. Effect of soil properties and aging on the toxicity of copper for *Enchytraeus albidus*, *Enchytraeus luxuriosus*, and *Folsomia candida*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 24, n. 8, p. 1875-1885, 2005.
- ANDRÉA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoologica Mexicana**, v. 26, n. 2, p. 97-107, 2010.
- ANTONIOLLI, Z. I.; REDIN, M.; SOUZA, E. L. D.; POCOJESKI, E. Metais pesados, agrotóxicos e combustíveis: efeito na população de colêmbolos no solo. **Ciência Rural**, v. 43, n. 6, p. 992-998, 2013.
- ANTUNES, R. P.; NUNES, M. E. T.; MASSUKADO, L. M.; BOTTA, C. M. R.; SALATI, E. Avaliação de características ecotoxicológicas e químicas de fertilizantes orgânicos para aplicação agrícola. **Holos Environment**, v. 8, n. 2, 2008.
- ARAÚJO, E. S. **Potencial antibacteriano e antifúngico do extrato pirolenhoso**. 2018. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2018.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 11267**: Qualidade do solo — Inibição da reprodução de *Collembola (Folsomia candida)* por poluentes do solo. Rio de Janeiro, 2011. 18p.
- BALERINI, F.; BISSANI, C. A.; MARTINS, A. P.; ARNUTI, F.; BOETTCHER, G. N.; SCHWARZ, S. F. Elementos-traço no perfil do solo de pomar cítrico após adubação orgânica de longo prazo. **Revista Brasileira de Tecnologia Agropecuária**, v. 2, n. 1, p. 01-10, 2018.

BARETTA, D.; BROWN, G. G.; CARDOSO, E. J. B. N. Potencial da macrofauna e outras variáveis edáficas como indicadores de qualidade do solo em áreas com *Araucaria angustifolia*. **Acta Zoologica Mexicana**, v. 26, n. 2, p. 135-150, 2010.

BARETTA, D.; SANTOS, J.; SEGAT, J. C.; GEREMIA, E. V. Fauna edáfica e qualidade do solo. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 7, p. 119-170, 2011.

BATISTA, C. P. **Obtenção do ácido pirolenhoso proveniente da combustão da madeira de eucalipto, sua aplicação como bioestimulante e influência no solo de cultivo do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris*)**. 2013. 77 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Faculdade de Tecnologia Pentágono, Santo André, 2013.

BELLE, L. de A.; LAJÚS, C. R.; LUZ, G. L. da; SILVA, C. G. da; DALCANTON, F.; BARICHELLO, R.; OLIVEIRA, S. S. de; SAUER, A. V. Propriedades agronômicas da soja submetida à aplicação de doses de cama de aves e inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, 2021.

BENITES, V. de M.; BEZERRA, F. B.; MOUTA, R. de O.; ASSIS, I. R. de; SANTOS, R. C.; CONCEIÇÃO, M. da; ANDRADE, A. G. de. **Produção de Adubos Orgânicos a partir da Compostagem dos Resíduos da Manutenção da Área Gramada do Aeroporto Internacional do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2004. 21 p. n. 50.

BERNARDINO, M. M. **Comportamento e ecotoxicologia de pesticidas em solos do Cerrado**. 2019. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2019.

BIOCARBO. **Relatório técnico Extrato Pirolenhoso Biopirol®**. Itabirito, MG: Biocarbo, 2004.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 61**, de 08 de julho de 2020 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estabelece as regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes, destinados à agricultura – Entidades – MAPA. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-61-de-8-de-julho-de-2020-266802148>. Acesso em: 23 mar. 2021.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 46**, de 06 de outubro de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. [a]. Estabelece o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção, bem como as listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção – Entidades – MAPA. 2011. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-46-de-06-de-outubro-de-2011-producao-vegetal-e-animal-regulada-pela-in-17-2014.pdf/view>. Acesso em: 23 mar. 2021

BRASIL. **Resolução RDC nº 31**, de 04 de julho de 2011 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. [b]. Dispõe sobre a indicação de uso dos produtos saneantes na categoria “Esterilizante”, para aplicação sob a forma de imersão, a indicação de uso de produtos saneantes atualmente categorizados como “Desinfetante Hospitalar para Artigos Semicríticos” e dá outras providências. Republica Federativa do Brasil.

BRASIL. **Resolução RDC nº 35**, de 16 de agosto de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para produtos com ação antimicrobiana utilizado sem artigos críticos e semicríticos. Republica Federativa do Brasil, Brasília, DF. Seção I, p 44 - 46.

BROWN, G. G.; NIVA, C. C.; ZAGATTO, M. R. G.; FERREIRA, S. de A.; NADOLNY, H. S.; CARDOSO, G. B. X.; SANTOS, A.; MARTINEZ, G. de A.; PASINI, A.; BARTZ, M. L. C.; SAUTTER, K. D.; THOMAZINI, M. J.; BARETTA, D.; SILVA, E. da; ANTONIOLLI, Z. I.; DECAËNS, T.; LAVELLE, P. M.; SOUSA, J. P.; CARVALHO, F. Biodiversidade da fauna do solo e sua contribuição para os serviços ambientais. In: PARRON, L. M.; GARCIA, J. R.; OLIVEIRA, E. B. de; BROWN, G. G.; PRADO, R. B. (Ed.). **Serviços ambientais em sistemas agrícolas e florestais do Bioma Mata Atlântica**. Brasília: Embrapa, 2015.

BUSARI, M. A.; SALAKO, F. K.; TUNIZ, C. Stable isotope technique in the evaluation of tillage and fertilizer effects on soil carbon and nitrogen sequestration and water use efficiency. **European Journal of Agronomy**, v. 73, p. 98-106, 2016.

CAMPOS, D.; GRAVATO, C.; QUINTANEIRO, C.; SOARES, A. M.; PESTANA, J. L. Responses of the aquatic midge *Chironomus riparius* to DEET exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 172, p. 80–85, mar, 2016.

CARDOSO, L. S.; DA SILVA LEAL, A. P. M. Análise ecotoxicológica da manipueira no solo utilizando a *Folsomia candida* (Collembola). In: CONGRESSO BAIANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 4., 2016, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: COBESA, 2016.

CARVALHO, T. A. F. de. **Mesofauna (Acari e Collembola) em Solo sob Cafeeiro e Leguminosas Árboreas**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

CARVALHO, A. E. F.; SILVA, E. M. DA; MATSUBARA, K. G.; LEONEL, L. F.; MONZANE, P. V. G.; SASAKI, T. H. AVALIAÇÃO ecotoxicológica de ecossistemas aquáticos da bacia hidrográfica do rio Itaqueri (Itirapina/Brotas, SP): uma análise espacial. In: JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UFSCAR, 8.; CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2009. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2009.

CESAR, R.; RODRIGUES, A. P.; SANTOS, M. C. B.; SENDEROWITZ, S.; COLONESE, J.; MOREIRA, C. BERTOLINO, L. C.; CASTILHOS, Z.; EGLER, S.;

MADDOCK, J. Ecotoxicidade e biodisponibilidade de metais em solos impactados por rejeitos industriais em Queimados, RJ, Brasil. **Geociências**, v. 32, n. 4, p. 600-610, 2013.

CESTONARO, T.; ABREU, P. G.; ABREU, V. M. N.; LOPES, L. S.; COLDEBELLA, A. Poultry carcass decomposition and physicochemical analysis of compounds in different Composter types. **Engenharia Agrícola**, v. 34, p. 617-625, 2014.

CHELINHO, S.; DOMENE, X.; ANDRÉS, P.; NATAL-DA-LUZ, T.; NORTE, C.; RUFINO, C.; LOPES, I.; CACHADA, A.; ESPÍNDOLA, E.; RIBEIRO, R.; DUARTE, A.C.; SOUSA, J; P. Soil microarthropod community testing: A new approach to increase the ecological relevance of effect data for pesticide risk assessment. **Applied Soil Ecology**, v. 83, p. 200-209, 2013.

CICHELERO, L. H.; CEZIMBRA, J. C.; GUERRA, D.; REDIN, M.; DA SILVA, D. M. Fauna edáfica como indicadora de qualidade do solo em sistemas de cultivo de plantas forrageiras. In: SALÃO INTEGRADO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 9., 2019, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UERGS, 2019.

CORBANI, R. Z. **Estudo do extrato pirolenhoso Biopiról® no manejo de nematóides em cana-de-açúcar, olerícolas e citros, em diferentes ambientes.** 2008. 70f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2008.

CRUZ, A. C.; PEREIRA, F. dos S.; FIGUEIREDO, V. S. de. Fertilizantes organominerais de resíduos do agronegócio: avaliação do potencial econômico brasileiro. **BNDES Setorial**, v.1, n. 45, 2017.

DA SILVA, A. P. M.; BONO, J. A. M.; PEREIRA, F. A. R. Aplicação de vinhaça na cultura da cana-de-açúcar: Efeito no solo e na produtividade de colmos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 38-43, 2014.

DE LIMA, A. S. T.; VALENTE, E. C. N. Uso de manipueira na adubação do pimentão. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 1, n. 1, 2017.

DI, S.; ZONG, M.; LI, S.; LI, H.; DUAN, C.; PENG, C.; ZHAO, Y.; BAI, J.; LIN, C.; FENG, Y.; HUANG, W.; WANG, DI. The effects of the soil environment on soil organic carbon in tea plantations in Xishuangbanna, southwestern China. **Agriculture, Ecosystem and Environment**, v. 297, 2020.

DOMENE, X.; RAMIREZ, W.; MATTANA, S.; ALCANIZ, J. M.; ANDRÉS, P. Ecological risk assessment of organic waste amendments using the species sensitivity distribution from a soil organisms test battery. **Environmental Pollution**, v. 155, p. 227-236, 2008.

EFRON, C. F. S. **Criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial e avaliação de produtos fitossanitários utilizados no sistema orgânico de produção sobre esta espécie e insetos benéficos.** 2009. 98 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, porto Alegre, 2009.

FARIAS, S. P. D.; ALMEIDA, A. V. D. L. D.; NASCIMENTO, E. S. D.; SOLETTI, J. I.; BALLIANO, T. L.; MOURA FILHO, G.; MUNIZ, M. D. F. S. *In vitro* and *in vivo* control of yam dry rot nematodes using pyroligneous extracts from palm trees. **Ceres**, v. 67, n. 6, 2020.

FARRELL M.; PERKINS W.T.; HOBBS P.J.; GRIFFITH G.W.; JONES D.L. Migration of heavy metals in soil as influenced by compost amendments. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 1, p. 55-64, 2010.

FIOREZE, K. Comunidades de invertebrados terrestres de pastagem em área com produção animal no sul do Brasil. **Acta Biológica Catarinense**, v. 5, n. 2, p. 57-67, 2018.

FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. *Folsomia candida* (Collembola): A “Standart” Soil Arthropod. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 201-222, 2005.

FRANCO, S. P. B. **Influência das características físico-químicas do solo e da composição fenólica na ação antioxidante de *Capparis flexuosa* L.** 2019. 65 f. Dissertação (Mestrado em Análise de Sistemas Ambientais) – Centro Universitário CESMAC, Maceió, 2019.

FREITAS, D. A. F.; SILVA, M. L. N.; CARDOSO, E. L.; CURI, N. Índices de qualidade do solo sob diferentes sistemas de uso e manejo florestal e cerrado nativo adjacente. **Revista Ciência Agrônômica**, v.43, n.3, p.417-428, 2012.

FREITAS, L. de; OLIVEIRA, I. A. de; SILVA, L. S.; FRARE, J. C. V.; FILLA, V. A.; GOMES, R. P. Indicadores da qualidade química e física do solo sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Unimar Ciências**, v. 26, n. 1-2, 2017.

GARCIA, M. **Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions.** 2004. 291 f. Tese (Doutorado) – Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät, Universidade de Bonn, Bonn. 2004.

GISIN, H. Okologie und Lebensgemeinschaften der collembolan imschweiserischen Exkursionsgebiet Basels. **Revue Suisse de Zoologie**, Geneve, v. 50, p. 131-224, 1943.

GONÇALVES, P. M. **Síntese e atividade fitotóxica de ésteres obtidos a partir de fenóis e do ácido fenoxiacético.** 2020. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2020.

GÜNDEL, S. S.; REIS, T. R.; COPETTI, P. M.; FAVARIN, F. R.; SAGRILLO, M. R.; SILVA, A. S.; SEGAT, J. C.; BARETTA, D.; OURIQUE, A. F. Evaluation of cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity of nanoemulsions containing Mancozeb and Eugenol. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 207-215, 2019.

HAGNER, M. **Potential of the slow pyrolysis products birch tar oil, wood vinegar and biochar in sustainable plant protection - pesticidal effects, soil improvement and environmental risks**. 2013. 42f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Ambiental) - Universidade de Helsinque, Lahti, 2013.

HEGER, T. J.; IMFELD, G.; MITCHELL, E. A. D. Special issue on “Bioindication in soil ecosystems”: Editorial note. **European Journal of Soil Biology**, v. 49, p. 1–4, 2012.

HOPKIN, S. P. **Biology of springtails**. Insecta: Collembola. Oxford: Oxford University Press, 1997.

IBÁ – Indústria Brasileira de Árvores. **Relatório Anual IBA 2020 ano base 2019**. Brasília: IBÁ, FGV, IBRE, 2020. 66p.

IMAGEJ. **Image processing and analysis in Java**. 2004. Disponível em: < <https://imagej.nih.gov/ij/index.html> >.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 15799**: Soil quality – Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials– Biological characterization. Genève, 2001.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 11465**: Soil quality – Determination of dry matter and water content on a mass basis – Gravimetric method. Genève, 1993.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 11267**: Soil quality – Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. Genève, 1999.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 17512**: Soil quality – Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior. Part 2: testwithcollembolans (*Folsomia candida*). Genève, 2008.

JAKOBY, G. L. **Avaliação do óleo de nim, compostos homeopáticos e biológicos sobre *Anticarsia gemmatalis* E *Epinotia aporema* em soja e em *Trichogramma pretiosum***. 2008. 109f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2008

JEGEDE, O. O.; OWOJORI, O. J.; RÖMBKE, J. Temperature influences the toxicity of deltamethrin, chlorpyrifos and dimethoate to the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* (Acari) and the springtail *Folsomia candida* (Collembola). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 140, p. 214-221, 2017.

KLOCK, U.; ANDRADE, A. S. de. **Química da Madeira**. 4. ed. Curitiba: UFPR, 2013.

LEITE, M. L. C.; PEREIRA, C. D. S.; JOSÉ, C. Avaliação Ecotoxicológica de Compostos Fenólicos em Ambientes Marinhos. **UNISANTA BioScience**, v. 1, n. 2, p. 76 – 81, 2012.

LIANG, B.; YANG, X.; HE, X.; MURPHY, D. V.; ZHOU, J. Long-term combined application of manure and NPK fertilizers influenced nitrogen retention and stabilization of organic C in Loess soil. **Plant and Soil**, v. 353, n. 1-2, p. 249-260, 2012.

LI, J. T.; Zhong, X. L.; Wang, F.; Zhao, Q. G. Effect of poultry litter and livestock manure on soil physical and biological indicators in a rice-wheat rotation system. **Plant, Soil and Environment**, v. 57, 351-356, 2011.

LOCATELLI, J. L.; BRATTI, F.; RIBEIRO, R. H.; BESEN, M. R.; TURCATEL, D.; PIVA, J. T. Uso de dejetos líquidos de suínos permite reduzir a adubação mineral na cultura do milho?. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 628-637, 2019.

LOPES, N. P., DA CONCEIÇÃO GOMES, A. G., FARIAS, R. C., CALDAS, M. A. C., LOPES, G. Efeito do extrato pirolenhoso de *Cinnamomum zeylanicum* e *Mimosa caesalpiniiifolia* sobre o parasita *Neoechinorhynchus buttnerae*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 20798-20808, 2020.

LOURENÇO, Y. B. C. **Influência do extrato pirolenhoso na germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã**. 2019. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2019.

MACCARI, A. P. **Avaliação ecotoxicológica de cama de aves em solos do estado de Santa Catarina**. 2018. 172f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2018.

MACCARI, A. P.; SEGAT, J. C.; TESTA, M.; BARETTA, C. R. D. M.; BARETTA, D. 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, p. 99-105, 2020.

MACCARI, A. P.; BARETTA, D.; PAIANO, D.; LESTON, S.; FREITAS, A.; RAMOS, F.; SOUSA, J. P.; KLAUBERG-FILHO, O. Ecotoxicological effects of pig manure on

Folsomia candida in subtropical Brazilian soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 314, p. 113-120, 2016.

MACÊDO, L. P. R. **Avaliação ecotoxicológica comparativa entre ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio utilizando os bioindicadores *Dugesia tigrina* e *Chironomus xanthus***. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2019.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO-FILHO, A. S. A. Ecologia como ferramenta para o biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 355-381, 2008.

MATOS, C. F.; PINHEIRO, E. F. M.; PAES, J. L.; LIMA, E.; CAMPOS, D. V. B. de. Avaliação do potencial de uso de biofertilizante de esterco bovino resultante do sistema de manejo orgânico e convencional da produção de leite. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 5, p. 1957-1969, 2017.

MEDEIROS, L. C. D. de. **Efeito da velocidade de carbonização na composição química do extrato pirolenhoso da madeira de Eucalipto (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*) e Jurema Preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild.) Poir.)**. 2018. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2018.

MESQUITA, L. C. A. **Avaliação ecotoxicológica e caracterização química em águas superficiais do Rio Cubatão, SP**. 2011. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2011.

MENDES, I. de; C.; SOUZA, D. M. G. de; REIS JUNIOR, F. B. dos. Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Caderno de Ciência e Tecnologia**, v. 32, n. 1-2, 2015.

MENEGALE, V. L. de C. **Estudo do potencial do licor pirolenhoso como aditivo em condicionador de solo e no crescimento inicial de eucalipto**. 2013. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2013.

MIGLIAVACCA, S. C.; SOARES, G. R.; PAIN, C.; FOLETTTO, J. G.; MINOZZO, G.; PAGOTTO, P. H.; ALVES, M. V. Fertilidade do solo após aplicação de cama de aves no cultivo do milho. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 25. SEMINÁRIO INTEGRADO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO E MOSTRA UNIVERSITÁRIA, 11., 2019. Xanxerê. **Anais...** Xanxerê: UNIOESC, 2019.

MORANDI FILHO, W. J.; BOTTON, M.; GRÜTZMACHER, A. D.; GIOLO, F. P.; MANZONI, C. G. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas

utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, 2006.

MUMBACH, G. L. Variação temporal de nitrogênio, fósforo e potássio em solo adubado com diferentes fertilizantes. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 20., 2016, Foz do Iguaçu. **Anais...** Curitiba: SBCS, NEPAR; Londrina: IAPAR, 2016. p. 178-180.

MUNIZ, Y. S.; SOUSA, T. Y. O.; NETO, C. B.; VIEIRA, K. R. S.; VIEIRA, E. G. S.; REIS, M. G. F. Análise da fertilidade do solo em área experimental da Universidade Estadual do Maranhão. **Revista Encontros Regionais de Agroecologia do Nordeste**, v. 2, n. 1, 2018.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. **Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2019. 258 p.

NOLLA, A.; VILA, E. J. P.; SILVA, W.; BERTICELLI, C. L.; CARNEIRO, A. R. Atributos e estratégias de utilização da torta de filtro como fertilizante para a cana-de-açúcar. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 4, p. 121-135, 2015.

OLIVEIRA, A. J. S. DE; COSTA, A. R. F. DA; MOTA, T. G. DA; FERREIRA, W. S. Biodigestor caseiro aplicado a produção de biofertilizante a partir de biomassa bovina. **Scientia Amazonia**, v. 8, n. 1, p. E14-E19, 2019.

OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; BARETTA, D. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos? **Scientia Agraria**, v. 17, n. 2, p. 21-40, 2016.

OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; SEGAT, J. C.; BARETTA, D.; KLAUBERG-FILHO, O. **Ecotoxicologia Terrestre: Métodos e Aplicações de Ensaios com Collembola e Isopoda**. Florianópolis: UDESC, 2018.

ORGANISATION FOR ECONOMICCO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD 207**: Guideline for Testing of Chemical – Earthworm, Acute toxicity tests. Paris, 1984.

ORGANISATION FOR ECONOMICCO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD 232**: Guideline for Testing of Chemical No. 232: Collembolan Reproduction Test in Soil. Paris, 2009.

ORTIZ, D. C.; SANTOS, M. A. B. D.; OLIVEIRA FILHO, L. C. I. D.; POMPEO, P. N.; NIEMEYER, J. C.; KLAUBERG FILHO, O.; BARETTA, C. R. D. M.; SAMPIETRO, J. A.; BARETTA, D. Diversity of springtails (Collembola) in agricultural and forest systems in Southern Santa Catarina. **Biota Neotropica**, v. 19, n. 3, 2019.

PÉREZ-GIMENO, A.; NAVARRO-PEDREÑO, J.; ALMENDRO-CANDEL, M. B.; GÓMEZ, I.; JORDÁN, M. M. Environmental consequences of the use of sewage sludge compost and limestone outcrop residue for soil restoration: salinity and trace elements pollution. **Journal of Soils and Sediments**, Berlin, v. 16, p. 1012-1021, 2016.

- PIETA, S. **Eficácia de extratos pirolenhosos de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e eucalipto (*Eucalyptus spp.*) no controle in vitro de patógenos da soja.** 2017. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2017.
- RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications.** New York: Hemisphere, 1985. 1-28 p.
- RENNER, L. M.; VELOSO, G. J.; SEGAT, J. C. **A importância da fauna no solo.** 205. ed. Chapecó: UDESC, 2017.
- REETZ, H. F. **Fertilizantes e o seu uso eficiente.** 1. ed. São Paulo: ANDA, 2017. 179 p.
- RIBEIRO, L. V. **Contribuição ao estudo do extrato pirolenhoso no ambiente: ecotoxicologia, histopatologia e análise de parâmetros espermáticos em *Eisenia andrei*.** 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.
- RONQUIM, C. C. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais.** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2010. 26 p.
- ROUSSEAU, L.; FONTE, S.J.; TÉLLEZ, O.; HOEK, R. V.; LAVELLE, P. Soil macrofauna as indicators of soil quality and land use impacts in smallholder agroecosystems of western Nicaragua. **Ecological Indicators**, Amsterdam, v. 27, p. 71-82, 2013.
- SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology and Zoology. Tokyo**, v.33, n.3, p. 339-347, 1998.
- SANTA BÁRBARA, M. C.; MIYAMARU, L. L. A Estabilidade do Ácido Peracético. **Boletim do Instituto Adolfo Lutz**, v. 24, n. 1, p. 10-12, 2014.
- SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBREERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; ARAUJO FILHO, J. C. de; OLIVEIRA, J. B. de; CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** Brasília: Embrapa Solos, 2018. 355 p.
- SCHNITZER, J. A.; FARIA, R. T. D.; VENTURA, M. U.; SORACE, M. Substratos e extrato pirolenhoso no cultivo de orquídeas brasileiras *Cattleya intermedia* (John Lindley) e *Miltonia clowesii* (John Lindley) (Orchidaceae). **Acta Scientiarum Agronomy**, v.32, n.1, p.139-143, 2010.
- SCHNITZER, J. A.; SU, J. M.; FARIA, R. T. de. Doses de extrato pirolenhoso no cultivo de orquídea. **Revista Ceres**, v. 62, n. 1, 2015.

SILVA, A. F. Agricultura no nordeste semiárido e os resíduos orgânicos aproveitáveis. **Revista Equador**, v. 5, n. 2, p. 102 - 119, 2016.

SILVA, D. D. E. da; FELIZMINO, F. T. A.; OLIVEIRA, M. G. Avaliação da degradação ambiental a partir da prática da cultura do feijão no município de Tavares – PB. **Holos**, v. 8, p. 148-165, 2015.

SILVA, R. F. DA; BERTOLLO, G. M.; CORASSA, G. M.; COCCO, L. B.; STEFFEN, R. B.; BASSO, C. J. Doses of liquid swine slurry on soil biota community under no tillage and minimum tillage. **Ciência Rural**, v. 44, p. 418-424, 2014.

SILVEIRA, C. M. da. **Influência do extrato pirolenhoso no desenvolvimento e crescimento de plantas de milho**. 2010. 93 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2010.

SIMÕES, T.; NOVAIS, S. C.; NATAL-DA-LUZ, T.; DEVREESE, B.; DE BOER, T.; ROELOFS, D.; SOUSA, J. P.; VAN STRAALLEN, N. M.; LEMOS, M. F. L. Using time-lapse omics correlations to integrate toxicological pathways of a formulated fungicide in a soil invertebrate. **Environmental Pollution**, v. 246, p. 845-854, 2019.

SISINNO, C. L. S.; NIEMEYER, J. C.; SEGAT, J. C.; OLIVEIRA FILHO, L. C. I.; NIVA, C. C.; BROWN, G. G. **Importância e aplicações dos ensaios ecotoxicológicos com oligoquetas**. In: NIVA, C. C.; BROWN, G. G. (Ed.). *Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas*. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 258 p.

SOUZA, L. T. de; CONEGLIAN, C. M. R. Avaliação Ecotoxicológica de Hidrocarbonetos em Solo Tropical utilizando *Folsomia candida*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 27., 2019, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2019. n. 27.

SOUZA, G. S. de; SOUZA, Z. M.; SILVA, R. B.; BARBOSA, R. S.; ARAÚJO, F. S. Controle de tráfego e seu efeito na qualidade física do solo e no cultivo da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n.1, p.135-146, 2014.

SOUZA-SILVA, A.; ZANETTI, R.; CARVALHO, G. A.; MENDONÇA, L. A. *eucalyptus* seedlings quality treated with pyroligneous extract. **Cerne**, v. 12, n. 1, p. 19-26, 2015.

STATSOFT, Inc., STATISTICA (Data analysis software system). Version 7. Disponível em: www.statsoft.com, 2004.

STEFANOSKI, D. C.; SANTOS, G. G.; MARCHÃO, R. L.; PETTER, F. A.; PACHECO, L. P. Uso e manejo do solo e seus impactos sobre a qualidade física. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 12, 2013.

TESTA, M. **Óleo de *Cinnamomum zeylanicum* no controle de *Alphitobius diaperinus* e ecotoxicidade da cama de aves contaminada com inseticidas em solos de Santa Catarina**. 2018. 104f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó, 2018.

TIECHER, T. **Manejo e Conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no sul do Brasil: praticas alternativas de manejo visando a conservação do solo e da água**. Porto Alegre: UFRGS, 2016.

TOGORO, A. H. **Uso do extrato pirolenhoso: efeito no solo e nas plantas de tomate**. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 1, p. 151-173, 1997.

VAN LEEUWEN, J. P.; LEHTINEN, T.; LAIR, G. J.; BLOEM, J.; HEMERIK, L.; RAGNARSDÓTTIR, K. V.; GÍSLADÓTTIR, G.; NEWTON, J. S.; DE RUITER, P. C. An ecosystem approach to assess soil quality in organically and conventionally managed farms in Iceland and Austria. **Soil**, v. 1, p. 83-101, 2015.

VIEIRA, G.E.G.; PEDROZA, M.M.; SOUSA, J.F.; PEDROZA, C.M. O processo de pirólise como alternativa para o aproveitamento do potencial energético de lodo de esgoto – uma revisão. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 12, n. 17, p. 01-106, 2011.

VEIGA, F.; BRESOLIN, A. Efeito do extrato pirolenhoso Bioquim® em alface. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 11, n. 2, 2020.

VIEIRA, W. T. **Caracterização cromatográfica e avaliação da atividade antimicrobiana do extrato pirolenhoso obtido a partir de biomassas residuais**. 2019. 140f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

WU, Q.; ZHANG, S.; HOU, B.; ZHENG, H.; DENG, W.; LIU, D.; TANG, W. Study on the preparation of wood vinegar from biomass residues by carbonization process. **Bioresource Technology**, v. 179, p.98-103, 2015.

YANG, X.; LU, K.; MCGROUTHER, K.; CHE, L.; HU, G.; WANG, Q.; LIU, X.; SHEN, L.; HUANG, H.; YE, Z.; WANG, H. Bioavailability of Cd and Zn in soils treated with biochars derived from tobacco stalk and dead pigs. **Journal of Soils and Sediments**, v. 17, p. 751-762, 2017.

- ZANETTI, M.; CAZETTA, J. O.; MATTOS JÚNIOR, D. de; CARVALHO, S. A. de. Influência do extrato pirolenhoso na calda de pulverização sobre o teor foliar de nutrientes em limoeiro 'Cravo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, 2004.
- ZANETTI, M. **Uso de sub-produtos da fabricação de carvão vegetal na formação do porta-enxerto de limoeiro cravo em ambiente protegido**. 2004. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.
- ZEFERINO, I.; DE LIMA, E. A.; VIEIRA, E. S. N. **Uso do extrato pirolenhoso como adjuvante de herbicida**. Colombo: Embrapa Florestas, 2018. 5 p. (Embrapa florestas. Comunicado Técnico, 429).
- ZHANG, X.; DAVIDSON, E. A.; MAUZERALL, D. L.; SEARCHINGER, T. D.; DUMAS, P.; SHEN, Y. Managing nitrogen for sustainable development. **Nature**, v. 528, p. 51-59, 2015.