

Anais da VIII Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental



ISSN 1517-3135

Novembro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 99

Anais da VIII Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Ronaldo Ribeiro Morais
Cheila de Lima Boijink
Katia Emidio da Silva
Regina Caetano Quisen*

Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM 010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpaa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Edsandra Campos Chagas, Jeferson Luis Vasconcelos de Macêdo, Jony Koji Dairiki, José Clério Rezende Pereira, Kátia Emídio da Silva, Lucinda Carneiro Garcia, Maria Augusta Abtibol Brito, Maria Perpétua Beleza Pereira, Rogério Perin, Ronaldo Ribeiro de Moraes e Sara de Almeida Rios.*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Capa: *Lúcio Rogerio Bastos Cavalcanti*

1ª edição

1ª impressão (2012): 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Amazônia Ocidental.

Morais, Ronaldo Ribeiro et al.

Anais da VIII Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental / (editado por) Ronaldo Ribeiro Moraes et al.

- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2012.

87 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 99).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Autores

Adriana Uchôa Brito

Pós-Graduanda em Agronomia Tropical, Universidade Federal do Amazonas

Cheila de Lima Bojjink

Bióloga, D.Sc. em Sanidade e Manejo, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, cheila.bojjink@embrapa.br

Cristiane Chagas da Silva

Bolsista de Iniciação Científica, Paic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Dayse Priscilla Amorim Sardinha

Bolsista de Iniciação Científica, Paic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Dionei Oliveira Gomes

Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/ Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Edsandra Campos Chagas

Engenheira de pesca, D.Sc. em Aquicultura,
pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM, edsandra.chagas@embrapa.br

Fernanda Ferreira Loureiro de Almeida

Médica veterinária, Ph.D. em Biologia Celular,
pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM, fernanda.almeida@embrapa.br

Francisca Sandra Menezes da Silva

Bolsista de Iniciação Científica,
Paic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM.

Franciele Cristina de Souza

Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/
Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Francisco Célio Maia Chaves

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Plantas
Medicinais, pesquisador da Embrapa Amazônia
Ocidental, Manaus, AM, celio.chaves@embrapa.br

Gleuson Carvalho dos Santos

Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/
Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Irani da Silva de Moraes

Assistente de Pesquisa, Embrapa Amazônia
Ocidental, Manaus, AM, irani.morais@embrapa.br

Jony Koji Dairiki

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Ciência Animal e
Pastagens, pesquisador da Embrapa Amazônia
Ocidental, Manaus, AM, jony.dairiki@embrapa.br

Katia Emidio da Silva

Engenheira florestal, D.Sc. em Ciência Florestal, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, katia.emidio@embrapa.br

Larissa Aragão de Souza

Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/ Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Lucinda Carneiro Garcia

Engenheira agrônoma, D.Sc. em Tecnologia de Sementes Florestais, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, lucinda.carneiro@embrapa.br

Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Biologia e Melhoramento Genético, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, luis.inoue@embrapa.br

Marcos Cauper Duarte Veltlari

Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/ Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Milena Rodrigues Soares Mota

Pós-Doutoranda, Universidade Federal do Amazonas (Ufam), Manaus, AM.

Regina Caetano Quisen

Engenheira florestal, D.Sc. em Biotecnologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, regina.quisen@embrapa.br

Renata Braga Gomes

Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/ Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Roberval Monteiro Bezerra de Lima

Engenheiro florestal, D.Sc. em Silvicultura,
pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM, roberval.lima@embrapa.br

Ronaldo Ribeiro de Moraes

Biólogo, D.Sc. em Botânica/Ecofisiologia Vegetal,
pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM, ronaldo.morais@embrapa.br

Silas Garcia Aquino de Sousa

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Sistemas
Agroflorestais, pesquisador da Embrapa Amazônia
Ocidental, silas.garcia@embrapa.br

Apresentação

A missão da Embrapa Amazônia Ocidental é viabilizar soluções de pesquisa, desenvolvimento e inovação para a sustentabilidade da agricultura na Amazônia, com ênfase no Estado do Amazonas, em benefício da sociedade. Para que isso ocorra de forma efetiva, além das atividades de pesquisa realizadas pelos pesquisadores, é necessária a formação e qualificação de pessoas na área técnico-científica.

Dentre os programas de capacitação e estágio desenvolvidos na Embrapa Amazônia Ocidental, o de Iniciação Científica, que tem o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), é de primordial importância, pois promove o treinamento dos alunos de graduação nas técnicas e tradições da ciência.

Por meio desse programa, esses estudantes têm várias vantagens em relação aos outros que não participam, como, por exemplo, a fuga da rotina e estrutura curricular, o convívio com pesquisadores experientes, maior aprofundamento e leitura bibliográfica de forma crítica. Além disso, têm a oportunidade de maximizar a compreensão da ciência, o que lhes dá possibilidades futuras, tanto acadêmicas quanto profissionais.

Por essa razão, a Embrapa Amazônia Ocidental sente-se honrada em publicar os Anais da VIII Jornada de Iniciação Científica com os trabalhos de pesquisa desenvolvidos no período de agosto de 2010 a julho de 2011, em diferentes áreas do conhecimento, os quais são fruto da dedicação, da seriedade e do empenho dos bolsistas e orientadores.

Por fim, dada a qualidade e relevância dos oito trabalhos aqui apresentados, temos a certeza de que estamos no caminho certo para o início da formação de profissionais capacitados na área técnico-científica, que é fundamental para o desenvolvimento social, econômico e sustentável da agricultura na Amazônia.

Luiz Marcelo Brum Rossi
Chefe-Geral

Sumário

Armazenamento de Sementes de Jatobá – <i>Hymenaea courbaryl</i> Caesalpinaceae	13
Resumo	13
Introdução	14
Material e Métodos	15
Análises laboratoriais.....	16
Análises de germinação.....	16
Índice de velocidade de germinação (IVG).....	16
Procedimento estatístico.....	16
Resultados e Discussão	17
Conclusões	19
Referências	20
Avaliação do Ganho de Peso e Controle de Monogenoides de Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) Alimentados com Farinha de Unha-de-gato (<i>Uncaria tomentosa</i>)	22
Resumo	22

Introdução.....	23
Objetivo.....	25
Material e Métodos.....	25
Resultados e Discussão.....	26
Referências.....	29
Avaliação do Peso de Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) Alimentado com o Imunoestimulante Natural Quebra-pedra (<i>Phyllanthus niruri</i>).....	32
Resumo.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	34
Resultados e Discussão.....	35
Referências.....	37
Cultivo in vitro de Espécies Florestais Tropicais – Controle de Contaminação e Estabelecimento de Castanha-do-brasil (<i>Bertholletia excelsa</i>).....	39
Resumo.....	39
Introdução.....	40
Material e Métodos.....	42
Resultados e Discussão.....	44
Conclusões.....	47
Agradecimentos.....	47
Referências.....	48
Heparina e EDTA como Anticoagulantes para Matrinã (<i>Brycon amazonicus</i>).....	51
Resumo.....	51
Introdução.....	52

Material e Métodos	53
Resultados e Discussão	54
Conclusões	56
Agradecimentos	56
Referências	57
Inclusão do Imunoestimulante Natural <i>Moringa oleífera</i> na Alimentação do Tambaqui	59
Resumo	59
Introdução	60
Material e Métodos	60
Área do estudo.....	60
Espécies estudadas.....	61
Resultados e Discussão	62
Conclusões	64
Agradecimentos	64
Referências	65
Métodos para Produção de Mudanças de Jatobá e Colubrina em Condições de Viveiro e Campo na Amazônia	66
Resumo	66
Introdução	67
Material e Métodos	68
Local do experimento e obtenção das sementes.....	68
Quebra de dormência.....	68
Recipientes e semeadura.....	69
Delineamento experimental e avaliações.....	69

Resultados e Discussão	69
<i>Hymenaea courbaril</i>	69
<i>Colubrina glandulosa</i>	72
Conclusões	75
Referências	77
Produção de Biomassa de Crajiru (<i>Arrabidaea chica</i> Verlot.) em Função de Adubação Orgânica em Manaus, AM	79
Resumo	79
Introdução	80
Material e Métodos	81
Resultados e Discussão	82
Conclusões	85
Agradecimentos	85
Referências	86

Armazenamento de Sementes de Jatobá – *Hymenaea courbaryl* Caesalpinaceae

Renata Braga Gomes

Lucinda Carneiro Garcia

Silas Garcia Aquino de Sousa

Resumo

Estudos relacionados ao setor de sementes de espécies florestais nativas da região amazônica são fundamentais e prioritários, considerando a escassez de informações básicas sobre manejo e conservação da qualidade fisiológica dessas sementes. O jatobá (*Hymenaea courbaryl*) é uma espécie arbórea encontrada predominantemente nas florestas primárias de terra firme, destacando-se no dossel da floresta. Possui madeira de lei muito valorizada no mercado internacional. As sementes da espécie apresentam comportamento ortodoxo, ou seja, são tolerantes à secagem; contudo, necessitam ser armazenadas adequadamente, para reduzir o máximo possível o processo de deterioração e a perda da viabilidade. Neste trabalho, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes embalagens e ambientes no comportamento de sementes de jatobá, durante duas épocas de armazenamento. As sementes trabalhadas foram coletadas em matrizes porta-sementes da área de floresta natural da sede da Embrapa Amazônia Ocidental (Rodovia AM-010, Km 29) e na área do Parque Fenológico, no DAS (BR-174, Km 54). Os tratamentos usados foram: 1) Embalagem – Permeável (saco de papel) e impermeável (vidro); 2) Ambiente – Laboratório e câmara fria; 3) Época de

armazenamento – 3 meses e 6 meses. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por meio dos seguintes parâmetros: índice de velocidade de germinação (IVG), percentagem total de germinação e grau de umidade das sementes. O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 sementes por tratamento, em um arranjo fatorial de 2 x 2 x 2 (embalagens, ambientes, épocas). O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes da Embrapa Amazônia Ocidental. Verificou-se que a maior percentagem de germinação das sementes ocorreu aos seis meses de armazenamento em saco de papel, na câmara fria, com 85,0% de sementes germinadas; já no ambiente laboratório, na mesma embalagem, a germinação foi inferior aos demais tratamentos (58,75%). Conclui-se que o ambiente câmara fria foi o mais eficiente no armazenamento das sementes.

Palavras-chave: *Hymenaea courbaril*, conservação de sementes, sementes florestais.

Introdução

A Amazônia representa uma das mais importantes regiões fitogeográficas do mundo e possui uma das maiores biodiversidades do planeta. Em escala continental, ocupa 1/20 da superfície terrestre, razão pela qual é detentora de imensurável patrimônio genético, dentro de sua complexa biodiversidade (AMAZONAS, 2007). Porém, ainda pouco se sabe sobre as espécies florestais que a compõem, suas características silviculturais, o comportamento de suas sementes e o manejo adequado destas. Um fator limitante relacionado ao setor de sementes de espécies arbóreas da Amazônia diz respeito às dificuldades de se obter estoque regular de sementes, visando à produção de mudas para reflorestamento e plantios florestais, tendo em vista a baixa produção de frutos e sementes por espécie, a irregularidade na frutificação e a predação acentuada por animais; bem como, para algumas espécies arbóreas, faltam informações básicas sobre o comportamento das sementes relacionado ao armazenamento. O jatobá é uma espécie

arbórea amazônica que atinge de 30 a 40 metros de altura e diâmetro de 2 metros; possui madeira nobre, muito valorizada no comércio exterior, constando como vulnerável na lista das espécies ameaçadas de extinção, devido à alta exploração comercial (LEÃO, 2006). É importante destacar que a Embrapa Amazônia Ocidental, situada em Manaus, atenta a esse fato, vem trabalhando no sentido de desenvolver tecnologias para sementes e mudas florestais, enfocando desde a fenologia reprodutiva e agentes dispersores, até a coleta, o beneficiamento, a germinação, a secagem e o armazenamento dessas sementes, destinadas ao programa de pesquisa florestal e agroflorestal, bem como para o atendimento aos produtores que buscam sementes para reflorestamento. Diante desses fatos, o presente estudo tem como finalidade avaliar o comportamento das sementes de jatobá em diferentes condições de armazenamento.

Material e Métodos

Os frutos de *Hymenaea courbaryl* (Caesalpinaceae) foram coletados em matrizes porta-sementes de duas áreas de floresta natural, pertencentes à Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-010, Km 29 e Parque Fenológico do DAS (BR-174, Km 54). O beneficiamento foi feito no Laboratório de Análises de Sementes da Embrapa Amazônia Ocidental. Após beneficiadas, as sementes foram acondicionadas em dois tipos de embalagem: 1) Embalagem permeável – saco de papel e 2) Embalagem impermeável – vidro com tampa hermética, mantidas nos seguintes ambientes: 1) Câmara Fria - temperatura entre 6 °C e 8 °C e umidade do ar de 60%; 2) Laboratório – temperatura média de 27 °C e umidade média do ar de 80%, pelos períodos de três meses e seis meses. O experimento foi constituído dos seguintes tratamentos: T0 – Sementes recém-coletadas; T1 – Saco de papel, laboratório, 3 meses; T2 – Saco de papel, câmara fria, 3 meses; T3 – Vidro, laboratório, 3 meses; T4 – Vidro, câmara fria, 3 meses; T5 – Saco de papel, laboratório, 6 meses; T6 – Saco de papel, câmara fria, 6 meses; T7 – Vidro, laboratório, 6 meses; e T8 – Vidro, câmara fria, 6 meses.

Análises laboratoriais

As análises laboratoriais constituíram-se de: beneficiamento das sementes; peso de mil sementes; número de sementes por quilo e determinação do grau de umidade inicial, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

Análise de germinação

Antes da sementeira, em cada tratamento, as sementes foram submetidas à superação de dormência, usando ácido sulfúrico concentrado, por 35 minutos, mais 48 horas em água à temperatura ambiente, considerando que apresentam acentuada dormência tegumentar. Em seguida, foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes por tratamento, semeadas em bandejas plásticas, com substrato areia lavada e autoclavada, umedecida com água destilada, colocadas em germinador tipo Mangelsdorf, à temperatura de 30 °C constante. A contagem das sementes germinadas foi realizada a cada dois dias, pelo período de 48 dias, adotando-se como critério de germinação a radícula com 1,0 cm de comprimento. As sementes foram avaliadas por meio dos seguintes parâmetros: percentagem total de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e grau de umidade das sementes, conforme Popinigis (1985).

Índice de velocidade de germinação (IVG)

Realizado simultaneamente com o teste de germinação, consiste na contagem das sementes germinadas a cada dois dias.

Procedimento estatístico

A análise de variância dos dados foi realizada usando o delineamento inteiramente casualizado, no arranjo fatorial 2 x 2 x 2 (embalagens, ambientes, épocas), com quatro repetições de 20 sementes, por tratamento. Na verificação de diferenças significativas entre os

tratamentos, usou-se o teste de Tukey, a 5% de significância, para comparação das médias dos tratamentos, de acordo com Banzatto e Kronka (1995).

Resultados e Discussão

Por meio da análise de variância dos dados, pôde-se constatar que houve influência significativa ($P < 0,05$) dos tratamentos sobre a germinação das sementes estudadas. Verificou-se que as sementes acondicionadas em saco de papel, durante o período de seis meses, na câmara fria (T6), apresentaram porcentagem de germinação de 85,00%; enquanto que, na mesma embalagem, no ambiente de laboratório (T5), a germinação foi de somente 58,75% (Tabela 1).

Tabela 1. Percentagem total de germinação de sementes de jatobá, submetidas ao armazenamento (%).

T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
63,75 ab	78,75 a	78,75 a	66,25 ab	77,05 a	58,75 b	85,00 a	81,25 a	78,75 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Piña Rodrigues (1992) afirmam que tal fato ocorre devido ao ambiente câmara fria, considerando que a semente se conserva melhor em locais secos e frios, onde a temperatura e umidade podem ser controladas.

Constatou-se que as sementes recém-coletadas (T0) apresentaram resultado de germinação inferior àquelas que foram submetidas ao armazenamento. Provavelmente, a germinação de 63,75% das sementes frescas está relacionada com a incidência de fungos que ocorreu no germinador, prejudicando a germinação das sementes nesse tratamento. Porém, é importante ressaltar que tal resultado foi estatisticamente igual aos encontrados nos tratamentos T3 e T5 (Tabela 1).

Com relação ao IVG, o resultado foi semelhante ao encontrado para a percentagem de germinação das sementes (Figura 1). Observou-se uma diminuição expressiva no ambiente laboratório, na embalagem vidro, aos três meses (T3) e no saco de papel, aos seis meses de armazenamento (T5). Borba Filho e Perez (2009), trabalhando com sementes florestais acondicionadas em embalagens de vidro, mantidas em temperatura ambiente de laboratório, também constataram redução na velocidade de germinação das sementes. Entretanto, Corlett et al. (2007) ressaltam que a utilização de embalagens impermeáveis assegura a manutenção do teor de água, sendo adequada para conservação mais prolongada, com menor risco de perda da qualidade fisiológica das sementes por deterioração, quando armazenadas em ambiente frio.

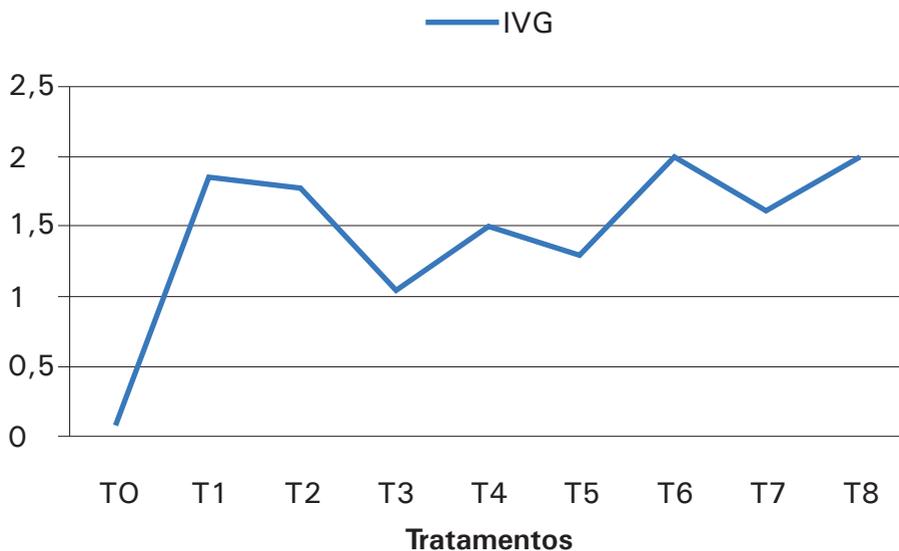


Figura 1. Índice de velocidade de germinação de sementes de jatobá submetidas ao armazenamento.

Conclusões

Com base nos resultados, pôde-se concluir que a câmara fria possibilitou melhor conservação da qualidade fisiológica das sementes da espécie, na embalagem saco de papel, pelo período de seis meses.

Referências

- AMAZONAS. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. **O desenvolvimento sustentável no Estado do Amazonas** – realizações e perspectivas. Manaus, 2007.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 274 p.
- BORBA FILHO, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A. Armazenamento de sementes de ipê-branco e ipê-roxo em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 259-269, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. 365 p.
- CORLETT, F. M. F.; BARROS, A. C. S. A.; VILLELA, F, A. Qualidade fisiológica de sementes de urucum armazenadas em diferentes ambientes e embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 148-158, 2007.

LEÃO, N. V. M. **Árvores da Amazônia**. São Paulo: Empresa das Artes, 2006. 243 p.

PINÃ RODRIGUES, F. C. M.; JESUS, R. M. de. Comportamento de sementes de cedro-rosa (*Cedrela angustifolia* S. ET. MOC) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 114, n. 1, p. 31-36, 1992.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília, DF, 1985. 289 p.

EDUCAÇÃO do Brasil. S.l., 2005. 511 p.

Avaliação do Ganho de Peso e Controle de Monogenoides de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Alimentado com Farinha de Unha-de-Gato (*Uncaria tomentosa*)

Gleuson Carvalho dos Santos

Irani da Silva de Moraes

Francisco Célio Maia Chaves

Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue

Cheila de Lima Bojjink

Resumo

A piscicultura é uma das atividades agropecuárias que mais crescem na Amazônia, devido à importância natural dos peixes na alimentação das populações humanas locais, que sempre os tiveram em abundância. Contudo, o crescimento dos centros urbanos, especialmente Manaus, e o aumento da pressão de captura dos estoques naturais de peixes são fatores responsáveis pelo declínio da fartura de peixes na região. Dessa forma, a piscicultura vem crescendo como alternativa ao apelo ambiental para a conservação dos peixes amazônicos, gerando ainda emprego e renda para as comunidades rurais. Entretanto, os cultivos comerciais de peixes trabalham com densidades de animais mais elevadas que as encontradas na natureza. A disseminação de doenças e organismos parasitos é facilitada. Assim, o uso indiscriminado de produtos químicos no controle e na prevenção de problemas sanitários está cada vez mais evidente. A proposta do presente trabalho foi testar o uso da planta medicinal unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) no controle de monogenoides e na melhora do ganho de peso do tambaqui. Peixes foram estocados em 12 gaiolas e alimentados com rações contendo

diferentes concentrações de “farinha” obtida a partir da moagem dos ramos lenhosos dessa espécie, para verificação de crescimento e carga parasitária nas brânquias do tambaqui. Ao final do período experimental não houve ganho de peso significativo. Entretanto, a quantidade de parasitos monogenoides foi reduzida significativamente nas brânquias do tambaqui, mostrando que a planta tem potencial para ser utilizada com anti-helmíntico na piscicultura. No entanto, mais estudos são necessários para ajustar uma dosagem ou tempo de tratamento ainda mais eficaz.

Palavras-chave: piscicultura, parasitos, plantas medicinais, anti-helmíntico.

Introdução

A piscicultura é uma atividade agropecuária importante no Brasil. Técnicas modernas estão sendo pesquisadas e implementadas dia a dia, não somente para o aumento da produção e rendimento das fazendas, mas também para melhorar a qualidade do pescado cultivado. Além do mais, investimentos são necessários, quanto aos aspectos relacionados à comercialização e maior divulgação dos alimentos provenientes da aquicultura, estimulando o consumo de peixes criados em cativeiro em substituição aos capturados na natureza. Entretanto, estações de piscicultura trabalham com número e densidade de animais mais elevados que as encontradas naturalmente nos rios, sendo comum a ocorrência e disseminação de patógenos. Conseqüentemente o uso de produtos químicos para o controle e prevenção de doenças causadas por microorganismos parasitos oportunistas vem aumentando, conjuntamente com as preocupações de âmbito ambiental, no que se refere aos riscos de intoxicação aos consumidores e à poluição dos mananciais de água. Dessa forma, a proposta de uso de produtos naturais com conhecida característica medicinal parece ser alternativa interessante para amenizar os problemas apresentados, proporcionando ainda melhor qualidade do pescado, livre de produtos químicos.

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é o peixe mais criado na região amazônica (VAL et al., 2000), principalmente por fácil obtenção de juvenis, bom potencial de crescimento, alta produtividade e rusticidade (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1997). Apresenta bom desempenho em criações intensivas em viveiros/barragens (MELO et al., 2001), sendo que, nesses sistemas, são expostos continuamente a vários estressores, como alterações na química da água, altas densidades de estocagem, manuseio excessivo e uso indiscriminado de drogas no tratamento de doenças (WEDEMEYER, 1996).

Dentre as doenças parasitárias de peixes as mais comumente relatadas para tambaqui são causadas por monogenoídeos, acantocéfalos, mixobolus, braquiúros e fungos (MALTA et al., 2001). Entretanto, a criação de tambaqui tem mostrado maior intensidade parasitária dos monogenoídeos quando em tanques-rede, sendo eles o grupo que causa maior severidade nos organismos (VARELLA et al., 2003).

Grande número de plantas tem sido usado na medicina tradicional para tratamento e controle de doenças. Certos metabólitos de plantas apresentam atividades imunoestimulantes. Considerando a diversidade de plantas e suas inúmeras substâncias, o desafio é identificar e avaliar os efeitos dos componentes dos extratos sobre o organismo animal (KAMEL, 2000). Dos extratos testados como imunoestimulantes para peixes temos: *Allium sativum* (LATERÇA et al., 2002), *Astragalus radix* e *Scutellaria radix* (YIN, 2006). Assim, peixes alimentados com substâncias imunoestimulantes podem apresentar melhor resistência a condições adversas no cultivo, melhor crescimento e conseqüentemente melhores resultados econômicos.

A espécie *U. tomentosa*, popularmente chamada de unha-de-gato, destaca-se por sua atividade imunoestimulante, sendo também citotóxica, anti-inflamatória e antioxidante, provavelmente relacionadas à alta concentração de flavonoides (HEITZMAN et al., 2005). A unha-de-gato é indicada no tratamento de artrite reumatoide, lupus e outras colagenopatias, graças a sua atividade anti-inflamatória e

imunoestimuladora (KEPLINGER et al., 1998). Em função de sua propriedade, é atualmente uma planta de alto valor comercial no Brasil e no mundo. As cascas do caule e as folhas da espécie são comercializadas in natura ou como fitoterápicos na forma de cápsula ou comprimido.

Objetivo

Avaliar o ganho de peso de tambaquis alimentados com diferentes concentrações de inclusão de farinha de unha-de-gato na ração e o efeito anti-helmíntico dessa preparação sobre os monogenoides, parasitas de brânquias.

Material e Métodos

Alevinos de tambaqui foram doados pela estação de piscicultura da hidrelétrica de Balbina, localizada nas imediações do Município de Presidente Figueiredo, AM. Inicialmente os peixes foram estocados em viveiro escavado nas instalações da Embrapa Amazônia Ocidental, por um período de 30 dias. Os animais foram alimentados com ração comercial contendo 32% de proteína bruta. Após esse período foram estocados em 12 gaiolas de tela metálica (1 m³) em açude, localizado no Pesque Pague San Diego, Manaus, AM, na densidade de 24 peixes/gaiola. Todos os peixes foram pesados e medidos na estocagem, sendo utilizada uma régua fixada numa caixa de madeira para obtenção do comprimento total dos animais em centímetros e também balança de precisão de duas casas para leitura do peso total dos animais.

Os peixes estocados nas gaiolas foram alimentados diariamente com ração suplementada com farinha de unha-de-gato. Para o preparo da farinha, foi realizada a coleta da planta, a secagem à sombra, depois de seca foi levada à estufa a 45 °C, em seguida foi realizada a moagem dos ramos lenhosos e suplementado a ração. Foram quatro tratamentos, com duas repetições, referentes aos níveis de inclusão da farinha de unha-de-gato, a saber: 30, 45, 60, 75 g por kg de ração, e o controle

sem adição. Os peixes foram alimentados durante seis semanas. A ração foi fornecida uma vez ao dia até a saciedade aparente dos animais. O ganho de peso foi calculado com o emprego da fórmula: $GP = \text{peso final} - \text{peso inicial}$. Ao final do período experimental, os animais foram sacrificados por secção da medula, para coleta de brânquias e posterior contagem dos monogenoides. As brânquias ficaram imersas em formol 5% até a contagem dos parasitas. Antes do início do experimento uma amostra de 12 peixes foi avaliada para verificação da presença e quantificação do número de monogenoides nas brânquias. No final do período experimental, foi feita a contagem de parasitas nas brânquias em 12 peixes de cada tratamento.

Os resultados foram submetidos à Anova, e as médias das biometrias e o número de monogenoides foram comparadas pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, comparando o grupo controle com os tratados.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade de água como valores de pH variaram de 6,63 a 8,73, oxigênio 3,76 mg/L a 7,60 mg/L, temperatura esteve entre 28,9 °C e 30 °C. Os valores de dureza ficaram entre 2 mg/L⁻³ mg/L de CaCO₂, a alcalinidade ficou entre 2,2 mg/L e 4,4 mg/L CaCO₂. Os valores de amônia com 0,11 e 0,54 de NH₄ mg/L. Os parâmetros avaliados ficaram dentro da faixa tolerada pelo tambaqui. Os resultados demonstram que não houve alterações na água durante o período experimental, permanecendo dentro dos padrões adequados (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

Os tambaquis não apresentaram diferença significativa no ganho de peso, como mostra a Figura 1. Na Figura 2, pode-se observar que em todas as concentrações testadas houve redução significativa no número de monogenoides presentes nas brânquias do tambaqui, havendo redução de aproximadamente 50% em relação ao grupo controle.

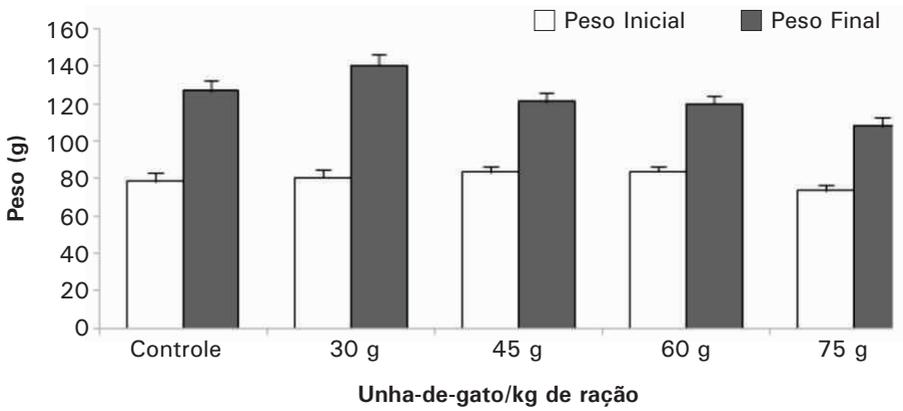


Figura 1. Peso inicial e final de juvenis de tambaqui alimentados com rações suplementadas com diferentes concentrações de unha-de-gato.

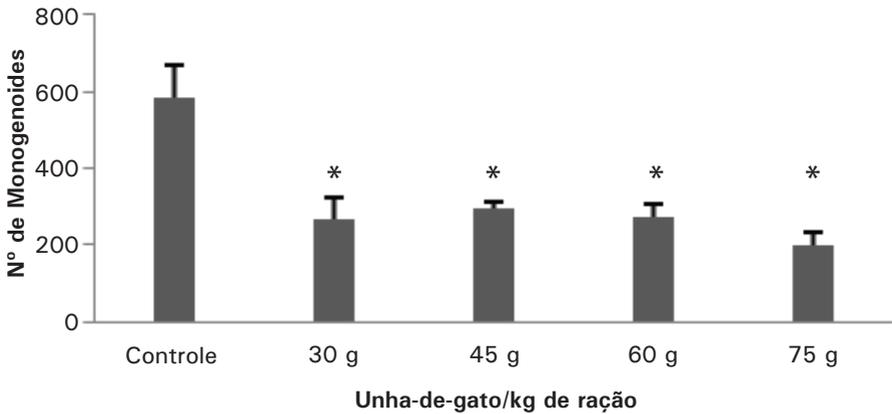


Figura 2. Intensidade de monogenoides de juvenis de tambaqui alimentados com rações suplementadas com diferentes concentrações de unha-de-gato.

Outros estudos também obtiveram resultados promissores com a utilização de produtos naturais para controle de monogenoides em peixes. Martins et al. (2002) obtiveram redução de 95% de monogenoides nas brânquias de pacu utilizando extrato de alho na ração. O extrato de *Terminalia catappa* controlou tricodinídeos e monogenoides de tambaqui (CLAUDIANO et al., 2009).

O Brasil tem um enorme potencial no campo de plantas medicinais, e, na região amazônica, várias plantas apresentam propriedades terapêuticas; sendo assim, este é o momento de estudar, valorizar e validar estudos com esses componentes (ROEDER, 1988). Dessa forma, o uso de produtos extraídos de plantas amazônicas desperta uma visão nova na prevenção e tratamento de enfermidades em peixes.

A sustentabilidade ambiental da piscicultura pode ser melhorada por meio da implantação das boas práticas de manejo, entre elas a utilização de produtos naturais para tratamento de doenças e controle de parasitos. Sendo assim, os dados desta pesquisa demonstraram que rações com extrato de unha-de-gato podem ser uma alternativa viável para o controle de monogenoides em tambaqui.

Referências

ARAÚJO-LIMA, C. R. M.; GOULDING, M. **So fruitful fish**: ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui. New York: Columbia University Press, 1997. 157 p.

CLAUDIANO, G. S.; DIAS NETO, J.; SAKABE, R.; CRUZ, C. da; SALVADOR, R.; PILARSKI, R. Eficácia do extrato aquoso de *Terminalia catappa* em juvenis de tambaqui parasitados por monogenéticos e protozoários. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 3, p. 625-636, 2009.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix**, v. 9, n. 6, p. 19-24, 2000.

KEPLINGER, K.; LAUS, G.; WURM, M.; DIERICH, M.; TEPPNER, H. *Uncaria tomentosa*: ethnomedical use and new pharmacological, toxicological and botanical results. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, n. 1, p. 23-24, 1998.

LATERÇA, M. L.; MORAES, F. R.; MIYASAKI, D. M. Y.; BRUM, C. D.; ONAKA, E. M.; FENERICK, J. JR.; BOZZO, F. R. Alternative treatment for *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) infection in cultivated pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil and its haematological effects. **Parasite**, v. 9, n. 2, p. 175-180, 2002.

MALTA, J. C. O.; GOMES, A. L. S.; ANDRADE, S. M. S.; VARELLA, A. M. B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neochinorhynchus buttenerae* Golvan, 1956, (Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae) em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) cultivados na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 31, n. 1, p. 133-143, 2001.

MARTINS, M. L.; ONAKA, E. M.; MORAES, F. R.; BOZZO, F. R.; MELLO, A.; PAIVA, F. C.; GONÇALVES, A. Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the State of São Paulo, Brazil. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v. 24, p. 981-985, 2002.

MELO, L. A.; IZEL, A. C.; RODRIGUES, F. M. **Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2001. 30 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 18).

ROEDER, R. **Promoção da agricultura em regiões semi-áridas do Nordeste brasileiro**: pesquisa sobre a pecuária nos planaltos da chapada. Teresina: DNOCS, 1988. p. 125.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 70 p.

VAL, A. L.; ROLIM, P. R.; TABELO, H. Situação atual da aqüicultura na região Norte. In: VALENTI, W.C. et al. **Aqüicultura no Brasil**. Brasília, DF: CNPq, 2000. Cap. 7. p. 247-266.

VARELLA, A. M. B.; PEIRO, S. N.; MALTA, J. C. O.; LOURENÇO, J. N. P. Monitoramento da parasitofauna de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) cultivado em tanques-rede em um lago de várzea da Amazônia, Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2003, Goiânia. **Anais...** Jaboticabal: Aquabio, 2001. v. 1. p. 95-106.

WEDEMEYER, G. A. **Physiology of fish in intensive culture systems.** New York: Chapman & Hall, 1996. p. 10-59.

YIN, G.; JENEY, G.; RACZ, T.; XU PAO, W.; JUN, X.; JENEY, Z. Effect of two chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutelaria radix*) on non specific immune response of tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 253, p. 39-47, 2006.

Avaliação do Peso de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Alimentado com o Imunoestimulante Natural Quebra-Pedra (*Phyllanthus niruri*)

Francisca Sandra Menezes da Silva

Cheila de Lima Boijink

Francisco Célio Maia Chaves

Luis Antônio Kioshi Aoki Inoue

Irani da Silva de Moraes

Dayse P. A. Sardinha

Cristiane C. da Silva

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia de quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*) no ganho de peso do tambaqui criado em gaiolas de 1 m³, na densidade de 20 peixes/gaiola. As gaiolas foram instaladas em pesque-pague, todos os peixes foram pesados, medidos e distribuídos nas unidades experimentais. Foram utilizados cinco tratamentos (quatro níveis de inclusão da planta quebra-pedra: 30 g/kg, 45 g/kg, 60 g/kg, 75 g/kg de ração e o controle sem a planta) e três repetições. Os peixes foram alimentados durante seis semanas. A ração foi fornecida duas vezes ao dia até a saciedade aparente dos animais. No final do período experimental, os animais controle apresentaram ganho de peso maior que os alimentados com os diferentes níveis da planta. Os resultados demonstraram que quebra-pedra não é eficaz na melhoria de desempenho do tambaqui. No entanto, são necessários estudos complementares para avaliar outros parâmetros como a resistência a doenças de animais alimentados com a planta em estudo.

Palavras-chave: piscicultura, produtos naturais, sanidade.

Introdução

Com a ascensão da piscicultura, observa-se o crescente interesse dos produtores no que diz respeito à busca de soluções para evitar os prejuízos causados por mortalidade e problemas na produção. Entre os aspectos importantes para a otimização da atividade estão aqueles que afetam o desempenho e a resistência dos animais às doenças, e para os quais se tem voltado esforços científicos na busca de soluções. O tambaqui (*Colossoma macropomum*), de sabor muito apreciado, apresenta boa produtividade e adaptabilidade ao cativeiro. No entanto, durante o processo de cultivo, práticas de manejo são necessárias para o monitoramento do crescimento e verificação do estado geral da sanidade dos animais para que atenuem esses efeitos nocivos.

A constante busca por redução do estresse nas práticas da piscicultura resulta na melhoria da produtividade. Algumas técnicas têm sido utilizadas para minimizar o estresse de peixes cultivados, tais como uso de anestésicos (INOUE et al., 2005) e sal (WURTS, 1995; CARNEIRO e URBINATI, 2001), mas o uso de imunoestimulantes em peixes tem ganhado importância como indutores de proteção contra doenças. Grande número de plantas tem sido usado na medicina tradicional para tratamento e controle de doenças, podendo melhorar o ganho de peso dos animais. Considerando a diversidade de plantas e suas inúmeras substâncias, o desafio é identificar e avaliar os efeitos dos componentes dos extratos sobre o organismo animal (KAMEL, 2000). O uso de produtos naturais na prevenção de doenças em peixes pode trazer outros benefícios, como aumento significativo de peso, observado em pós-larvas de tilápia alimentadas com polissacarídeos sulfatados, imunoestimulante extraído da macroalga marinha vermelha, (*Botryocladia occidentalis*) (FARIAS et al., 2004).

O quebra-pedra (*P. niruri*) pertence à família Euphorbiaceae, contando com cerca de trezentos e quinze gêneros e oito mil espécies (SANTOS, 1990). É uma erva daninha, encontrada na África, Ásia e Américas

(PDR..., 2000), muito comum na planície litorânea. No Brasil, está presente em quase todo o território e são muitas as espécies, entre plantas arbóreas e arbustivas, bem como herbáceas, muitas com características de infestantes de lavouras. Os seus constituintes químicos já estão bem estabelecidos, notadamente os taninos, flavonoides e ligninas (LORENZI, 1982). Dentre as atividades biológicas popularmente consagradas, o *P. niruri* já forneceu resultados significativos quanto à inibição do vírus da hepatite B, aos efeitos hipoglicemiantes, hipotensivo e diurético e inibição da formação de cristais de oxalato de cálcio no trato urinário, inibindo o desenvolvimento de cálculos renais. Também observou que o composto extraído do quebra-pedra, arabinogalactana, é capaz de estimular o sistema imunológico (MELLINGER, 2006).

Sendo assim, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a eficácia de diferentes concentrações de quebra-pedra no peso de tambaquis criados em gaiola.

Material e Métodos

Os juvenis de tambaqui foram adquiridos na estação de Balbina, localizada no Município de Presidente Figueiredo, AM, e trazidos para o setor de piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental, onde ficaram por 30 dias para adaptação, sendo alimentados com ração comercial extrusada com 34% de proteína bruta. Após esse período, os animais foram pesados, medidos e levados para o pesque-pague San Diego, localizado no Km 35 da AM-010 e distribuídos em gaiolas de 1 m³ com a densidade de 20 peixes por gaiola. As rações foram confeccionadas a partir de uma ração comercial para juvenil 34% de PB. As rações foram suplementadas com 30 g, 45 g, 60 g e 75 g de quebra-pedra seca e moída por quilograma de ração, menos a ração controle, sem adição da planta. Diariamente os animais foram alimentados com ração suplementada, durante 45 dias. A ração foi fornecida duas vezes ao dia até a saciedade aparente dos animais. Ao final do período experimental, os animais foram pesados e medidos para avaliação do ganho de peso.

Os resultados foram submetidos à Anova, e as médias dos pesos inicial e final foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

O grupo controle teve o peso final significativamente maior em relação aos grupos tratados com as diferentes concentrações de quebra-pedra, demonstrando que a planta não é eficaz para incremento no peso final (Figura 1) dos juvenis de tambaqui.

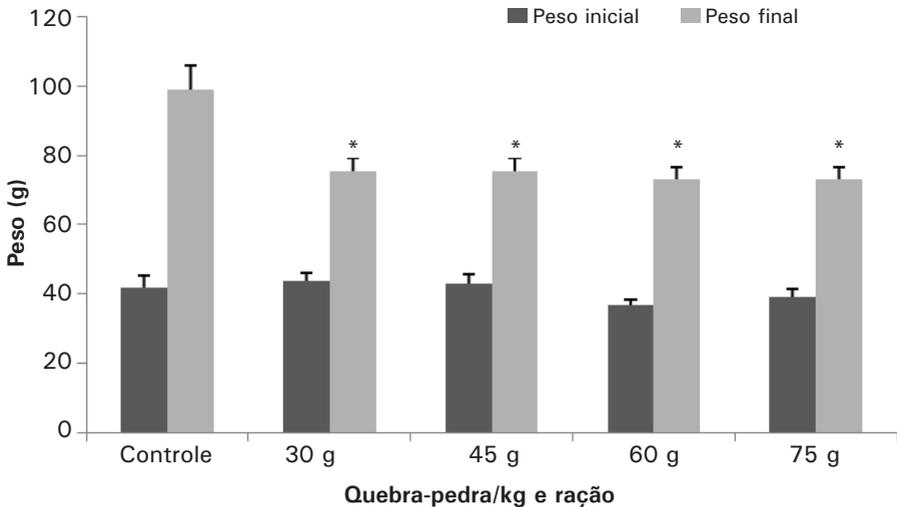


Figura 1. Peso inicial e final de juvenis de tambaqui alimentados com rações suplementadas com diferentes concentrações de quebra-pedra.

O crescimento é um importante parâmetro para avaliação de desempenho, pois indiretamente representa indicativo do bem-estar da espécie. Cruz (1997) pesquisou alevinos de tambaqui (*C. macropomum*) alimentados com dietas suplementadas com resíduo de cervejaria (cevada), os quais mostraram redução nos valores de peso e comprimento, como ocorre com a unha-de-gato.

Um dos imunoestimulantes bastante estudados atualmente é o beta-glucano, formado por polissacarídeos e compostos de moléculas de glicose (WELKER et al., 2007). Testes com β -glucano mostram ganho de peso em tilápias (*Oreochromis niloticus*), pois acredita-se que haja uma degradação do glucano por ação da glucanase, que promove o deslocamento de proteínas (efeito poupador de proteínas) para o crescimento (LOPÉZ et al., 2003).

Poucos estudos mostram a eficácia de plantas, mas o Brasil tem enorme potencial no campo de plantas medicinais. Sendo assim, é o momento de estudar, valorizar e validar a nossa rica e vasta flora (ROEDER, 1988). Dessa forma, o uso de produtos extraídos de plantas amazônicas desperta uma visão nova de utilização na piscicultura.

Referências

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) during transport. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 1-8, 2001.

CRUZ, D. M. Resíduos de cervejaria na alimentação de tambaqui, *Colossoma macropomum* (CURVIER, 1818). **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 24, n. especial, p. 133-138, 1997.

FARIAS, W. R. L.; REBOUÇAS, H. J.; TORRES, V. M.; RODRIGUES, J. A. G.; PONTES, G. C.; SILVA, F. H. O. S.; SAMPAIO, A. H. Enhancement of growth in tilapia larvae (*Oreochromis niloticus*) by sulfated D-galactans extracted from the red marine alga *Botryocladia occidentalis*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 35, n. especial, p. 189-195, 2004.

INOUE, L. A. K. A.; AFONSO, L. O.; IWAMA, G.; MORAES, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*B. cephalus*) to transport. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 2, p. 289-295, 2005.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix**, v. 9, n. 6, p. 19-24, 2000.

LOPÉZ, N.; CUZON, G.; GAXIOLA, G.; TABOADA, G.; VALENZUELA, M.; MEDRI, V. et al. Crescimento de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis de levedura alcooleira, alocadas em tanque-rede. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 25, p. 51-59, 2003.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. Nova Odessa: H. Lorenzi, 1982. P. 173.

MELLINGER, C. G. Caracterização estrutural e atividade biológica de carboidratos de *Phyllanthus niruri* (Quebra-pedra). 2006. Monografia (Graduação em Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

PDR for Herbal Medicines. 2. ed. New Jersey: Medical Economics, 2000. p. 91-92.

ROEDER, R. **Promoção da agricultura em regiões semi-áridas do Nordeste brasileiro**: pesquisa sobre a pecuária nos planaltos da chapada. Teresina: DNOCS, 1988. p. 125.

SANTOS, D. R. **Chá de quebra-pedra na litíase urinária em humanos e em ratos**. 1990. 157 p. Tese (Doutorado em Medicina)- Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

WELKER, T. L.; LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; SHELBY, R.; KLESZIUS, P. H. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 38, n. 1, p. 24-35, 2007.

WURTS, W. A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. **World Aquaculture**, v. 26, n. 3, p. 80-81, 1995.

Cultivo in Vitro de Espécies Florestais Tropicais – Controle de Contaminação e Estabelecimento de Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*)

Marcos Cauper Duarte Velttari
Regina Quisen

Resumo

O sucesso da introdução de explantes in vitro depende das condições de assepsia em geral. A inobservância desse fator constitui um dos principais entraves ao avanço da micropropagação de espécies tropicais, já que pode ocorrer perda de material vegetativo e do meio de cultura. Dentro deste contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia de desinfestação de explantes de espécies florestais de interesse econômico como subsídio para o desenvolvimento de protocolos de micropropagação e embriogênese somática. Para tal, foram desenvolvidos ensaios com segmentos foliares e nodais retirados de mudas de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*), que foram submetidos a vários tratamentos de assepsia com diferentes agentes desinfestantes, concentrações e tempos de exposição dos tecidos. Os explantes foram inoculados em meio MS suplementado com sais, sacarose e ágar e mantidos em ambiente escuro com temperatura de $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dentre os diversos aplicados nos diferentes experimentos avaliados, observou-se tolerância dos explantes de castanheira ao tratamento com cloreto de mercúrio. Os resultados obtidos demonstraram a necessidade da ampliação de

testes com combinações de princípios ativos e tempos de exposição para o sucesso do estabelecimento de explantes assépticos de castanheira-do-brasil.

Palavras-chave: cultura de tecidos vegetal, espécies lenhosas.

Introdução

O uso da técnica de cultura de tecidos vegetais em diversas espécies florestais indica a possibilidade de obtenção, num curto espaço de tempo, de grandes quantidades de novas plantas a partir de um único explante em subcultivos periódicos. No entanto, essa alternativa para a conservação e utilização do potencial econômico dessas espécies ainda necessita de pesquisas básicas e do desenvolvimento de protocolos de multiplicação *in vitro* para seu perfeito entendimento e utilização no setor de produção.

Dentre os grandes benefícios da aplicação dessa técnica no melhoramento genético florestal e na propagação de espécies está a possibilidade de identificar e fixar componentes aditivos e não aditivos da variabilidade genética por meio da propagação clonal, principalmente para aquelas espécies de grande valor econômico e ecológico cuja produção de mudas apresenta algum tipo de limitação (GUERRA e NODARI, 2006).

Na cultura de tecidos de plantas, que consiste num conjunto de técnicas nas quais um tecido (explante) é isolado e cultivado sob condições de plena assepsia, em um meio nutritivo artificial (HARTMAN et al., 2005), um dos principais entraves para seu desenvolvimento é a contaminação do meio nutritivo por fungos, bactérias, leveduras, vírus e viroides. Esse tipo de contaminação estabelece-se no meio e/ou material vegetal, que pode ser patogênico para as plantas *in vitro*, ou latente, competindo pelos nutrientes, produzindo substâncias tóxicas e inibindo desenvolvimento do explante, ocasionando, assim, a sua perda.

Em princípio, existem quatro fontes de contaminação: a fonte de explante, o meio nutritivo, o ambiente e o operador (habilidade). O mais importante destes é o explante que deve ser submetido à desinfestação antes de sua inoculação, a fim de eliminar microrganismos exógenos. Neste sentido, para prevenir ou eliminar a contaminação, várias pesquisas têm sido realizadas, as quais vão desde os estudos de medidas de assepsia (ERIG e SCHUCH, 2003) até o uso de meio de cultura com produtos antimicrobianos (SILVA et al., 2003; PEREIRA e FORTES, 2003; HANDA et al., 2005). Entre as substâncias com ação germicida, as mais comuns são o etanol e os compostos à base de cloro, tais como o hipoclorito de sódio e de cálcio. Outros agentes incluem o cloreto de mercúrio, o ácido clorídrico, o cloreto de benzalcônio e o peróxido de hidrogênio. Também são citados ácidos ou bases como o isopropanol e algumas substâncias do grupo das bases quaternárias, como os triquartenários de amônio (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

A maioria das pesquisas relata o uso de substâncias como hipoclorito de sódio e etanol 70% e, em alguns casos, a adição de antibióticos ao meio de cultura (GARCIA e RAFAEL, 1990; LEIFERT et al., 1991; BUCKLEY et al., 1995; TANPRASET e REED, 1998; REED et al., 1998). Entre as espécies florestais tropicais, citam-se metodologias assépticas com canjarana (ROCHA, 2005), cedro (NUNES et al., 2002) e *Miconia* sp. (CID et al., 1997). Mais recentemente novos produtos estão sendo testados como o PPM® (Plant Preservative Mixture) que apresenta restrição quanto a seu uso em associação à autoclavagem, utilizado apenas para prevenir contaminações após o processo (ERIG e SCHUCH, 2002).

Além dos produtos citados, para minimizar as contaminações é recomendável cultivar a planta matriz da qual serão coletados os explantes, em condições parcialmente controladas, como telados com cobertura plástica ou casa de vegetação. O cultivo de plantas nesses ambientes permite maior controle de irrigação, adubação e de pragas e doenças.

Portanto, esses avanços na geração de informações no que se refere às metodologias de assepsia e inoculação de tecidos *in vitro* tem contribuído de maneira significativa para as pesquisas de propagação de espécies tropicais de interesse econômico e ecológico. E assim, dentro desse cenário, este trabalho teve como objetivo testar diferentes concentrações de soluções desinfestantes, combinações de princípios ativos e tempos de exposição na desinfestação de explantes de castanha-do-brasil (*B. excelsa*), como primeira etapa da pesquisa do desenvolvimento de protocolos de micropropagação e embriogênese somática da referida espécie.

Material e Métodos

Os ensaios descritos abaixo foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, localizado no Km 29 da Rodovia AM-010, Manaus, Amazonas. Para os experimentos de assepsia relacionados foram utilizados explantes (segmentos de folhas e nodais) coletados de mudas de castanha-do-brasil (*B. excelsa*), mantidos em casa de vegetação e viveiro. Após coleta, os explantes foram colocados em solução de água e sabão e levados para ambiente de laboratório. Após nova lavagem em água estéril e detergente, os tecidos foram reduzidos a segmentos menores e tratados nos diferentes ensaios estabelecidos, conforme detalhado na Tabela 1.

Todos os procedimentos foram aplicados em ambiente asséptico de câmara de fluxo laminar, sendo que, após a desinfestação, os explantes foram novamente reduzidos e transferidos para tubo de ensaio contendo 10 mL meio de cultura com pH de 5,8 previamente autoclavado a 121 °C durante 15 minutos, composto pela formulação MS (MURASHIGUE e SKOOG, 1962) com redução à metade da concentração original de sais inorgânicos, suplementado com 3% de sacarose e 0,6% de ágar.

Tabela 1. Materiais e métodos utilizados na desinfestação de explantes de castanha-do-brasil (*B. exce/sa*). Embrapa Amazônia Ocidental, fevereiro, 2010.

Ensaio Assepsia e Meio de cultura

- A Imersão de 30 explantes/tratamento em PPM[®] a 1% para folha e a 3% para segmento nodal por 16 h seguido de HgCl₂ 0,5% por 1 min + assepsia padrão* (*álcool 70% por 1 minuto; hipoclorito 50% por 15 minutos; 3 lavagens com água estéril). Inoculação em meio MS/2 + carvão ativado a 0,2% + agrimicina[®] e cercobin[®] (250 mg L⁻¹ cada).
- B Imersão de 50 segmentos foliares / tratamento em PPM[®] 3% por 16 h seguido dos tratamentos: T1 - HgCl₂ a 0,5% por 1min + assepsia padrão; T2- Biocida completo** a 5% por 10 minutos + assepsia padrão. Inoculação em meio MS/2 + carvão ativado a 0,2% + Agrimicina[®] e Cercobin[®] (0,5% cada). **Biocida completo: PPM[®] + MgCl₂ e Mg(NO₃) 2% a 2,3% cada, C₆H₇KO₂ e NaC₆H₅CO₂ a 2%.
- C Segmentos foliares retirados de mudas estabelecidas em viveiro telado tratadas por cinco dias consecutivos de agrimicina[®] e cercobin[®] (0,2% cada) (G1). Tratamento controle (sem aplicação) (G2). Vinte explantes/tratamento submetidos a imersão em PPM[®] 3%/16 h seguido dos tratamentos com HgCl₂ 0,5% por 1 minuto (T1), 3 minutos (T2) e 5 minutos (T3) + assepsia padrão. Inoculação em meio MS/2 + carvão ativado a 0,2% + agrimicina[®] e cercobin[®] (0,5% cada).
- D 20 segmentos foliares / tratamento submetidos a agitação por 4 horas em meio MS líquido com 5% de PPM[®] (T1); solução antioxidante por 2 horas + meio MS líquido com 50% de PPM[®] por 10 minutos (T2); PPM[®] a 1% por 16 h + HgCl₂ a 0,5% por 2 minutos + assepsia padrão (T3); solução antioxidante por 3 horas + HgCl₂ a 0,5% por 2 minutos + assepsia padrão (T4); PPM[®] a 1% por 16 h + HgCl₂ a 0,5% por 2 minutos + assepsia padrão (T5). Explantes da assepsia T1 e T2 inoculados em meio MS/ 2 + carvão ativado 0,2% e, explantes da assepsia T3, T4 e T5 inoculados em meio MS/ 2 + carvão ativado 0,2% sem (T5) e com (T3 e T4) agrimicina[®] e cercobin[®] (0,5% cada).
- E Imersão de 10 segmentos foliares / tratamento em PPM[®] a 1% por 16 h seguido de: assepsia padrão (T1 e T6); HgCl₂ a 0,5% por 1 min (T2 e T7) ou 2 min (T3 e T8) + assepsia padrão; HgCl₂ a 0,5% por 1 minuto (T4 e T9) ou 2 min (T5 e T10) + assepsia padrão + antioxidante por 15 min. Explantes da assepsia T1, T2, T3, T4, T5 foram inoculados em meio MS/2 + carvão ativado a 0,2%. Explantes da assepsia T6, T7, T8, T9, T10 foram inoculados em meio MS/2 + carvão ativado a 2% + agrimicina[®] e cercobin[®] (0,5% cada).
- F Imersão de 75 segmentos foliares / tratamento imersos em PPM[®] 1% por 16 h seguido de: HgCl₂ a 0,5% por 2 min (T1) ou 4 min (T2) + assepsia padrão. Inoculação em meio MS/2 + carvão ativado a 0,2% + agrimicina[®] e cercobin[®] (0,5% cada).

Após inoculação, as culturas foram mantidas em ambiente escuro em sala de crescimento com temperatura de $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com número diferenciado de repetições por tratamento para cada experimento. Ao final de 15-20 dias, as culturas foram avaliadas quanto à sobrevivência de explantes e a ocorrência de contaminação e de oxidação.

A definição desses ensaios tomou como base os resultados obtidos em dois testes preliminares com segmentos nodais tratados com PPM[®] (3%) por 16 horas, seguidos de imersão em cloreto de mercúrio (0,5%) por 1 minuto, álcool 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio comercial a 50% por 15 minutos e lavagem tríplice em água estéril. Esses tratamentos resultaram em 52% e 48% de explantes livres de contaminantes quando inoculados em meio meio MS/2 suplementado com carvão ativado 2 g.L^{-1} , PPM[®] 0,5% ou agrimicina[®] e cercobin[®] 250 mg.L^{-1} , respectivamente.

Os valores encontrados foram submetidos à análise estatística descritiva e à análise de variância utilizando como nível de significância a margem de erro de 5% e, quando encontrada diferença estatisticamente significativa, foi aplicado o teste de comparação múltipla de Tukey (5%).

Resultados e Discussão

A associação do PPM[®], cloreto de mercúrio, agrimicina[®] e cercobin[®], utilizada no ensaio A, resultou em 87% e 90% de explantes livres de contaminantes para segmentos nodais e foliares, respectivamente. Na eficiência dessa associação ressalta-se a tolerância dos tecidos de *B. exce/isa* ao contato com o metal pesado, cloreto de mercúrio, considerado altamente tóxico tanto às plantas como aos animais podendo ser encontrado no solo, água e atmosfera (CATHUM et al., 2005). Também a imersão em biocida e a adição de fungicida/bactericida ao meio de cultura contribuíram para a porcentagem de explantes assépticos obtidos.

No ensaio B, por sua vez, essa associação não repetiu a mesma eficiência, visto que no tratamento 1 de mesma composição do ensaio anterior o controle da contaminação foi de somente 18%. O tratamento 2, que utilizou um biocida sem a presença de metal pesado como alternativa menos poluente e tóxica, não apresentou efeito algum sobre os fungos contaminantes, com perda total dos explantes. Atribui-se esse resultado ao fato de a coleta de explantes ter sido realizada em período de elevada precipitação pluviométrica na região, e a exposição das plantas matrizes ao excesso de umidade.

A descontaminação de explantes coletados de plantas matrizes pulverizadas com agrimicina® e cercobin® (Ensaio C) resultou em altos índices de contaminação, com 90% em G1T1, 95% em G1T2, 85% em G1T3, 100% em G2T1, 90% em G2T2 e 95% em G2T3. Esses resultados demonstraram a dificuldade da descontaminação de plantas doadoras que não estejam protegidas de precipitação direta, como no caso de plantas de população nativa, e reforçando a necessidade de estabelecimento de matrizes em casa de vegetação associado a pré-tratamentos destas, visto que a forma de manejo e a origem das plantas matrizes são determinantes para o controle da contaminação por microorganismos, principalmente quando relacionada aos microorganismos endofíticos.

Os resultados obtidos no ensaio D (Tabela 2), também implementado durante o período chuvoso, não resultaram em valores considerados eficientes, apesar da diferença significativa entre os tratamentos. A suplementação do meio de cultura com agrimicina® e cercobin® reduziu a contaminação nos tratamentos 3 e 4, apesar da perda devido à oxidação (40%). Comportamento similar a este foi observado por Cordeiro et al. (2009) com erva-mate (*Ilex paraguariensis*), que afirmam que a maior dificuldade em estabelecer essa espécie in vitro seja a existência de microorganismos endofíticos associados, além da oxidação dos explantes. Em razão do observado no presente trabalho, sugere-se a realização de novos testes com outros agentes antioxidantes e em menores concentrações, evitando a fitotoxicidade dos agentes descontaminantes.

Tabela 2. Perda de explantes foliares de castanha-do-brasil (*B. excelsa*) após inoculação in vitro, submetidos a diferentes condições de assepsia. Embrapa Amazônia Ocidental, fevereiro, 2010.

Ensaio	Contaminação (%)	
D	T1- 100 a	
	T2- 100 a	
	T3- 85 b	
	T4- 60 c	(40% oxidação)
	T5- 100 a	
E	T1- 100 a	
	T2- 100 a	
	T3- 100 a	
	T4- 100 a	
	T5- 100 a	
	T6- 60 b	
	T7- 40 c	
	T8- 40 c	
	T9- 10 e0	(90% oxidação)
	T10- 20 d	
F	T1 – 41a	(2% oxidação)
	T2 – 67a	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para o ensaio E, alguns tratamentos surtiram maior efeito no controle da contaminação, como no tratamento 10 (imersão em PPM® a 1% por 16 h seguido de assepsia padrão e HgCl₂ a 0,5% por 2 minutos) com apenas 20% de perdas de explantes. O tratamento 9, por sua vez, apesar de baixa porcentagem de contaminantes, apresentou elevada oxidação (90%). A elevação do período em contato com o cloreto de mercúrio no ensaio F apresentou maior perda por contaminantes.

Problemas semelhantes foram observados por Philip et al. (1992) na assepsia de pimenta-do-reino, em que a eficiência do melhor tratamento com cloreto de mercúrio foi de 20%, em razão de toxidez deste aos explantes. Assim, recomenda-se a ampliação de ensaios visando ao equilíbrio entre a eficiência da assepsia e à viabilidade dos explantes.

Conclusões

Nas condições testadas no presente trabalho, pode-se concluir que:

- Os resultados obtidos confirmam a grande dificuldade de limpeza de tecidos de espécies arbóreas tropicais para o cultivo in vitro devido à elevada presença endógena e exógena de microrganismos.
- Nenhum dos tratamentos testados nos diferentes ensaios controlou completamente o crescimento de microrganismos no estabelecimento in vitro de explantes de *B. excelsa*.
- Apesar da taxa de contaminação observada, a utilização de fungicidas/bactericidas (agrimicina[®], cercobin[®] e PPM[®]) foi essencial tanto nos pré-tratamentos laboratoriais como na assepsia dos explantes foliares de castanheira.

Adicionalmente, são pontos de relevância a serem considerados para o sucesso de trabalhos futuros de estabelecimento de explantes assépticos de castanha-do-brasil; as condições de manutenção da planta-matriz e a ampliação nas combinações de princípios ativos e tempos de exposição dos tecidos vegetais.

Agradecimentos

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de pesquisa.

À Embrapa Amazônia Ocidental, pelo apoio financeiro, infraestrutura e oportunidade desta aprendizagem.

Referências

BUCKLEY, P.; DE WILDE, T.; REED, B. Characterization and identification of bacteria isolated from micro propagated mint plants. **In Vitro Cellular and Developmental Biology**, v. 31, p. 58-64, 1995.

CATHUM, S.; VELICOGNA, D.; OBENAUF, A.; DUMOUCHEL, A.; PUNT, M.; BROWN, C. E.; RIDAL, J. Detoxification of mercury in the environment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 381, p. 1491-1498, 2005.

CID, L. P. B.; GOMES, A. C. M.; COSTA, S. B. R.; TEIXEIRA, J. B. Micropropagation of *Miconia* sp. a woody melastomataceae from Brazil, using Thidiazuron as plant growth regulator. **Revista Brasileira de Fisiologia**, v. 9, n. 1, p. 21-25, 1997.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* Borkh.) cvs, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 221-227, 2003.

ERIG, A. C., SCHUCH, M. W. Multiplicação *in vitro* do porta enxerto de macieira cv. Marubakaido: efeito da orientação do explante no meio de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 293-295, 2002.

GARCIA, E. V.; RAFAEL, M. Control de la oxidación y contaminación em microesquejes de café (*Coffea arabica* "Catimor") cultivados *in vitro*. **Agronomia Tropical**, v. 40, p. 281-290, 1990.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA, 1998. v. 1. p. 99-169.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Material didático de apoio à disciplina de Biotecnologia**, Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina, 2006. Disponível em:
<<http://www.cca.ufsc.br/lfdgv/Apostila.htm>>. Acesso em: 27 jun. 2011.

HANDA, L.; SAMPAIO, P.; QUISEN, R. Cultura *in vitro* de embriões e de gemas de mudas de pau-rosa (*Aniba rosaodora* Ducke). **Acta Amazônica**, v. 35, p. 29-33, 2005.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T. **Plant propagation: principles and practices**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 2005. 647 p.

LEIFERT, C.; RITCHIE, J. Y.; WAITES, W. M. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 7, p. 452-469, 1991.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 156-163, 1962.

NUNES, E. C.; CASTILHO, C. V.; MORENO, F. N.; VIANA, A. M. *In vitro* culture of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 70, p. 259-268, 2002.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. L. R. Toxicidade de antibióticos no cultivo *in vitro* da batata em meios semi-sólido e líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 11, 2003.

PHILIP, V. J.; JOSEPH, D.; TRIGGS, G. S.; DICKINSON, N. M. Micropropagation of black pepper (*Piper nigrum* Linn.) through shoot tip cultures. **Plant Cell Reports**, v. 12, p. 42-44, 1992.

REED, B. M.; MENTZER, J.; TANPRASERT, P.; YU, X. Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut: identification and antibiotic treatment. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 52, p. 67-70, 1998.

ROCHA, S. C. Micropropagação da canjarana (*Cabralea canjerana*). 2005. 85 p. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

SILVA, R. M. dos S.; BLANK, M. de F. A.; ANGELO, P. C. da S. Desinfestação de explantes de inhame roxo (*Dioscorea rotundata*, Poir) coletados no campo para micropropagação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. **Resumos...** Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p. 329.

TANPRASERT, P.; REED, B. Detection and identification of bacterial contaminants of strawberry runner explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 52, p. 53-55, 1998.

Heparina e EDTA como Anticoagulantes para Matrinxã (*Brycon amazonicus*)

Franciele Cristina de Souza

Edsandra Campos Chagas

Jony Dairiki

Fernanda Ferreira Loureiro de Almeida

Cheila de Lima Boijink

Resumo

Este estudo avaliou a eficácia de heparina e EDTA como anticoagulantes e o efeito desses fármacos sobre os parâmetros hematológicos de matrinxã (*Brycon amazonicus*). Foram utilizados dez peixes pesando $384,9 \text{ g} \pm 85,71 \text{ g}$ nos ensaios, cujos tratamentos avaliados foram: controle, K_3 EDTA 10%, heparina 100 UI e heparina 5.000 UI, com dez repetições. Os parâmetros avaliados foram: inibição da coagulação por 10 h, eritrograma e teste de fragilidade osmótica dos eritrócitos. Os resultados obtidos mostram que a heparina 5.000 UI, heparina 100 UI e K_3 EDTA 10% foram eficazes na prevenção da coagulação por mais de 10 horas, no entanto o EDTA causou hemólise desde os primeiros momentos. No eritrograma não foi observada diferença na contagem de eritrócitos, hematócrito, taxa de hemoglobina e CHCM, mas houve aumento do VCM ($P < 0,05$) nas amostras acondicionadas com K_3 EDTA 10%. Além disso, esse anticoagulante causou incremento ($P < 0,05$) na fragilidade osmótica dos eritrócitos quando comparado com heparina 5.000 UI e 100 UI, e com o grupo controle. A utilização da heparina como anticoagulante é mais apropriada para matrinxã, visto que foi eficiente na prevenção da

coagulação por mais de 10 horas, sem ocasionar hemólise ou alterações nos parâmetros hematológicos e na fragilidade osmótica dos eritrócitos.

Palavras-chave: heparina, EDTA, parâmetros hematológicos.

Introdução

A utilização de diferentes anticoagulantes na hematologia clínica de peixes tem sido alvo de recentes estudos (WALENCIK e WITESKA, 2007; ISHIKAWA et al., 2010), visto que existem peculiaridades que tornam alguns fármacos mais apropriados de acordo com a espécie, assim como observado em outros vertebrados (HARR et al., 2005). Para que se estabeleçam os valores hematológicos de referência, torna-se fundamental o conhecimento do anticoagulante mais apropriado, uma vez que inúmeras alterações in vitro relacionadas aos anticoagulantes têm sido reportadas em peixes (WALENCIK e WITESKA, 2007; ISHIKAWA et al., 2010).

Entre os anticoagulantes empregados para realizar os procedimentos hematológicos em peixes, a heparina e o EDTA são os mais utilizados (WALENCIK e WITESKA, 2007). Esses anticoagulantes, por sua vez, atuam em diferentes etapas da cascata de coagulação, inibindo-a (HARR et al., 2005), preservando-se, dessa forma, a fluidez do sangue que viabiliza a realização do hemograma. A escolha do anticoagulante adequado é fundamental não somente para os exames hematológicos, mas alguns parâmetros imunológicos também sofrem interferência desses fármacos (WALENCIK e WITESKA, 2007).

O matrinxã (*B. amazonicus*) é uma das principais espécies nativas produzidas no Brasil, com importância econômica relevante, especialmente na região Norte do Brasil. Estudos sobre a fisiologia e parâmetros hematológicos dessa espécie já vêm sendo realizados (TAVARES-DIAS et al., 2008) e entre os anticoagulantes, a heparina e o EDTA são empregados por diferentes pesquisadores.

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de heparina de sódio e EDTA como anticoagulantes e o efeito desses fármacos sobre os parâmetros hematológicos de matrinxã (*B. amazonicus*).

Material e Métodos

Foram utilizados dez indivíduos de matrinxã pesando $384,9 \text{ g} \pm 85,71 \text{ g}$ e medindo $27,90 \text{ cm} \pm 2,10 \text{ cm}$, aclimatados durante um mês em tanques de fibra de vidro de 2.000 L. Os peixes foram capturados com auxílio de puçá, contidos mecanicamente por meio de pano úmido e submetidos à punção caudal (2,5 mL) utilizando seringas isentas de anticoagulantes. O sangue foi rapidamente distribuído em igual volume de 0,5 mL em quatro tubos de polietileno (1,5 mL). A primeira alíquota foi acondicionada em tubo isento de anticoagulante (controle) e nos demais tubos com as seguintes concentrações de anticoagulantes: 15 μL de K_3EDTA 10% (1 mg mL^{-1} de sangue), 15 μL de heparina 5.000 UI (150 UI mL^{-1} de sangue) e 15 μL de heparina 100 UI (1,5 UI mL^{-1} de sangue), após diluição a partir da heparina 5.000 UI em solução fisiológica a 0,65% (1:50).

Para determinação da fragilidade osmótica dos eritrócitos, utilizou-se solução salina tamponada conforme descrito por Parpart et al. (1947). As diluições em série foram feitas a partir da solução estoque a 10,5%, sendo utilizadas as seguintes concentrações: 0,65%, 0,54%, 0,43%, 0,32%, 0,21% e 0,10% de NaCl-PO_4 . Os procedimentos adotados para essa técnica em peixes foram os de Ishikawa et al. (2010).

A partir das amostras sanguíneas acondicionadas com os anticoagulantes, foi realizada a dosagem do percentual do hematócrito pela técnica do micro-hematócrito, dosagem da taxa de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina e contagem de eritrócitos utilizando a diluição de 1:200 em solução de formol-citrato, realizando a contagem em hemocítômetro. De posse desses dados, foram calculados os índices hematimétricos de Wintrobe (1934), compreendidos pelo

volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O sangue remanescente foi estocado em temperatura entre 5 °C-7 °C, por um período de 10 horas, sendo avaliado após esse período quanto à ocorrência de coagulação e/ou hemólise.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A inibição da coagulação sanguínea em matrinxã foi promovida com a utilização do K₃EDTA 10%, heparina 5.000 UI e heparina 100 UI de forma eficiente e por mais de 10 horas sob refrigeração, sendo esse tempo adequado para a realização do exame hematológico. No entanto, o K₃EDTA 10% determinou a ocorrência de discreta a moderada hemólise desde os primeiros momentos, observado nos microtubos capilares durante a determinação do hematócrito. Adicionalmente, foi observada intensa hemólise nas amostras acondicionadas com esse anticoagulante após 10 horas de armazenamento. A ocorrência de hemólise em amostras acondicionadas com EDTA tem sido relatada em carpa comum (WALENCIK e WITESKA, 2007), surubim híbrido (ISHIKAWA et al., 2010) e matrinxã no presente estudo.

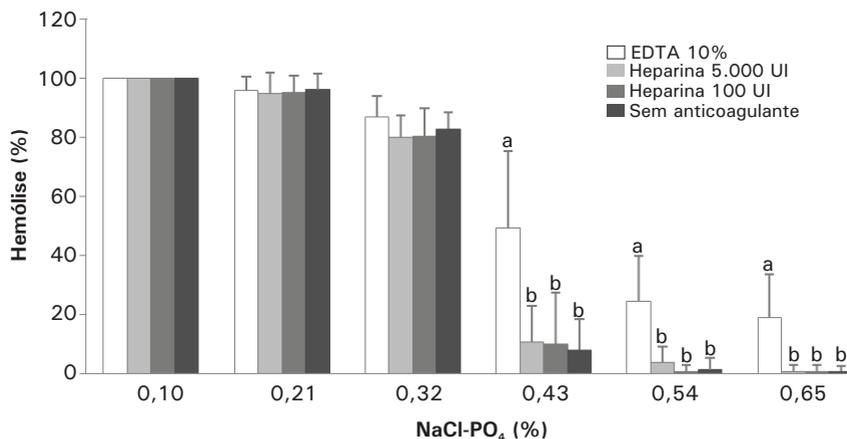
Na avaliação dos parâmetros hematológicos (Tabela 1), pode-se observar que o único parâmetro que foi influenciado por esses fármacos foi o VCM, indicado pelo seu aumento ($P < 0,05$) nas amostras acondicionadas com K₃EDTA 10%. Esse anticoagulante promove a quelação dos íons Ca²⁺ que determina distúrbios na permeabilidade e estabilidade da membrana dos eritrócitos (WALENCIK e WITESKA, 2007). Assim, os eritrócitos tornam-se sensíveis a variações em seu volume por falhas nas trocas iônicas realizadas em sua membrana, o que justifica o aumento do VCM em matrinxã neste estudo.

Tabela 1. Parâmetros hematológicos de matrinxã (*B. amazonicus*) utilizando diferentes anticoagulantes.

Parâmetros	Heparina		K ₃ EDTA
	5.000 UI	100 UI	10%
Hematócrito (%)	27,60 ± 2,87a	26,90 ± 1,72a	28,90 ± 2,55a
Eritrócitos (x 10 ⁶ µL ⁻¹)	1,78 ± 0,23a	1,67 ± 0,18a	1,73 ± 0,21a
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	8,12 ± 0,76a	8,08 ± 0,40a	8,23 ± 0,96a
VCM (fL)	155,66 ± 8,02a	158,61 ± 8,67a	167,60 ± 7,95b
CHCM (g dL ⁻¹)	29,63 ± 3,35a	30,11 ± 1,34a	28,59 ± 3,44a

Valores com letras diferentes em uma mesma linha são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

No teste de fragilidade osmótica dos eritrócitos (FOE), verificou-se que o K₃EDTA 10% determina a ocorrência de hemólise em matrinxã, visto que essa condição foi observada desde a concentração de 0,65% de NaCl-PO₄, que é a concentração fisiológica para peixes. Além disso, esse anticoagulante aumentou a sensibilidade dos eritrócitos à hemólise nas concentrações 0,54% e 0,43% de NaCl-PO₄ (P < 0,01). Por outro lado, a heparina 5.000 UI e a 100 UI não influenciaram na sensibilidade dos eritrócitos de matrinxã frente ao estresse osmótico (Figura 2).



*Letras diferentes em mesma concentração de NaCl-PO₄ (%) indicam diferença estatística entre os anticoagulantes, de acordo com o teste de Tukey (P < 0,01).

Figura 1. Fragilidade osmótica dos eritrócitos em matrinxã (*B. amazonicus*) utilizando diferentes anticoagulantes.

Os distúrbios na permeabilidade que acometeu os eritrócitos cujo sangue foi acondicionado com K_3EDTA mostraram-se mais evidentes, reproduzindo grande incremento no percentual de hemólise. Essa situação corrobora os resultados descritos em carpa comum (WALENCIK e WITESKA, 2007) e surubim híbrido (ISHIKAWA et al., 2010). Por outro lado, a heparina pura e/ou diluída como anticoagulante não influenciou a fragilidade osmótica dos eritrócitos, apresentando resultados similares ao grupo sem anticoagulante. Efeito semelhante foi observado em surubim híbrido quando utilizada a heparina 100 UI, o que faz desse anticoagulante ideal para realização do teste de fragilidade osmótica dos eritrócitos em peixes.

Conclusões

A heparina é mais apropriada como anticoagulante para matrinxã, dada sua eficiência na prevenção da coagulação por mais de 10 horas, sem ocasionar hemólise ou alterações nos parâmetros hematológicos e na fragilidade osmótica dos eritrócitos. A heparina 100 UI torna-se mais econômica e não apresenta diferença prática em relação à heparina 5.000 UI, sendo o anticoagulante de eleição para matrinxã.

Agradecimentos

Ao pesquisador Francisco Célio Maia Chaves e aos assistentes Irani da Silva de Moraes e José Pereira de Souza, da Embrapa Amazônia Ocidental, pelos ensinamentos transmitidos e pela ajuda na condução dos experimentos.

Referências

HARR, K. E.; RASKIN, R. E.; HEARD, D. J. Temporal effects of 3 commonly used anticoagulants on hematologic and biochemical variables in blood samples from macaws and Burmese pythons. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 4, p. 383-388, Dec. 2005.

ISHIKAWA, M. M.; PÁDUA, S. B.; SATAKE, F.; HISANO, H.; JERÔNIMO, G. T.; MARTINS M. L. Heparina e Na₂EDTA como anticoagulantes para surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*): eficácia e alterações hematológicas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1557 – 1561, 2010.

PARPART, A. K.; LORENZ, P. B.; PARPART, E. R.; GREGG, J. R.; CHASE, A. M. The osmotic resistance (fragility) of human red cells. **Journal of Clinical Investigation**, v. 26, p. 636 – 640, 1947.

TAVARES-DIAS, M.; AFFONSO, E. G.; OLIVEIRA, S. R.; MARCON, J. L.; EGAMI, M. I. Comparative study on hematological parameters of farmed matrinxã, *Brycon amazonicus* Spix and Agassiz, 1829 (Characidae: Bryconinae) with others Bryconinae species. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 799-806, dez. 2008.

WALENCIK, J.; WITESKA, M. The effects of anticoagulants on hematological indices and blood cell morphology of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology: Part C: Toxicology and Pharmacology**, v. 146, n. 3, p. 331-335, 2007.

WINTROBE, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, v. 51, p. 32-49, 1934.

Inclusão do Imunoestimulante Natural *Moringa oleífera* na Alimentação do Tambaqui

Dayse Priscilla Amorim Sardinha

Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue

Francisco Célio Maia Chaves

Cheila de Lima Boinjik

Irani da Silva Moraes

Resumo

O tambaqui é a espécie de peixe mais cultivada na Amazônia Ocidental devido a sua boa aceitação no mercado. Por isso houve aumento de sua produção em cativeiro, intensificando assim as práticas de manejo. Essas práticas são necessárias para verificação do crescimento e estado de saúde dos animais, no entanto podem ocasionar problemas quanto à sanidade, afetando o desempenho e a resistência dos peixes a doenças. Os imunoestimulantes são compostos naturais que modulam o sistema imune aumentando a resistência contra doenças por patógenos ou estresse, podendo também reduzir as perdas. Para obter o efeito desejado, fatores como o momento e o modo de aplicação, a dosagem e as condições fisiológicas dos peixes precisam ser levados em consideração. *Moringa oleífera* é uma planta arbórea com longas vagens verdes, sementes aladas, folhas grandes e flores brancas perfumadas. As árvores de moringa podem alcançar 4 m de altura, gerando flores e frutos em um ano; múltiplas colheitas de sementes são possíveis em muitas partes do mundo. Dado o contexto, o presente trabalho avaliou respostas metabólicas, detectadas por meio de alterações de parâmetros sanguíneos do tambaqui bem como a incidência de parasitos branquiais após exposição dos animais à alimentação

incrementada com extratos vegetais da planta moringa. O tratamento não inibiu totalmente o aparecimento de patógenos, mas as concentrações de 60 g/kg e de 75 g/kg reduziu o número de monogenoídes encontrados, quando comparados à ração sem adição de moringa. No entanto mais estudos ainda se fazem necessários para poder indicar esse tratamento.

Palavras-chave: produto natural, planta medicinal, Amazônia, criação.

Introdução

O tambaqui é um dos peixes mais consumidos na região amazônica. O grande consumo tem estimulado e viabilizado a criação em cativeiro. No entanto o estresse causado pela produção intensiva e pelas práticas comuns da piscicultura tem prejudicado o desempenho dos animais (BARTON e IWAMA, 1991). Logo, em decorrência dos problemas com doenças durante o cultivo de peixes, existe o uso indiscriminado de produtos químicos, trazendo riscos ao ambiente e às pessoas. Muitas plantas têm sido usadas na medicina tradicional para tratamento e controle de doenças. Porém, para peixes, há poucas informações. Neste sentido, uma planta estudada como alternativa é a *M. oleifera*, pertencente a família Moringaceae. É nativa da Índia e amplamente cultivada nos trópicos. O objetivo do trabalho foi avaliar respostas metabólicas do tambaqui exposto a diferentes concentrações de ração tratada com moringa, a fim de fornecer informações para futuras recomendações para piscicultura.

Material e Métodos

Área do estudo

O estudo foi conduzido na Embrapa Amazônia Ocidental, situada na Rodovia AM-10, Km 29, nas dependências do setor de piscicultura e de plantas medicinais, e no pesqueiro San Diego localizado no Km 35 da mesma rodovia.

Espécies estudadas

M. oleifera, planta pertencente à família Moringaceae, cresce rapidamente e é capaz de sobreviver em solos pobres. Possui significativa importância econômica na indústria e medicina. As folhas têm alto conteúdo de proteína (27%) e são ricas em vitamina A e C, cálcio, ferro e fósforo, podendo ser usadas na alimentação humana ou animal. Das folhas, a partir de extrato etanólico, obtêm-se compostos com atividade hipotensiva, hormônios promotores do crescimento, compostos com atividade hipocolesterolemica e atividade contra a infecção por vírus herpes. As folhas também possuem atividade antioxidante e são ricas em polifenóis totais, quercetina, campferol e β -caroteno (KARADI et al., 2006).

O tambaqui é o peixe mais criado na região amazônica, principalmente pela fácil obtenção de juvenis, bom potencial de crescimento, alta produtividade e rusticidade (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1997). Apresenta bom desempenho em criações intensivas, podendo alcançar 3 kg de peso em 12 meses de criação em sistemas de viveiros/barragens, sendo que, nesses sistemas, são expostos continuamente a vários estressores, como alterações na química da água, altas densidades de estocagem, manuseio excessivo e uso indiscriminado de drogas no tratamento de doenças. É muito apreciado pela população local, tornando a demanda por sua carne muito grande, estimulando pesquisadores e produtores a intensificar esforços para a melhoria do processo de criação.

Duzentos juvenis de tambaqui foram adquiridos e distribuídos igualmente em dez gaiolas de tamanho 1 m x 1 m x 1 m, segundo Castagnolli e Torrieri Junior (1980). Foram incluídos quatro níveis crescentes de moringa em 0 g/kg, 30 g/kg, 45 g/kg, 60 g/kg e 75 g/kg de ração comercial, com duas repetições por tratamento. Os animais foram alimentados com essa ração durante 45 dias duas vezes ao dia até saciedade aparente por 45 dias; depois foi feita nova biometria (Tabela1) e coleta de sangue para exame. Três peixes de cada gaiola tiveram o sangue coletado por punção caudal, com uso de seringas com

EDTA a 10%. O sangue total foi usado para determinar parâmetros sanguíneos de hematócrito, eritrócito e hemoglobina total. Os resultados foram submetidos à análise de variância e Anova e, quando detectada significância, foi feito o teste de Tukey.

Tabela 1. Valores de peso e comprimento inicial e final de juvenis de tambaqui estocados em gaiolas flutuantes e alimentados com diferentes níveis de pó da planta moringa, seca e moída, na ração com fins de investigação de efeito antiparasitário.

Tratamento	Peso inicial (g)	Comp inicial (cm)	Peso final (g)	Comp final (cm)
Controle	42 ± 22a	12 ± 2	98 ± 46	17 ± 2
30 g/kg	36 ± 11a	12 ± 1	78 ± 25	16 ± 2
45 g/kg	42 ± 19a	12 ± 1	65 ± 21	15 ± 2
60 g/kg	43 ± 15a	12 ± 2	71 ± 18	16 ± 6
75 g/kg	34 ± 13b	12 ± 2	67 ± 20	15 ± 1

Letras distintas indicam diferença, teste Tukey.

Resultados e Discussão

Verificou-se perda de crescimento dos animais alimentados com o nível mais alto de moringa na ração (Tabela 1). Pouca alteração sanguínea foi observada, com exceção dos valores de hematócrito mais altos nesse tratamento, porém sem diferenças significativas (Tabela 2). A adição de moringa na ração do tambaqui proporcionou diminuição do número de parasitas nas brânquias, porém nas concentrações mais altas não houve diferenças significativas (Figura 1). Não se observou mortalidade de peixes ao longo do período experimental. Porém mais estudos são necessários para recomendação do uso de moringa.

Tabela 2. Valores dos parâmetros sanguíneos e parasitários de juvenis de tambaqui estocados em gaiolas flutuantes e alimentados com diferentes níveis de pó da planta moringa, seca e moída, na ração com fins de investigação de efeito antiparasitário

Amostragem dos resultados sanguíneos e parasitológicos				
Tratamento	Eritrócito Milhões/mL	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dL)	Monogenoides
Controle	2,13 + 5,7	29,75 + 2,20	8,5 + 0,032	44,33 + 20,73
30 mg/kg	2,31 + 6,2	28,00 + 9,40	8,8 + 0,046	28,08 + 15,40
45 mg/kg	2,11 + 5,6	31,60 + 6,80	9,9 + 0,034	29,92 + 22,22
60 mg/kg	3,09 + 8,4	34,80 + 3,70	10,8 + 0,038	23,67 + 12,41
75 mg/kg	2,55 + 6,9	34,70 + 3,76	10,3 + 0,017	22,42 + 11,49

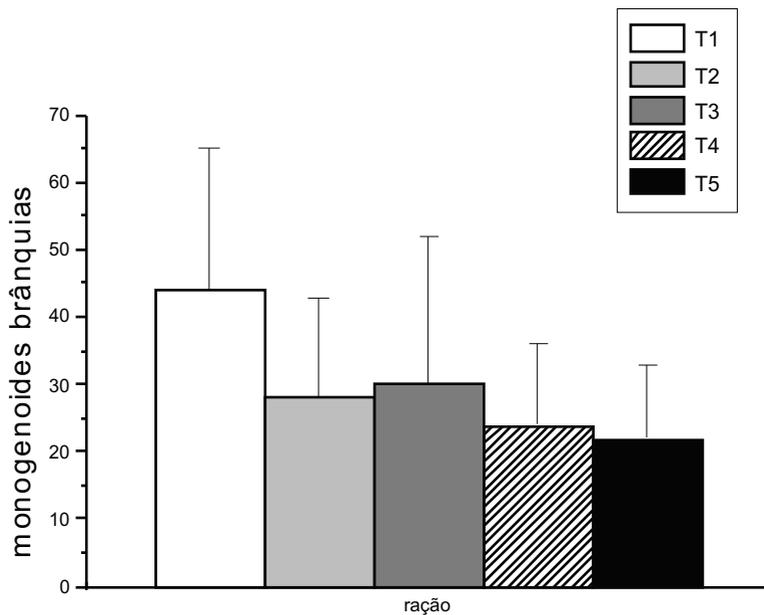


Figura 1. Diminuição de monogenoides nas brânquias de tambaqui estocado em gaiolas flutuantes e alimentado com diferentes níveis de planta moringa, seca e moída, na ração em quantidades de T1 = 0, T2 = 30, T3 = 45, T4 = 60 e T5 = 75 g/kg de ração.

Conclusões

A planta moringa, seca e moída, adicionada na ração do tabaqui promove a diminuição de parasitas nas brânquias, porém com certo comprometimento do crescimento. São necessários maiores estudos e esforços para elucidar o uso potencial dessa planta na alimentação e consequentemente na proteção imunológica do tabaqui.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Amazonas (Fapeam), pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de pesquisa. Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), principalmente ao Laboratório de Fisiologia e Animal, pelo apoio e pela infraestrutura. À Embrapa Amazônia Ocidental e ao Pesque-Pague San Diego, pela concessão da área de estudo.

Referências

ARAÚJO-LIMA, C. R. M.; GOULDING, M. **So fruitful fish**: ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui. New York: Columbia University Press, 1997. 157 p.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Disease**, v. 1, p. 3-26, 1991.

CASTAGNOLLI, N.; TORRIERI JR., O. Confinamento de peixes em tanques-rede. **Ciência e Cultura**, v. 32, n. 11, p. 1513-1517, 1980.

KARADI, R. V.; GADGE, N. B.; ALAGAWADI, K. R.; SAVADI, R. V. Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 306-311, 2006.

Métodos para Produção de Mudas de Jatobá e Colubrina em Condições de Viveiro e Campo na Amazônia

Larissa Aragão de Souza

Roberval Monteiro Bezerra de Lima

Resumo

Este trabalho teve como objetivo definir métodos para a produção de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril*) e colubrina (*Colubrina glandulosa*), espécies que apresentam utilização variada e de grande importância econômica e ecológica. Para a quebra de dormência das sementes de jatobá, estas foram imersas em água à temperatura ambiente por 48 h. Para a colubrina, as sementes foram imersas em água quente (85 °C) até esfriar. Foram utilizados cinco diferentes tratamentos (sacos e tubetes) e tamanhos de recipientes (pequeno, médio e grande), nos quais se analisaram: a porcentagem de sementes germinadas, o tempo de germinação, o diâmetro do coleto e a altura total das mudas. O jatobá apresentou baixo percentual de germinação (5,8%) com o tempo de 15 a 60 dias, e a colubrina, elevado percentual (80%) no período de 7 a 45 dias. Os recipientes saco pequeno, tubete grande e médio apresentaram os maiores valores de altura, não sendo significativamente diferentes entre si para o jatobá. Para a colubrina, os melhores recipientes foram sacos de polietileno, dando os maiores valores de altura em viveiro e campo. Os mesmos recipientes

originaram os maiores valores de diâmetro em campo. Sugere-se outros testes com tubetes para a colubrina, em virtude de problemas de substrato e adubação que afetaram tais recipientes.

Palavras-chave: *Hymenaea courbaril*, *Colubrina glandulosa*, parâmetros de crescimento.

Introdução

O afloramento dos problemas ambientais e a necessidade de recuperação de áreas degradadas têm aumentado o interesse sobre o conhecimento das espécies nativas brasileiras. Um dos grandes problemas na recomposição de florestas nativas é a produção de mudas de espécies que possam suprir programas de reflorestamento. Apesar dos esforços e dos conhecimentos já acumulados sobre essas espécies, muitos questionamentos ainda existem e pouco se sabe sobre elas (MORAES, 1998).

O tipo e o tamanho do recipiente são os primeiros aspectos que devem ser pesquisados para se garantir a produção de mudas de boa qualidade. O tamanho do recipiente deve permitir o desenvolvimento da raiz sem restrições durante o período de permanência no viveiro (CARNEIRO, 1983).

Hymenaea courbaril L. (jatobá), da família Fabaceae, é classificada como espécie clímax, pouco exigente quanto à fertilidade do solo (KAGEYAMA et al., 1990). A espécie possui uma polpa farinácea (ALMEIDA et al., 1990), muito procurada por várias espécies da fauna, que dispersam suas sementes, e que por isso é muito indicada nos plantios em áreas degradadas destinadas à recomposição da vegetação arbórea. A árvore pode atingir altura de 15 m - 20 m, as folhas são compostas de dois folíolos brilhantes, o fruto é um legume marrom, com 2 - 4 sementes (LORENZI, 1992).

Colubrina glandulosa (*P. colubrina*) é uma planta da família das Rhamnaceae. Atinge de 10 a 20 metros de altura. Floresce em grande parte do ano, mais intensamente em outubro - dezembro, dando frutos principalmente em dezembro - fevereiro. Trata-se de uma árvore higrófila e heliófila que apresenta grandes possibilidades de reflorestamento homogêneo. A sua madeira é altamente resistente ao apodrecimento, sendo muito empregada em obras expostas (REITZ et al., 1988).

Na Amazônia há necessidade de se reflorestar grandes áreas degradadas e de se conhecer os métodos de produção de mudas em viveiro, sendo assim o objetivo deste trabalho foi produzir mudas de jatobá (*H. courbaril*) e colubrina (*C. glandulosa*) em diferentes recipientes a fim de estabelecer um protocolo para produção de mudas de boa qualidade com baixo custo e em menor tempo no viveiro.

Material e Métodos

Local do experimento e obtenção das sementes

O experimento com o *H. courbaril* foi realizado no viveiro do Campo Experimental da sede da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, e o da *C. glandulosa* foi realizado na área da Empresa Monte Mar em Iranduba, AM, em condições de viveiro e campo. As sementes foram obtidas no laboratório de sementes da Embrapa Amazônia Ocidental.

Quebra de dormência

- Para a quebra de dormência do *H. courbaril*, as sementes foram imersas em água por 48 h, sendo em seguida lavadas em água corrente.
- Para a quebra da dormência da *C. glandulosa*, a água foi aquecida a 85 °C e as sementes foram imersas até atingir a temperatura ambiente.

Recipientes e sementeira

Os recipientes utilizados foram sacos de polietileno: pequenos (SP) – 12 cm x 20 cm e grandes (SG) – 16 cm x 25 cm; e tubetes de polipropileno: pequenos (TP) - 6 cm x 13 cm, médios (TM) – 6 cm x 14 cm e grandes (TG) – 6 cm x 20 cm.

Para o *H. courbaril*, a sementeira foi direta, com as sementes depositadas em substrato de terriço e esterco de galinha, na proporção de 2:1, respectivamente. *C. glandulosa* foi semeada em caixa com areia e repicada para sacos e tubetes, com substrato de terriço e cinza, na proporção de 1:1.

Delineamento experimental e avaliações

Os tratamentos foram distribuídos em blocos com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pelos tipos de recipientes, sendo formados por 32 plantas com bordaduras simples. Após a sementeira foram analisados: porcentagem de germinação, tempo de germinação, diâmetro do coleto e altura total das mudas. O critério de germinação adotado foi o momento em que a plântula emergiu do solo, podendo se notar a exposição completa dos cotilédones com as primeiras folhas. Para o resultado dessas avaliações foi utilizada análise de variância e testes de médias dos tratamentos, utilizando o programa de estatística R, versão 2.11 (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010).

Resultados e Discussão

Hymenaea courbaril

A emergência das sementes iniciou aos 15 dias após sementeira e se prolongou até aos 60 dias. Aos dois meses obteve-se 5,8% de germinação. Esse resultado é baixo, comparado com os resultados obtidos por Melo e Polo (2007), que foi de 22,5% de germinação a partir de 40 dias de sementeira da mesma espécie. Esse autor cita que utilizou o método de escarificação mecânica para a quebra de dormência, o que pode ter sido mais eficiente para esse propósito.

Analisando-se a altura das mudas aos 38 dias após a semeadura, verificou-se que seu desenvolvimento apresentou melhor comportamento em sacos pequenos (SP), tubetes grandes (TG) e tubetes médios (TM) (Figura 1 e Tabela 1), apesar de não diferirem entre si estatisticamente. Porém, ao analisar o diâmetro das mudas aos 60 dias, pode-se observar que seu desenvolvimento foi melhor em sacos pequenos (Figura 2 e Tabela 1), apesar de não se ter medido a altura nessa ocasião. Em relação a esse comportamento, Melo et al. (2004), ao analisarem a morfologia da planta de *H. courbaril*, citam que a espécie possui raiz pivotante, ou seja, seu desenvolvimento pode ser bom em recipientes pequenos em largura e grande em comprimento.

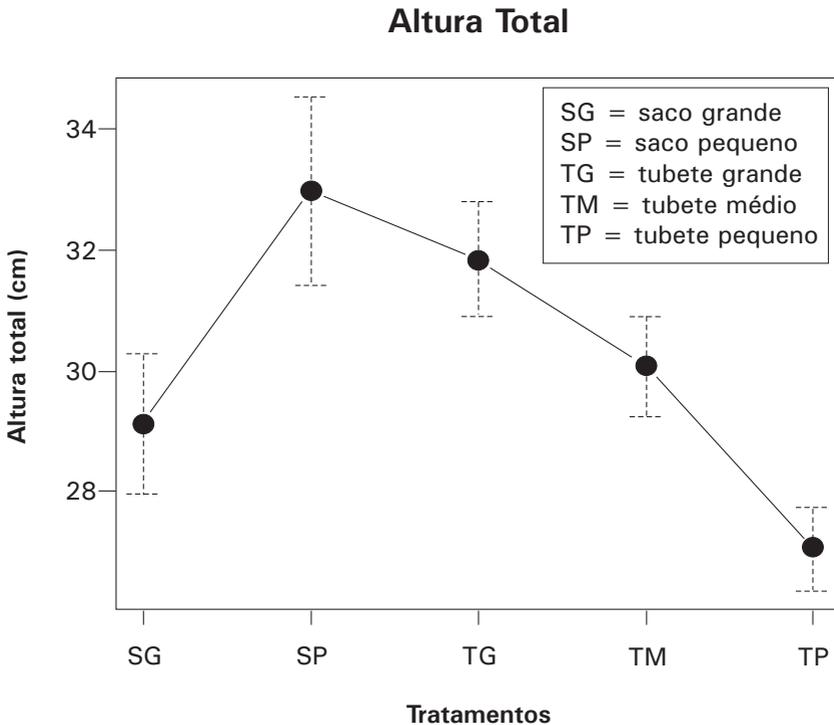


Figura 1. Médias de altura de *H. courbaril*, 38 dias após a semeadura.

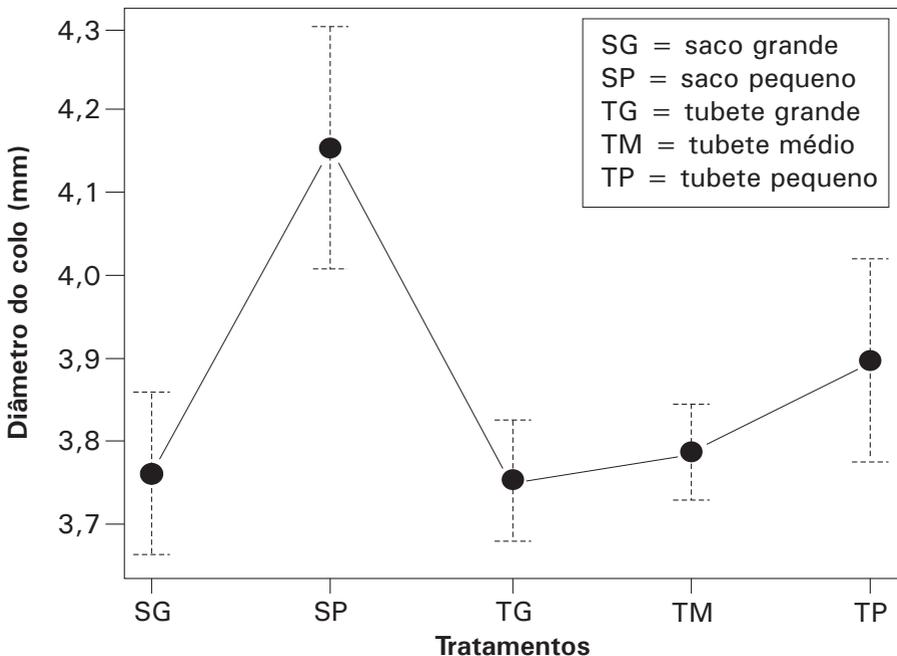
Tabela 1. Comparação do crescimento (altura e diâmetro) no viveiro de *H. courbaril* em função dos tratamentos.

Tratamento	Altura \pm desvio	Grupos ¹	Tratamento	Diâmetro \pm desvio	Grupos ¹
SP	32,9 \pm 8,9	a	SP	4,2 \pm 0,8	a
TG	31,9 \pm 6,1	ab	TG	3,9 \pm 0,5	b
TM	30,1 \pm 5,5	abc	TM	3,8 \pm 0,4	b
SG	29,1 \pm 7,7	bc	SG	3,8 \pm 0,6	b
TP	27,0 \pm 4,1	c	TP	3,7 \pm 0,7	c

CV = 21,93%	CV = 15,79%
F = 4,49	F = 2,76
P valor = 0,0017	P valor = 0,0287

¹Nota: médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 95%.

Diâmetro do colo

**Figura 2.** Médias de diâmetro do colo de *H. courbaril*, 60 dias após a semeadura.

Colubrina glandulosa

A emergência das sementes iniciou aos 7 dias após a semeadura e se prolongou até aos 45 dias, obtendo-se 80% de germinação total, indicando que o método de quebra de dormência com água quente foi eficaz.

Analisando-se o substrato composto por cinza e terriço, verificou-se que seu desenvolvimento de crescimento foi muito lento, por esse motivo foi feita uma adubação química, composta por ½ kg de ureia, 1 kg de superfosfato triplo, ½ kg cloreto de potássio em 40 L de água. Ao analisar as mudas após 20 dias, observou-se alta taxa de mortalidade nos tubetes. Essa taxa de mortalidade pode ter ocorrido pelo acréscimo de cinza ao substrato, criando uma camada impermeável na superfície, fazendo com que o adubo químico se concentrasse e levasse as mudas à mortalidade. Nodari et al.(1986) encontraram alta superioridade de crescimento em altura de mudas de colubrina, ao utilizarem substratos de lodo (resíduo do filtro, prensa de cana de açúcar) e cama de aviário (é o conjunto do material utilizado para forrar o piso dos galpões de granjas).

Analisando-se o crescimento dois meses após a semeadura, observou-se que o desenvolvimento em altura das mudas no viveiro foi significativamente melhor (p -valor = 0,0002402) em recipientes de sacos de polietileno, (Figura 3). Estes resultados assemelham-se aos obtidos por Carvalho (1994), que recomenda semear em sementeiras, e depois repicar as plântulas para sacos de polietileno. Neste trabalho, a semeadura direta foi eficiente, economizando-se tempo e trabalho em viveiro. Ao analisar o crescimento 30 dias após o plantio, pode-se observar o desenvolvimento em altura e diâmetro (Tabela 2). Mudas produzidas em sacos grandes (SG) ou pequenos (SP) apresentaram maior crescimento que as produzidas em tubetes (Figura 4, 5 e Tabela 2).

Altura Total

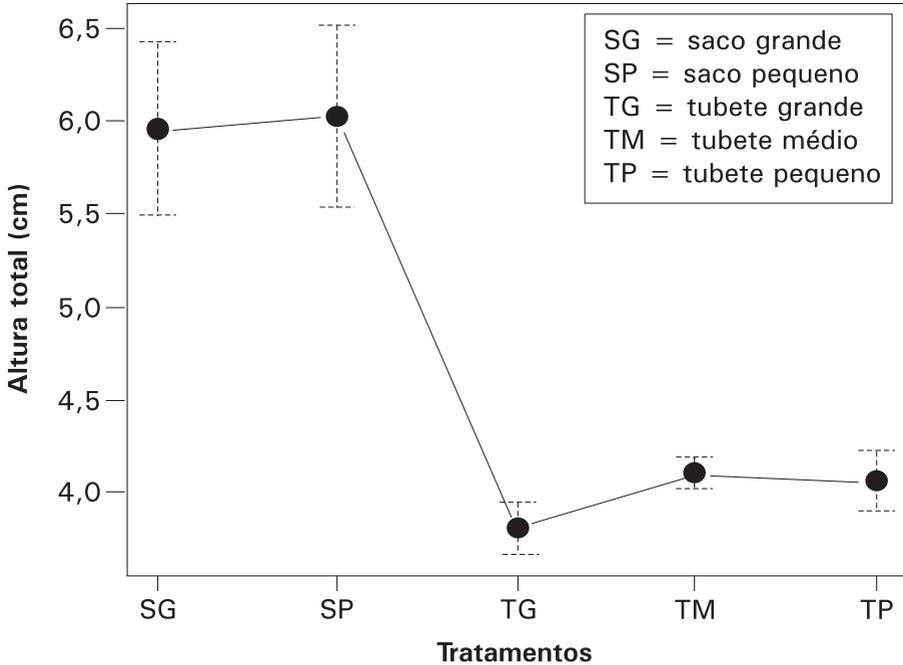


Figura 3. Médias de altura no viveiro, 2 meses após a semeadura de *C. glandulosa*.

Tabela 2. Comparação do crescimento (altura e diâmetro em campo de *C. glandulosa* em função dos tratamentos, 30 dias após o plantio.

Tratamento	Altura ± desvio (m)	Grupos ¹	Tratamento	Diâmetro ± desvio (m)	Grupos ¹
SG	27,5 ± 12,1	a	SG	10,4 ± 3,26	a
SP	23,3 ± 2,3	ab	SP	9,3 ± 0,99	ab
TP	22,1 ± 0,8	b	TP	8,8 ± 0,26	b
CV = 23,82%			CV = 14,94%		
F = 1,26			F = 1,96		
P valor = 0,399			P valor = 0,284		

¹Nota: médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 95%.

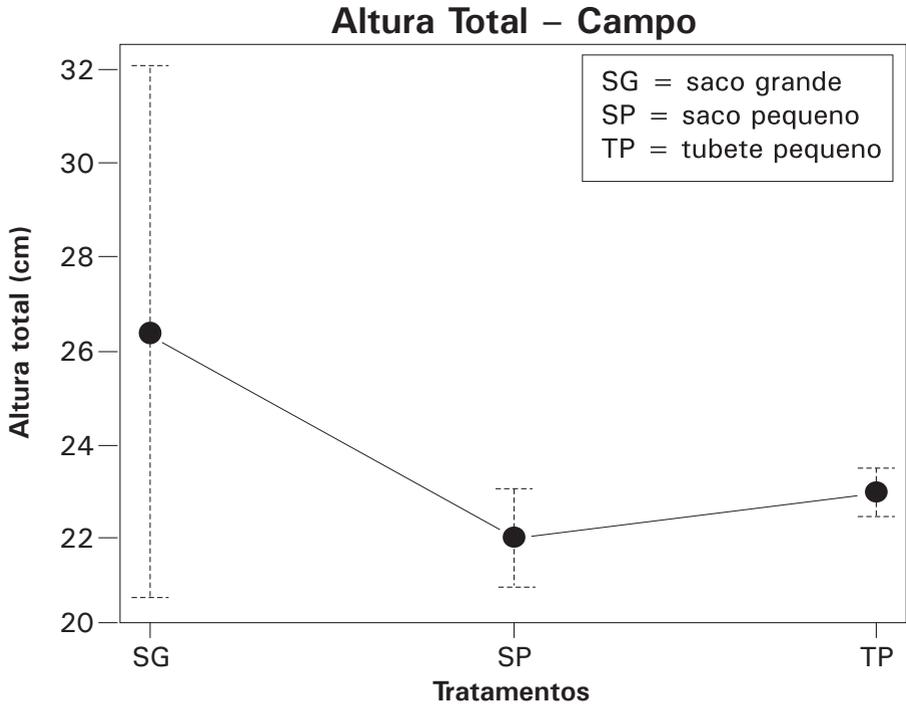


Figura 4. Média de altura no campo após 30 dias de *C. glandulosa*.

Diâmetro do colo – Campo

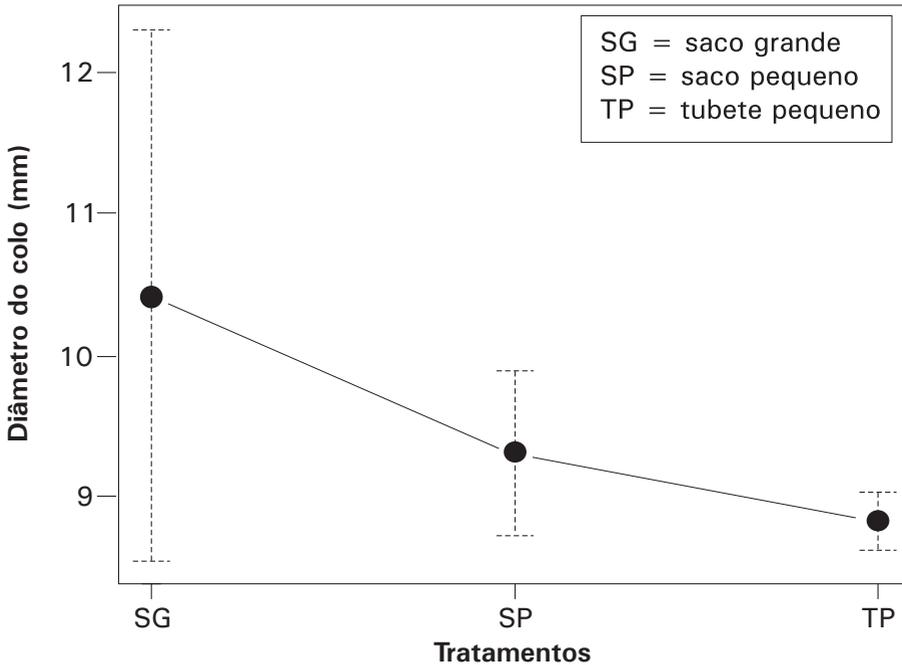


Figura 5. Média de diâmetro no campo após 30 dias de *C. glandulosa*.

Conclusões

As mudas de *H. courbaril* produzidas em sacos pequenos (12 cm x 20 cm), tubetes grandes (6 cm x20 cm) e médios (6 cm x14 cm) apresentaram maior crescimento em altura. As mudas produzidas em sacos pequenos apresentaram maior crescimento em diâmetro.

Para *C. glandulosa*, verificou-se que o crescimento das mudas em altura e diâmetro foi maior quando produzidas em sacos. Não se observou diferença entre os tamanhos grandes ou pequenos.

O método para a quebra de dormência com água quente foi eficaz para *C. glandulosa*, não se observando o mesmo para *H. courbaril*, que apresentou germinação desuniforme e prolongada.

Referências

ALMEIDA, S. P.; SILVA, J. A.; RIBEIRO, J. **Aproveitamento alimentar de espécies nativas do cerrado: araticum, baru, cagaita e jatobá.** 2 ed. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1990. 83 p. (Embrapa-CPAC. Documentos, 26).

CARNEIRO, J. G. de A. **Variações na metodologia de produção de mudas florestais afetam os parâmetros morfofisiológicos que indicam a sua qualidade.** Curitiba: FUPEF, 1983. p. 1-40. (FUPEF. Série Técnica, n. 12,).

CARVALHO FILHO, J. L. S.; BLANK, M. F. A.; BLANK, A. F.; RANGEL, M. S. A. Produção de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composições de substratos. **Cerne**, v. 9, n. 1, p. 109-118, 2003.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 182-186.

KAGEYAMA, P. Y.; BIELLA, L. C.; PALERMO JR., A. Plantações mistas com espécies nativas com fins de proteção a reservatórios. p. 109-113. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6., 1990, Campos do Jordão. **Anais...** Campos do Jordão: SBS/SBEF, 1990.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras** – manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

MELO, M. G. G.; MENDONÇA, M. S.; MENDES, A. M. S. Análise morfológica de sementes, germinação e plântulas de jatobá (*Hymenaea intermedia* Ducke var. *adenotricha* (Ducke) Lee & Lang.) (Leguminosae-caesalpinioideae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 1, p. 9-14, 2004–.

MELO, N. C.; POLO, M. Sobrevivência e germinação de sementes de *Hymenaea courbaril* L.. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8., 2007, Caxambu. **Anais...** Caxambu: UNIFAL.

MORAES, D. A. A de **Princípios básicos para a formação e recuperação de florestas nativas**. Brasília, DF: MA/ADR/PNFC, 1998. 55 p.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P.; REIS, A. Resposta de mudas de *Colubrina glandulosa* Perkins var. *reitzii* (M. C. Johnston) M. C. Johnston, a diferentes composições de substrato: fase de viveiro. **Silvicultura**, São Paulo, v. 11, n. 41, p. 75, 1986. Edição dos resumos do 5º Congresso Florestal Brasileiro, 1986, Olinda.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2010.. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 01 fev. 2011.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento, 1988. 525 p.

Produção de Biomassa de Crajiru (*Arrabidaea chica* Verlot.) em Função de Adubação Orgânica em Manaus, AM

Dionei Oliveira Gomes

Francisco Célio Maia Chaves

Adriana Uchôa Brito

Milena Rodrigues Soares Mota

Resumo

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a produção de biomassa de crajiru (*Arrabidaea chica* Verlot.) em função de diferentes fontes de adubo orgânico em Manaus, AM. As mudas foram obtidas por estaquia e plantadas em bandejas de poliestireno expandido (72 células) com substrato comercial, permanecendo em condição de viveiro durante 60 dias até serem plantadas em Latossolo Amarelo, no espaçamento de 1,0 m x 1,0 m. Os tratamentos foram os seguintes adubos orgânicos: casca de guaraná (4,0 kg/m²), composto (5,0 kg/m²), esterco de aves (4,0 kg/m²), esterco de gado (6,0 kg/m²) e ausência (Testemunha), em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Após 180 dias, as plantas foram avaliadas quanto à produção de folhas e caules e relação folha/caule. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, ao Teste Tukey a 5% de probabilidade. As maiores produções de folha e caule foram observadas nas plantas adubadas com esterco de aves.

Palavras-chave: Bignoniaceae, adubos orgânicos e produção.

Introdução

A Coleção de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares da Embrapa Amazônia Ocidental possui, dentre várias espécies, o cajuru (*A. chica*), conhecido também como cajuru, pariri, chica, cipó-cruz, cipó-pau, dentre outros nomes, pertencente à família Bignoniaceae. É uma espécie autóctone que cresce nas matas tropicais, sobretudo nas secundárias. Trepadeira perene, de arquitetura escandente, ramos cilíndricos e glabos enquanto jovem; depois, tetrágonos, lenticelados-verrucosos e estriados. As folhas são pecioladas, compostas, trifolioladas, de folíolos oblongo-lanceolados, glabos nas duas faces, coriáceos, reticulados-venosos, discolores ou concolores. Flores campanuladas, róseo-lilacinas, dispostas em panículas terminais piramidais, frouxa, medindo cerca de 20 cm de comprimento. O fruto é uma cápsula linear, alongada, aguda em ambos os lados e com uma nervura média saliente nas valvas, glabra e castanho-ferrugínea, contendo sementes ovoides (SANDWICH e HUNT, 1974; VÁSQUEZ, 1992).

A espécie é popularmente usada para o tratamento de feridas, impigem, enfermidades da pele de diferentes origens, inflamações do útero e dos ovários, conjuntivite, cólicas intestinais, diarreias sanguíneas e enterocolites. As populações tradicionais utilizam como adstringente, antidiarreica, antileucêmica, antianêmica, anti-inflamatória, antidisentérica, emoliente, antidiabética, cicatrizante e desinfetante. Quimicamente já foram identificadas as seguintes substâncias: ácido anísico, carajurina, ferro assimilável e cianocobalamina, quinonas, pseudoindicanas, flavonoides, triterpenos, cumarinas, alcaloides, taninos, saponinas, carajurina, 3-deoxiantocianidina, bixina e genipina (ESTEVEZ, 1976; GOTTLIEB, 1981; ALBUQUERQUE, 1989; BERNAL e CORREA, 1989; SCHULTES e RAFFAUF, 1990 e MICHALAK, 1997; BORRÁS, 2003).

Porém, uma característica que todos parecem possuir, nas condições da Amazônia, é não apresentar flores. A crescente demanda por produtos da biodiversidade amazônica se depara com a baixa qualidade do material obtido do extrativismo, pois não há controle de produção, comprometendo a qualidade do material vegetal. Em razão disso, a Embrapa Amazônia Ocidental vem desenvolvendo pesquisas buscando definir um sistema de produção para a espécie *A. chica*, também usada em cosméticos.

O presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos de diferentes adubos orgânicos na produção de biomassa de cajuru, nas condições de Manaus, AM.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Ocidental, localizado no Km 29 da Rodovia AM-010 (Manaus-Itacoatiara) durante os anos 2010/2011. As mudas de cajuru foram obtidas por estaquia originadas de dez matrizes cultivadas há 10 anos. As estacas foram coletadas na porção mediana do ramo, possuindo, em média, 20 cm de comprimento, 1 cm de diâmetro e cerca de 4 gemas, sendo plantadas em bandejas de poliestireno expandido (72 células) utilizando-se substrato comercial (Bioplant®), as quais permaneceram em condição de viveiro recebendo irrigação diariamente durante 60 dias até serem transplantadas para Latossolo Amarelo, no espaçamento de 1,0 m x 1,0 m. O solo onde o experimento foi instalado apresentava baixa fertilidade, havendo necessidade de aplicar calcário dolomítico, na dose de 2 t/ha. O calcário foi aplicado 90 dias antes do plantio das mudas.

O delineamento utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados, compreendendo cinco tratamentos, os quais foram as fontes de adubo orgânico assim distribuídos: (casca de guaraná – 4,0 kg/m²; composto – 5,0 kg/m²; esterco de aves – 4,0 kg/m²; esterco de gado – 6,0 kg/m²;

e ausência – Testemunha), e cinco repetições, onde cada parcela foi composta por 16 plantas e avaliadas as quatro centrais como úteis. A composição química de cada adubo utilizado encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas das fontes orgânicas utilizadas na área experimental de cultivo de cajuira (*Arrabidaea chica* Verlot). Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, 2011.

Identificação da amostra	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Fe	Mn	Zn	
											g kg ⁻¹
Esterco de gado	26,05	6,57	6,71	8,63	5,04	6,59	17,40	98,35	3.874,63	203,75	245,13
Casca de guaraná	27,49	1,14	4,62	6,02	1,65	2,28	22,03	24,27	3.060,23	63,22	165,36
Composto	31,75	4,91	7,06	13,80	3,24	2,53	18,92	37,43	3.944,76	167,80	154,23
Esterco de aves	30,91	19,10	25,00	26,70	6,24	5,94	44,20	67,26	1.024,54	332,57	532,87

Quinze dias antes do plantio (dezembro de 2011), cada adubo foi aplicado, distribuído homogeneamente em cada parcela e em seguida incorporado, com uso de enxada. Após 210 dias do transplante, as plantas foram avaliadas em função da produção de folhas e caules e relação folha/caule onde, após o corte das plantas de cada parcela, foi feita a separação das folhas e ramos. Após a pesagem destes, duas amostras de 20 g para ambas as estruturas foram levadas à estufa para determinação de umidade pelo método da estufa.

As médias foram submetidas à análise de variância e, na ocorrência de significância, comparadas pelo Teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A produção de folhas foi maior nas plantas que receberam adubação com esterco de aves (Tabela 2). Com exceção da testemunha, a produção de folhas oriunda da aplicação das outras fontes não diferiu entre si, cabendo à testemunha a menor produção dessa parte da planta, devido à ausência de fonte de nutrientes para o desenvolvimento da espécie (Tabela 1).

A produção de folhas das plantas sem adubação representou apenas 30% da maior produção, que foi do tratamento com esterco de aves (Tabela 2). Para caules, verificou-se que a maior produção foi oriunda das plantas que receberam o esterco de aves como fonte orgânica, mas não houve diferença para esterco de gado. Resultados semelhantes foram encontrados por Costa et al. (2008), que, estudando o efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.], observaram que plantas de capim-limão adubadas com esterco avícola destacaram-se das demais por apresentarem-se maiores, mais vigorosas, com melhor desenvolvimento vegetativo e coloração verde mais intensa.

Tabela 2. Produção de folhas, caules e relação folha/caule de crajiuru (*Arrabidaea chica* Verlot) em função de adubação orgânica em Manaus, AM, 2011.

Tratamentos	Produção (g/planta)		Relação folha/caule
	Folhas	Caules	
Esterco de gado	33,06 b ⁽¹⁾	26,0 a	1,28 b
Casca de guaraná	33,80 b	16,9 b	2,04 a
Esterco de aves	42,70 a	28,0 a	1,56 b
Composto	30,90 b	18,5 b	1,68 ab
Testemunha	12,90 c	7,9 c	1,66 ab
CV* (%)	11,87	16,09	13,66
DMS**	7,05	6,06	0,434

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

*CV = Coeficiente de Variação; **DMS = Diferença Mínima Significativa.

Esses resultados podem ser atribuídos ao fato de o esterco de aves ter possibilitado maior disponibilidade e teor de nutrientes à cultura, já que, de acordo com as análises, esse tipo de esterco apresentou a maior quantidade da maioria dos nutrientes (Tabela 1). Segundo Kiehl (1985), o esterco de aves é mais rico em nutrientes que o de outros animais, por várias razões: é mais seco, contendo de 5% a 15% de água contra 65% a 85% dos demais; contém as dejeções líquidas e sólidas misturadas e provém de aves criadas, na maior parte das vezes, com rações concentradas. Ainda na Tabela 1, o adubo contendo composto

orgânico apresentou maiores teores de nitrogênio (N), seguido do esterco de aves, o qual apresentou maiores teores do restante dos macronutrientes avaliados: fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Isso se deve ao fato de o esterco proveniente de criação intensiva e com ração ser rico em nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, mas pobre em celulose. Por isso, sua decomposição é rápida, liberando em poucos dias a maior parte dos nutrientes. Essa liberação rápida tem consequências importantes para o manejo do esterco, pois, ao ser curtido, as perdas de nitrogênio para o ar são muito grandes (SOUZA e RESENDE, 2006).

Em se tratando dos teores de micronutrientes, ou seja, aqueles nutrientes requeridos em menor quantidade pelas plantas, o adubo composto por esterco de aves apresentou maiores teores de boro (B). As demais fontes para esse elemento não ultrapassaram valores acima da metade daquele encontrado para a fonte esterco de aves. Por outro lado, o cobre (Cu) foi maior no esterco de gado, seguido pelos adubos contendo esterco de aves, composto orgânico e casca de guaraná. Para os teores de ferro (Fe), o composto orgânico revelou-se como o adubo com maiores concentrações desse nutriente. Por fim, o resultado da análise dos adubos indicou que, para os teores de manganês (Mn) e zinco (Zn), o esterco de aves apontou maiores teores desses nutrientes, seguido do esterco de gado. Dessa forma, para todas as variáveis avaliadas, a testemunha, ou seja, o tratamento onde não foi aplicado nenhum tipo de adubação orgânica, apresentou as menores médias quando comparado aos demais tratamentos.

Considerando que a relação folha/caule representa a contribuição de cada parte da planta estudada, verifica-se que as plantas que receberam casca de guaraná apresentaram maior valor para essa variável, ou seja, a espécie conseguiu produzir duas vezes mais folhas do que caules (Tabela 2), mas não superou aquelas oriundas do cultivo com esterco de aves.

Conclusões

Entre os adubos testados, o esterco avícola foi o que produziu melhores resultados em relação à produção de biomassa foliar.

Para caules, também se verificou maior produção nas plantas que receberam o esterco de aves como fonte orgânica, mas não houve diferença estatística para esterco de gado.

Agradecimentos

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

À Embrapa Amazônia Ocidental, pelas instalações para a realização do projeto.

Ao Dr. Francisco Célio Maia Chaves, pela compreensão e paciência.

Às bolsistas Franciele Cristina e Adriana Uchôa, pelo apoio e ajuda durante o andamento da pesquisa.

A toda a equipe do setor de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Ocidental.

Referências

ALBUQUERQUE, J. M. de. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília, DF: ABEAS/MEC, 1989. 96 p.

BERNAL, H. Y.; CORREA, J. E. **Espécies vegetais promissoras de los países del convenio Andrés Bello**. Bogotá: Secretaria Ejecutiva del convenio André Bello, 1989. v. 2. p. 169-172.

BORRÁS, M. R. L. **Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas – plantas comercializadas no Mercado Adolpho Lisboa**. Manaus: Valer, 2003. 322 p.

COSTA, L. C. B.; ROSAL, L. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. Efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 16-20, 2008.

ESTEVEZ, A. Resultados de la actividad antitumoral y tóxica del principio activo de la *Petiveria alliacea*. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 10, n. 1, p. 23-26, 1976.

GOTTLIEB, O. New and underutilized plants in Americas: solution to problems of inventory through systematic. **Interciencia**, v. 6, n. 1, p. 22-29, 1981.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Ceres, 1985. 492 p.

MICHALAK, E. **Apontamentos fitoterápicos da Irmã Eva Michalak**. Florianópolis: EPAGRI, 1997. 94 p.

SANDWITH, N. Y.; HUNT, D. R. **Bignoniaceas**. Itajai: Herbario Barbosa Rodrigues, 1974. 172 p. (Flora Ilustrada Catarinense).

SCHULTES, R. E.; RAFFAUF, R. F. **The healing forest**. Medicinal and toxic plants of the northwest amazonia. Portlan: Dioscorides Press, 1990.

SOUZA, J. L.; RESENDE, P. **Manual de horticultura orgânica**. 2. ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2006. 843 p.

VÁSQUEZ, R. Sistemática de las plantas medicinales de uso frecuente en le área de Iquitos. **Folia Amazônica**, v. 4, n. 1, p. 61-75, 1992.

Embrapa

Amazônia Ocidental

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

G O V E R N O F E D E R A L
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA