

Anais



VI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

**Anais da VI Jornada de
Iniciação Científica da Embrapa
Amazônia Ocidental**

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

Anais da VI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Regina Caetano Quisen
Ronaldo Ribeiro de Moraes
Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue
Gilvan Ferreira da Silva
Editores Técnicos*

*Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2010*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319, 69010-970, Manaus, AM

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpa.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Aparecida das Graças Claret de Souza*

José Ricardo Pupo Gonçalves

Lucinda Carneiro Garcia

Luis Antonio Kioshi Inoue

Maria Augusta Abtibol Brito

Maria Perpétua Beleza Pereira

Paulo César Teixeira

Raimundo Nonato Vieira da Cunha

Ricardo Lopes

Ronaldo Ribeiro de Moraes

Revisão de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação e arte: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

1ª edição

1ª gravação em CD-ROM (2010): 200

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.**

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (6. : 2010 : Manaus).

Anais... / editores Regina Caetano Quisen, Ronaldo Ribeiro de Moraes, Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue e Gilvan Ferreira da Silva. – Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010.

1 CD-ROM; 4 ¼ pol.

ISBN 978-85-89111-10-2

1. Pesquisa. 2. Desenvolvimento. I. Quisen, Regina Caetano. II. Moraes, Ronaldo Ribeiro de. III. Inoue, Luis Antonio Kioshi Aoki. IV. Silva, Gilvan Ferreira da. V. Título.

CDD 501

Autores

Adriana Costa Gil de Souza

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

Alcimara Chames Bezerra

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

Álison Thiago Barbosa Pereira

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

Ana Maria Dias da Silva

Engenheira de pesca, M.Sc. em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, pesquisadora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), Manaus, AM.

Aparecida das Graças Claret de Souza

Engenheira agrônoma, D. Sc. em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, aparecida.claret@cpaa.embrapa.br

Arthur Diego Rosário de Souza

Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, arthurdiegos@hotmail.com

Átila de Souza

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

Casley Borges de Queiroz

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

Cheila de Lima Boijink

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

Cristiane Chagas

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

Edivânia Carvalho

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

Elizabeth Gusmão Affonso

Farmacêutica, D.Sc. em Ecologia e Recursos Naturais, pesquisadora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), Manaus, AM.

Firmino José do Nascimento Filho

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Melhoramento Genético Vegetal, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, firmino.filho@cpaa.embrapa.br

Francisco Célio Maia Chaves

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

Geraldo Max Linhares

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

Gilvan Coimbra Martins

Engenheiro agrônomo, M. Sc. em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, gilvan.martins@cpaa.embrapa.br

Gilvan Ferreira da Silva

Biólogo, D.Sc. em Microbiologia Agrícola, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, gilvan.silva@cpaa.embrapa.br

Gilvana Figueira Gualberto

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@cpaa.embrapa.br

Januário Macedo Viana Júnior

Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Amazonas (FCA/Ufam), Manaus, AM.

José Clério Rezende Pereira

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

José Nestor de Paula Lourenço

Engenheiro agrônomo, M.Sc. em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, nestor.lourenco@cpaa.embrapa.br

José Ricardo Pupo Gonçalves

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Agricultura, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, ricardo.pupo@cpaa.embrapa.br

Lian da Silva Campos

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

Liliane dos Santos Oliveira

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

Luadir Gasparotto

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, gasparotto@cpaa.embrapa.br

Lucifrancy Vilagelim Costa

Graduanda do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Amazonas (FCA/ Ufam), Manaus, AM.

Lucinda Carneiro Garcia

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

Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue

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

Marcelle Larissa Correa

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

Maria Geralda de Souza

Engenheira florestal, D. Sc. em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, maria.geralda@cpaa.embrapa.br

Mariana Amaral Câmara Lima

Bióloga, mestranda do curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), Manaus, AM.

Mariângela Serrão Amâncio

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

Marli Costa Poltronieri

Engenheira agrônoma, M.Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, marli@cpatu.embrapa.br

Nelcimar Reis Sousa

Engenheira agrônoma, D. Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, nelcimar.sousa@cpaa.embrapa.br

Oriel Filgueira Lemos

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, oriel@cpatu.embrapa.br

Patrícia de Almeida Santos

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

Patrícia Teixeira Ribeiro

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

Rafaely das Chagas Lameira

Graduanda em Agronomia, Universidade Federal do Amazonas, bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Railma Pereira de Moraes

Bolsista de Iniciação Científica, Paic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, mestranda em Ciências Ambientais e Sustentabilidade da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas (Ufam), Manaus, AM.

Raimundo Nonato Vieira da Cunha

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, raimundo.cunha@cpaa.embrapa.br

Raulison de Almeida Xavier

Bolsista Pibic/CNPq/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Regina Caetano Quisen

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

Ricardo Lopes

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, ricardo.lopes@cpaa.embrapa.br

Roberval Monteiro B. de Lima

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

Rodrigo Fernandes de Souza

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

Roger Crescêncio

Engenheiro de pesca, M.Sc. em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, roger.crescencio@cpaa.embrapa.br

Rogério Eiji Hanada

Engenheiro agrônomo, D.Sc. em Biotecnologia, pesquisador do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), Centro de Pesquisas de Produtos Florestais, Divisão de Tecnologia Aplicada, Manaus, AM.

Rogério Perin

Zootecnista, D.Sc. em Sistema de Produção Animal, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, rogerio.perin@cpaa.embrapa.br

Shirley de Sousa Ribeiro

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

Silas Garcia Aquino de Sousa

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

Silfran Rogério Marialva Alves

Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Amazonas (FCA/Ufam), Manaus, AM.

Sonia Maria Botelho Araújo

Engenheira agrônoma, M.Sc. em Solos e Nutrição de Plantas, pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, sonia@cpatu.embrapa.br

Suelen Cristina de Sousa Lima

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

William Sandro da Cunha Miranda

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

Apresentação

Com o objetivo de despertar e incentivar a vocação científica em acadêmicos vinculados a cursos de graduação, o Programa de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental, em parceria com o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam), vem, ao longo dos anos, proporcionando aos estudantes bolsistas a aprendizagem de técnicas e métodos científicos, necessários ao desenvolvimento de um projeto de pesquisa, sob a orientação de um pesquisador da Unidade.

Como forma de valorizar e divulgar essa atividade estudantil, o Comitê de Bolsistas e Estagiários (Cibe) realiza anualmente o Seminário de Iniciação Científica, que proporciona aos bolsistas Pibic/CNPq e Paic/Fapeam a oportunidade de apresentar e discutir os resultados obtidos em seus trabalhos, ampliar o conhecimento sobre as diversas áreas de atuação da Unidade e o intercâmbio com outros estudantes e pesquisadores.

Como registro da sexta edição desse evento, resultado de muito empenho, dedicação, seriedade e compromisso dos estudantes e pesquisadores orientadores, este documento reúne os resultados de 20 trabalhos desenvolvidos pelos bolsistas.

Por fim, a qualidade dos trabalhos nesta publicação representa, além dos conhecimentos gerados, a colaboração da Embrapa Amazônia Ocidental na formação de recursos humanos no Amazonas, contribuindo efetivamente para iniciação científica, formação acadêmica e profissional dos estudantes.

Regina Caetano Quisen
Coordenadora do Programa de Iniciação Científica

Sumário

Seção I – Fitotecnia

Avaliação de Cultivares de Pimenta-do-Reino no Estado do Amazonas.....17

Rafaely das Chagas Lameira; Francisco Célio Maia Chaves; Suelen Cristina de Sousa Lima; José Clério Rezende Pereira; Luadir Gasparotto; Marli Costa Poltronieri; Oriel Filgueira Lemos; Sonia Maria Botelho Araújo

Seção II – Floresta

Avaliação Silvicultural de Mogno (*Swietenia macrophylla* King) em Plantio Misto.....23

Lian da Silva Campos; Silas Garcia Aquino de Sousa; Lucinda Carneiro Garcia; José Nestor de Paula Lourenço

Determinação da Densidade Básica da Madeira de *Eucalyptus var. macrophylla x grandis* (eucalipto) no Sentido Longitudinal da Árvore.....30

Arthur Diego Rosário de Souza; Roberval Monteiro B. de Lima; Silas Garcia Aquino de Sousa

Efeito de Diferentes Embalagens e Substratos na Formação de Mudanças de Andiroba (*Carapa guianensis* - Meliaceae).....36

Raulison de Almeida Xavier; Lucinda Carneiro Garcia; Railma Pereira de Moraes; Silas Garcia Aquino de Sousa

Seção III – Genética e Melhoramento

Análise do Fator de Transcrição PacC e Condições de pH Ambiente em *Mycosphaerella fijiensis*.....41

Casley Borges de Queiroz; Gilvan Ferreira da Silva; Nelcimar Reis Sousa; Luadir Gasparotto; Rogério E. Hanada

Avaliação de Genótipos de Feijão-Caupi em Ecossistemas de Várzea e Terra Firme no Estado do Amazonas.....51

Patrícia de Almeida Santos; José Ricardo Pupo Gonçalves

Avaliação e Multiplicação de Genótipos de Pimenta-de-Cheiro.....63

Liliane dos Santos Oliveira; Silfran Rogério Marialva Alves; Ricardo Lopes; Lucifrancy Vilagelim Costa; Januário Macedo Viana Júnior; Raimundo Nonato Vieira da Cunha

Isolamento e Conservação de *Moniliophthora perniciosa* Oriunda de Tecidos Infectados de Cupuaçuzeiro.....71

Gilvana Figueira Gualberto; Maria Geralda de Souza; Átila de Souza

Diversidade Genética de *Mycosphaerella fijiensis* no Estado do Amazonas.....78

Álisson Thiago Barbosa Pereira; Rodrigo Fernandes de Souza; Nelcimar Reis Sousa; Luadir Gasparotto; Rogerio E. Hanada; Gilvan Ferreira da Silva

Embriogênese Somática de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*): Indução à Calogênese.....88

Marcelle Larissa Correa; Nelcimar Reis Sousa; Aparecida das Graças Claret de Souza; Regina Caetano Quisen

Levantamento de Germoplasma de Guaranazeiro com Potencial para Uso Ornamental.....98

Mariângela Serrão Amâncio; Firmino José do Nascimento Filho; Regina Caetano Quisen

Seção IV – Pastagem

Produção e Composição Botânica de Uma Pastagem Natural de Várzea Alta Submetida a Diferimento..... 1 05

Geraldo Max Linhares; Rogério Perin; Gilvan Coimbra Martins

Seção V – Piscicultura

Determinação da Biomassa Econômica para Tambaqui (*Colossoma macropomum*) em Gaiola..... 1 11

Alcimara Chames Bezerra; Cheila de Lima Boijink; Luis Antônio Kioshi Aoki Inoue; William Sandro Cunha Miranda; Edivânia Carvalho; Patrícia Teixeira; Irani da Silva de Moraes

Potencial do Óleo Essencial de Alfavaca-Cravo (*Ocimum gratissimum*) no Controle de Monogenoídeos em Tambaqui (*Colossoma macropomum*)..... 118

William Sandro da Cunha Miranda; Cheila de Lima Boijink; Edivânia Carvalho; Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue; Francisco Célio Maia Chaves

Respostas Metabólicas do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) a Banhos Anestésicos com Benzocaína..... 126

Shirley de Sousa Ribeiro; Cheila de Lima Boijink; Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue

Respostas Sanguíneas e Plasmáticas do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) a Banhos Anestésicos de Eugenol..... 131

Patrícia Teixeira Ribeiro; Mariana Amaral Câmara Dias; Ana Maria Dias da Silva; Elisabeth Gusmão Affonso; Cheila de Lima Boijink; Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue

Uso do Neguvon no Controle de Monogenoides durante o Transporte de Juvenis de Tambaqui (*Colossoma macropomum*)..... 136

Edivânia Carvalho; Roger Crescêncio; William Sandro; Alcimara Bezerra; Cristiane Chagas

Seção VI – Solos

Monitoramento dos Atributos Químicos e Físicos em Áreas de Diferentes Idades de Reflorestamento na Província Petrolífera de Urucu, Coari, AM..... 143

Adriana Costa Gil de Souza; Gilvan Coimbra Martins

Seção I – Fitotecnia

Avaliação de Cultivares de Pimenta-do-Reino no Estado do Amazonas

Rafaely das Chagas Lameira
Francisco Célio Maia Chaves
Suelen Cristina de Sousa Lima
José Clério Rezende Pereira
Luadir Gasparotto
Marli Costa Poltronieri
Oriel Filgueira Lemos
Sonia Maria Botelho Araújo

Resumo

A pimenteira-do-reino se desenvolve muito bem em clima quente e úmido e em solos com boa drenagem. O Brasil tornou-se um dos maiores produtores e exportadores mundiais de pimenta-do-reino, mas o cultivo tem sido limitado pela fusariose. Os programas de melhoramento consistem na produção de variabilidade genética na população. O objetivo deste trabalho foi indicar materiais mais adaptados e produtivos para cultivo no Estado do Amazonas. Estão sendo avaliadas as cultivares Bragantina, Apra, Kottanadan, Kuthiravally, laçaró, Cingapura e Guajarina. O experimento está sendo conduzido na Embrapa Amazônia Ocidental com mudas oriundas da Embrapa Amazônia Oriental. O delineamento utilizado foi blocos casualizados, com três repetições no espaçamento de 2 m x 2 m. Desde o plantio, estão sendo realizadas as práticas de condução da espécie e de adubação e limpeza. Foram avaliados: o comprimento das espigas, o peso seco de 100 sementes e a produção. O maior comprimento de espiga foi registrado na cultivar Bragantina. Apesar de a cultivar laçaró ter expressado o maior peso seco de 100 sementes, nesta ocorreu maior número de plantas mortas, desde a fase de mudas. As maiores produções ocorreram nas cultivares Guajarina, Kottanadan e Apra. O tempo de avaliação é considerado insuficiente, pois as plantas não atingiram a estabilização na produção.

Termos para indexação: *Piper nigrum*, fusariose, produção.

Introdução

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta originária da Índia, pertencente à família Piperaceae, que apresenta várias espécies. Entre essas espécies, a *P. nigrum* é a mais importante, apresentando tanto variedades selvagens quanto cultivadas (DASGUPTA e DATTA, 1976). É uma planta autógama, cuja floração, nas condições climáticas da Amazônia, ocorre no período de novembro a abril, durante a estação chuvosa. A inflorescência é uma espiga pendulosa com 5 cm a 20 cm de comprimento e 70 a 100 floretas hermafroditas. A polinização natural é por geitonogamia, ou seja, a dispersão do pólen é realizada por gotículas d'água, e a formação do fruto ocorre seis meses após a polinização (POLTRONIERI et al., 1999).

No Brasil, a pimenteira-do-reino foi introduzida no Estado da Bahia no século XVII e distribuída para os estados da Paraíba, do Maranhão e do Pará, cuja produção era insignificante, restrita a fundos de quintal (ALBUQUERQUE e CONDURÚ, 1971). Em 1933, foram introduzidas no Brasil algumas estacas da cultivar Kuching, que passou a ser denominada Cingapura. A produção comercial iniciou-se no Estado do Pará, principalmente da pimenta preta e pimenta branca. Devido ao alto retorno econômico, a cultura foi rapidamente difundida por propagação vegetativa (ANDO et al., 1997).

É uma cultura que se desenvolve muito bem em clima quente e úmido, com precipitação pluviométrica média de 2.500 mm.ano⁻¹, umidade relativa do ar superior a 80% e temperatura média entre 23 °C e 28 °C, e em solos com boa drenagem (ALBUQUERQUE et al., 1989).

É uma cultura com exigência nutricional elevada (KATO, 1978; VELOSO et al. 1998).

Por adotar um sistema de produção adequado, o Brasil tornou-se um dos maiores produtores e exportadores mundiais de pimenta-do-reino. O Estado do Pará produz cerca de 90% da produção nacional (IBGE, 2000).

A propagação é realizada por sementes ou por estacas vegetativas. A propagação por sementes é adotada basicamente em programas de melhoramento, enquanto que por estacas é a forma tradicional de produção de mudas para cultivos comerciais. A viabilidade das sementes é perdida cerca de 40 a 50 dias de armazenamento e a germinação ocorre a partir dos 15 até 90 dias após semeadura, dependendo da cultivar e das condições ambientais (NAMBIAR et al., 1978). As estacas para produção das mudas são retiradas da região situada no terço médio da planta. Cada estaca deve conter um ou dois nós, sendo mais recomendadas as com dois nós. Os produtores brasileiros, tradicionalmente, utilizam para plantios comerciais mudas oriundas de estacas de plantas com 2 a 4 anos de idade (ALBUQUERQUE et al., 1989).

Em decorrência da estreita base genética e, provavelmente, associado a temperaturas e umidades favoráveis, o desenvolvimento da pimenteira-do-reino tem sido limitado pela alta incidência da fusariose, doença causada pelo fungo *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* (fase anamórfica: *Fusarium solani* f. sp. *piperis*). Esta provoca podridão das raízes e secamento dos ramos, cujo patógeno se disseminou rapidamente na região, destruindo, em curto espaço de tempo, grandes áreas cultivadas com a cultura (ALBUQUERQUE e DUARTE, 1977).

Segundo Albuquerque e Ferraz (1976), devido à ocorrência de doenças severas e ao aumento dos preços de insumos e mão de obra, o custo de produção no Brasil tornou-se elevado. Para compensar economicamente o produto final para exportação, são necessárias novas tecnologias que proporcionem aumento de produtividade e lucratividade. Albuquerque e Duarte (1991) concluíram que, para o Brasil continuar competitivo no mercado internacional, é indispensável a obtenção de cultivares mais produtivas e resistentes à fusariose. Os programas de melhoramento, tanto o convencional como o não convencional, consistem na produção de variabilidade genética na população, seguida pela seleção dos genótipos desejáveis (WENZEL, 1985). Nesse contexto, a Embrapa Amazônia Oriental mantém um projeto de pesquisa que objetiva introduzir e caracterizar genética e agronomicamente cultivares de pimenteira-do-reino nas principais regiões produtoras, sendo o Estado do Amazonas uma dessas regiões.

Atualmente, as sete cultivares recomendadas para plantio no Estado do Pará devem ser testadas nos demais estados produtores, para avaliar sua capacidade adaptativa e produtiva. Poltronieri et al. (2004) recomendam pelo menos três anos de avaliação do potencial produtivo de cultivares de pimenteira-do-reino, quando as plantas atingem a estabilidade na produção, visto que *P. nigrum* é uma espécie perene. O objetivo deste trabalho foi indicar materiais mais adaptados e produtivos para cultivo no Estado do Amazonas.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental situado no Km 29 da Rodovia AM-010, estrada que liga Manaus a Itacoatiara. Em fevereiro de 2007, mudas enraizadas das cultivares Bragantina, Apra, Kottanadan, Kuthiravally, laçarás, Cingapura e Guajarina foram fornecidas pela Embrapa Amazônia Oriental. No viveiro do Setor de Plantas Medicinais e Hortaliças, as mudas foram cultivadas em sacos de plástico com capacidade de 4 kg, contendo substrato formado por terriço, areia e esterco bovino, na proporção 2:1:1. Após dois meses em condição de viveiro com sombreamento de 50%, foram submetidas ao processo de cura (ou aclimação), permanecendo durante 15 dias expostas à luz direta pela manhã.

O experimento foi instalado em delineamento de blocos ao acaso, com três repetições e sete tratamentos correspondentes às cultivares Bragantina, Apra, Kottanadan, Kuthiravally, laçarás, Cingapura e Guajarina. As mudas foram plantadas no espaçamento de 2,0 m x 2,0 m, em covas que receberam calcário dolomítico na dose de 1,6 t/ha, 40 dias antes do plantio. O adubo orgânico foi incorporado junto com o calcário, utilizando-se como fonte composto orgânico na dose de 1,5 kg.cova⁻¹. No plantio foram aplicados 50 g de superfosfato triplo. cova⁻¹. Aos 45 dias após o plantio, foram aplicados a lanço 30 g de ureia e 25 g de cloreto de potássio.planta⁻¹, repetindo-se essa adubação 90 dias depois. Em outubro de 2008, foi realizada adubação de acordo com resultado de análise foliar. As capinas estão sendo realizadas quando necessárias. Foram feitas duas adubações de

acordo com recomendações do líder do projeto, o pesquisador Oriel Lemos (Embrapa Amazônia Oriental), nas quais utilizaram-se NPK e FTE (fonte de micronutrientes).

Para formar a arquitetura das plantas, o crescimento destas foi conduzido em tutores mortos de 2 m de altura, com o objetivo de facilitar as práticas culturais e a colheita. Durante a fase de crescimento para a cobertura dos tutores, foram removidas todas as inflorescências, para induzir a formação da copa. Após a cobertura dos tutores, as inflorescências foram deixadas para frutificação, e a primeira colheita foi realizada em agosto de 2008; as demais foram realizadas a intervalos de 15 dias, até julho de 2009.

Na época da colheita, foi quantificado o comprimento de 10 espigas de cada cultivar, feito em quatro repetições, com o auxílio de uma régua graduada em centímetros. Determinou-se o peso seco de 100 sementes de cada cultivar em quatro repetições. Utilizou-se o método da estufa. A produção foi calculada após as sementes permanecerem em secador solar por quatro dias. A incidência de doenças foi avaliada por inspeção na área de produção.

Resultados e Discussão

Houve diferença significativa entre as cultivares estudadas em relação ao comprimento de espiga, peso seco de 100 sementes e produção (Tabela 1). A cultivar Bragantina apresentou o maior comprimento de espiga (17,57 cm). As cultivares Cingapura, laçará e Kuthiravally apresentaram comprimento de espiga menor que 10 cm. A cultivar laçará apresentou maior peso seco de 100 sementes (11,22 g). Apenas a

cultivar Kotanadan apresentou peso seco de 100 sementes inferior a 10 g, estando as demais acima de 10 g. Apesar de a cultivar laçará ter apresentado a maior média para peso seco de sementes, a produção por planta dessa cultivar não foi determinada, pois houve grande número de plantas mortas, desde a formação das mudas no viveiro, com perda superior a 50% e com a sobrevivência de uma única muda após o plantio.

Na avaliação em campo, constatou-se ocorrência de fusariose causada por *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e por *F. oxysporum*. Detectou-se a presença de queima-do-fio, causada por *Koleroga noxia*, cujo controle foi feito com a aplicação do fungicida agrinose.

Não houve correlação entre as variáveis avaliadas, uma vez que as maiores produções registradas foram nas cultivares Guajarina, Kotanadan e Apra, e estas não apresentaram as maiores médias para comprimento de espiga e peso de 100 sementes (Tabela 1).

O período de apenas um ano (agosto de 2008 a julho de 2009) para avaliação das cultivares é considerado pouco para tirar conclusões definitivas sobre o comportamento das cultivares.

Tabela 1. Comprimento de espiga, peso seco de 100 sementes, produção e número de plantas mortas em cultivares de pimenta-do-reino nas condições de Manaus, AM, 2009.

Cultivar	Comprimento de espiga (cm)	Peso seco de 100 sementes (g)	Produção (g/pl)	Plantas mortas*
Apra	11,70 b	10,70 bc	1.052,54 a	0
Bragantina	17,57 a	10,47 cd	765,92 ab	1
Cingapura	8,37 d	10,35 cd	54,54 b	10
Guajarina	12,40 b	10,27 d	1.407,60 a	7
laçará	8,27 d	11,22 a	-	11
Kotanadan	10,97 bc	8,87 e	1.300,36 a	0
Kuthiravally	9,22 cd	10,97 ab	931,25 a	4
Média	11,22	10,41	918,70	-
CV (%)	6,82	1,76	31,71	-
DMS	1,76	0,42	826,01	-

*Refere-se ao somatório da área útil das três parcelas.

Conclusões

A cultivar Guajarina apresentou o melhor desempenho em relação à produção, seguida das cultivares Kotanadan, Apra e Kuthiravally.

Na cultivar laçará não houve produção e ocorreu o maior número de plantas mortas.

Há necessidade de maior tempo de avaliação quanto à estabilidade na produção.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à Embrapa Amazônia Ocidental, ao convênio Finep/Fapeam/FDB N°. 01.06.0380.00 – CTIAFAM; ao Dr. Ricardo Lopes, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, pelas análises estatísticas.

Referências

- ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R. **Comportamento de cultivares de pimenta-do-reino em áreas de ocorrência de fusariose no Estado Pará.** Belém, PA: EMBRAPA-CPATU, 1991. 40 p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 59).
- ALBUQUERQUE, F. C. de; DUARTE, M. de L. R. Pimenta-do-reino e suas doenças na Região Amazônica. **Correio Agrícola**, v. 213, p. 114-119, 1977.
- ALBUQUERQUE, F. C. de; CONDURÚ, J. M. P. **Cultura da pimenta do reino na Região Amazônica.** Belém, PA: IPEAN, 1971. 149 p. (Série Fitotecnia, v. 2, n. 2).
- ALBUQUERQUE, F. C. de; FERRAZ, S. Características morfológicas e fisiológicas de *Nectria haematococeae* f. sp. *piperis* e sua patogenicidade a pimenta-do-reino. **Experimentiae**, v. 22, p. 133-151, 1976.

ALBUQUERQUE, F. C. et al. **Pimenta-do-reino: recomendações básicas para seu cultivo.** Belém, PA: EMBRAPA-UEPAE de Belém, 1989. 40 p. (EMBRAPA-UEPAE de Belém. Documentos, 12).

ANDO, A. et al. Obtenção de mutantes resistentes à fusariose (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*) em pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) através de irradiação gama. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DO-REINO E CUPUAÇU, 1., Belém, PA, 1996. **Anais...** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental : JICA, 1997. p. 237-243. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).

DASGUPA, A.; DATTA, P. C. Cytotaxonomy of piperaceae. **Cytologia**, v. 41, p. 697-706, 1976.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Agricultura – produção, área, rendimento, importações e exportações – Brasil – 1991 a 2000: lavouras permanentes/pimenta-do-reino.** Disponível em: <<http://www.lbge.gov.br>>. Acesso em: 21 out. 2002.

KATO, A. K. **Teor e distribuição de N, P, K, Ca e Mg em pimenteiras-do-reino (*Piper nigrum* L.).** 1978. 75 f. Dissertação (Mestrado) – ESALQ, Piracicaba.

NAMBIAR, P. K. V. et al. Pepper research at panniyur: a resume. **Journal of Plantation Crops**, v. 6, n. 1, p. 4-11, 1978.

POLTRONIERI, M. C.; LEMOS, O. F. de; ALBUQUERQUE, F. C. Pimenta-do-reino. In: EMBRAPA. **Programa de melhoramento genético e adaptação de espécies vegetais para a Amazônia oriental.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. p. 127-137. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 16).

POLTRONIERI, M. C.; ALBUQUERQUE, F. C. de; DUARTE, M. L. R. Cultivares. In: SISTEMAS de produção: cultivo da pimenteira-do-reino na região Norte. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. p. 39-46.

VELOSO, C. A. C. et al. Diagnose de deficiências de macronutrientes em pimenta-do-reino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 33, n. 11, p. 1889-1896, 1998.

WENZEL, G. Strategies in unconventional breeding for disease resistance. **Annual Review Phytopathology**, v. 23, p. 149-172, 1985.

Seção II – Floresta

Avaliação Silvicultural de Mogno (*Swietenia macrophylla* King) em Plantio Misto*

Lian da Silva Campos
Silas Garcia Aquino de Sousa
Lucinda Carneiro Garcia
José Nestor de Paula Lourenço

Resumo

Um dos principais problemas nos plantios de mogno, *Swietenia macrophylla* King, é o ataque da mariposa *Hypsipyla grandella*, que abre galerias no caule da planta, provocando morte do ponteiro e estimulando o superbrotamento de galhos e a depreciação da madeira. Buscando alternativas para plantio comercial de mogno, sistemas de plantio têm sido testados objetivando retardar o ataque da praga e permitir maior volume de madeira sem ataque da broca, destacando o plantio agroflorestal em que o mogno apresenta alta taxa de sobrevivência e crescimento, sem sofrer ataques da mariposa nos primeiros anos de plantio. O objetivo do experimento foi avaliar o desenvolvimento do mogno em sistema de policultivo através de arranjo agroflorestal com mogno protegido pelo ingá. O ensaio foi conduzido no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, Km 29 da Rodovia AM-010, e em área de produtor rural no assentamento Tarumã-Mirim, avaliando-se aspectos silviculturais (índice de sobrevivência, incidência de praga, crescimento em altura e diâmetro). O mogno solteiro apresentou maior crescimento em diâmetro; e o mogno com ingá, maior crescimento em altura. A melhor forma de cultivo nos primeiros anos é através de consórcio com ingá, protegendo e retardando o ataque da mariposa.

*Projeto financiado parcialmente pelo projeto Silvitec e CNPq/PPG7-Fase II.

Introdução

O mogno (*Swietenia macrophylla* King), da família Meliaceae, ocorre em toda a América do Sul e Central sob várias circunstâncias climatológicas, hidrológicas e edáficas. No Brasil, a zona de ocorrência natural é a Amazônia Legal, e as áreas com maior densidade de mogno encontram-se na zona de transição floresta-cerrado no sudeste do Pará, e na porção central e norte de Rondônia, sobre os ricos solos de Terra Roxa. As árvores atingem em média uma altura de 30 a 40 metros e podem atingir 3,5 metros de diâmetro. É uma espécie que ocorre em baixa densidade, normalmente um indivíduo adulto/ha (GROGAN et al., 2002).

A madeira do mogno é uma das mais valiosas no mercado internacional de madeira tropical, alcançando o valor de US\$ 1.600,00/m³ (CIKEL, 2004). O preço e a qualidade da madeira exercem forte pressão sobre a exploração do mogno na Amazônia. Nesse contexto, a Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Silvestres da Fauna e Flora (Cites) considera o mogno como uma espécie ameaçada de extinção, pois a ação dos madeireiros e o avanço do desmatamento da Floresta Amazônica causam a eliminação das plantas matrizes, reduzindo a produção de sementes e conseqüentemente afetando o processo de regeneração natural da espécie.

Nas áreas plantadas com mogno, principalmente em monocultivo, um dos principais problemas se deve aos ataques sucessivos da mariposa *H. grandella* Zell. A mariposa deposita seus ovos no meristema apical e suas larvas abrem galerias no caule da planta, provocando a morte do ponteiro e estimulando o superbrotamento de galhos. Tais regenerações

causam bifurcação abaixo de dois metros de altura do tronco, depreciando o valor comercial da madeira no mercado internacional. Esse fato pode ser considerado como um dos principais motivos que desestimulam o plantio comercial de mogno na Amazônia.

Cientes da necessidade de buscar novas formas de plantio de espécies florestais madeireiras de alto valor comercial, diversas iniciativas da pesquisa vêm trabalhando no desenvolvimento de tecnologias silviculturais para as espécies nativas da Amazônia. Entre essas tecnologias alternativas, destacam-se os sistemas agroflorestais, considerados um sistema para o manejo da paisagem (SOUSA et al., 2000).

Estudos de sistemas agroflorestais mostraram que é possível estabelecer modelos alternativos e promissores para o desenvolvimento sustentável nos trópicos úmidos. Esses sistemas contribuem para a manutenção da biodiversidade, enriquecem os solos e reduzem a erosão. Os objetivos dessa linha de pesquisa estão direcionados para a promoção de mudanças sociais e econômicas e para o fornecimento de vários produtos e serviços ambientais.

Entretanto, entre as limitações nos programas de pesquisa agroflorestal na Amazônia estão os estudos sobre a interação das espécies florestais, como o mogno. Nesse projeto, pretende-se realizar avaliações do desempenho do mogno, implantado em dois sistemas agroflorestais estabelecidos em três ambientes de condições de área degradada. O objetivo do experimento foi avaliar o desenvolvimento do mogno em sistema de policultivo através de arranjo

agroflorestal com mogno protegido pelo ingá, monitorar o ataque da broca-do-caule, avaliando o crescimento (em altura e diâmetro) do caule e a taxa de sobrevivência.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido em duas áreas: 1) Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, do Km 29 da Rodovia AM-010, entre as coordenadas geográficas (2° 53' 33" S e 59° 58' 19" W); e 2) Área de produtor rural, no Projeto de Assentamento Tarumã-Mirim (PATM), zona rural do Município de Manaus, situado no Km 12 do ramal da Cooperativa, nas coordenadas geográficas 2° 50' 19" S e 60° 09' 38.9" W, com acesso pelo Km 21 da Rodovia BR-174 (estrada Manaus-Boa Vista).

Sistemas de Plantio

Na Embrapa Amazônia Ocidental, o mogno foi plantado na área denominada PTU. Área preparada pelo processo do Projeto Tipitamba (corte e trituração da capoeira). Nessa área, o mogno foi plantado em consórcio com ingá (*Inga* spp.) – tratamento T2, e em plantio solteiro – tratamento T1 (testemunha). No PATM, o mogno foi plantado numa área preparada pelo processo do Projeto Tipitamba (corte e trituração da capoeira). Nessa área, o mogno foi plantado na capoeira com ingá (*Inga* spp.) – tratamento T3, e dentro da vegetação secundária sem ingá. Essa capoeira foi caracterizada como capoeirinha, por causa da fitofisiologia da vegetação, dominada pelo gênero *Vismia*, com altura máxima de 2 m – tratamento T4.

O mogno e o ingá foram plantados simultaneamente. O plantio dentro da capoeira foi realizado com a abertura de

uma trilha de um metro de largura, e toda a vegetação cortada foi reservada para a cobertura do solo. Em ambas as áreas, o plantio foi realizado no sentido norte-sul, e não foi utilizada nenhuma complementação de adubação de cova e cobertura.

Coleta de Dados

Foi realizada mensuração trimestral para avaliar o incremento periódico em altura e diâmetro basal, incidência de praga e sobrevivência das plantas.

A altura foi mensurada com auxílio de uma trena metálica em centímetro e depois convertida em metro. O diâmetro foi mensurado com auxílio de um paquímetro digital em milímetro e convertido em centímetro.

O incremento periódico em diâmetro basal e altura foram calculados com base nos dados coletados no trimestre anterior, determinados pela seguinte equação: $ICP = X_f - X_i$; onde: X_f = diâmetro ou altura, última medição do período (trimestre); X_i = diâmetro ou altura, medição do período (trimestre) anterior.

Durante a coleta das variáveis altura e diâmetro, foi realizada observação de ocorrência de ataque de *H. grandella*, bem como verificação de ocorrência de mortalidade de planta.

Análise Estatística

Realizou-se análise de variância (Anova) com base no delineamento estatístico de blocos casualizados, com quatro repetições e quatro tratamentos: T1 – Mogno solteiro na Embrapa Amazônia Ocidental; T2 – Mogno com ingá na Embrapa Amazônia Ocidental; T3 – Mogno com ingá no PATM; e T4 – Mogno na capoeira no PATM.

Resultados e Discussão

Verificaram-se, por meio de análise de variância (Anova), diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis: altura total (H), diâmetro do caule (DC), incremento médio periódico em nove meses, em altura total (IC-H) e incremento médio periódico em diâmetro do caule (IC-DC) na avaliação silvicultural do mogno (*Swietenia macrophylla*) em plantio misto.

Por meio do teste de média de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, observou-se que a variável altura total dos tratamentos T2 e T1 foram superiores aos tratamentos T3 e T4. O tratamento T2 apresentou média em altura de 3,03 m, que foi estatisticamente semelhante à média do tratamento T1 (2,47 m). Enquanto que o tratamento T3 apresentou média de 1,70 m em altura, que foi estatisticamente semelhante ao tratamento T4, com 1,62 m (Tabela 1). Embora o T2 não tenha apresentado diferença significativa com o T1,

observa-se tendência de o T2 apresentar maiores médias em altura que o T1, isso pode estar ocorrendo devido ao crescimento das plantas de ingá ao lado do mogno, fazendo com que as plantas de mogno cresçam em busca de luz.

Para a variável diâmetro do caule, observou-se que o tratamento T2 e T1 foram estatisticamente semelhantes, apresentando 4,30 cm e 4,90 cm de diâmetro, respectivamente. Essas médias (do T1 e T2) foram superiores às médias dos tratamentos T3 e T4, cujos valores em diâmetro do caule foram 3,04 cm e 2,59 cm, respectivamente. As médias em diâmetro desses tratamentos (T3 e T4) não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 1).

Resultados semelhantes de crescimento em altura do mogno associado ao ingá foram observados por Sousa et al. (1996), demonstrando que o mogno com ingá pode ser uma alternativa de plantio dessa espécie, retardando o ataque de *H. grandella*.

Tabela 1. Médias de crescimento em altura total (H), diâmetro do caule (DC), incremento médio periódico em altura (IC-H) e incremento médio periódico em diâmetro do caule (IC-DC) de mogno em quatro tratamentos, Manaus, AM, 2009.

Tratamentos	Nº de plantas	H (m)	DC (cm)	IC-H (m)	IC-DC (cm)
T1 – Mogno solteiro, testemunha	18	2,47 a	4,90 a	0,42 b	0,82 a
T2 – Mogno x Ingá no PTU	19	3,03 a	4,30 a	0,64 a	0,52 b
T3 – Mogno x Ingá no PATM	16	1,70 b	3,03 b	0,28 c	0,51 b
T4 – Mogno na Capoeira	18	1,62 b	2,59 b	0,18 c	0,33 c

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Verificou-se que o incremento médio periódico de nove meses de crescimento em altura, no tratamento T2 (0,64 m), foi superior aos demais tratamentos (T1, T3 e T4). Enquanto que os tratamentos T3 (0,28 m) e T4 (0,187 m) apresentaram os menores incre-

mentos e foram estatisticamente semelhantes entre si. Os dados de incremento periódico confirmaram a hipótese deste trabalho, demonstrando o bom desempenho do crescimento em altura do mogno em associação com ingá.

Para a variável incremento médio periódico de nove meses de crescimento em diâmetro, o tratamento T1 (0,82 cm) foi superior aos demais tratamentos (T2, T3, T4). Entretanto, as médias de incremento dos tratamentos T2 (0,52 cm) e T3 (0,51 cm) não diferem estatisticamente entre si. No entanto, o incremento do tratamento T4 foi inferior aos demais tratamentos, apresentando a menor média de incremento periódico em nove meses de crescimento em diâmetro (0,33 cm). Esses resultados demonstraram que é preciso ajustar o manejo e o controle da vegetação secundária (capoeira) para que esse sistema de plantio possa favorecer o bom desenvolvimento do mogno na capoeira.

Durante o período de estudo do presente trabalho, observou-se o ataque de broca-do-caule (*H. grandella*) em uma planta do tratamento T1 (mogno solteiro). Esse fato demonstra a presença do inseto-praga na área de plantio, entretanto fatores bióticos e abióticos que ainda não foram possíveis de mensuração estão atuando positiva-

mente no controle da broca-do-caule.

Verificou-se alta taxa de sobrevivência no tratamento T2 (95%), seguido de T1 e T4 com 90%. O tratamento T3 foi o que apresentou a menor taxa de sobrevivência (80%), pois morreram quatro plantas. As mortalidades registradas em campo foram em grande parte atribuídas ao manejo de limpeza (roçagem) da área que provocou o corte de algumas plantas de mogno.

O crescimento do mogno em altura, no presente estudo, quando comparado com outros estudos realizados na Amazônia, está dentro da faixa de crescimento observada por diferentes autores, em diferentes condições de manejo e sistema de produção (Tabela 2). O crescimento do mogno com ingá no PTU (T2) apresentou padrão semelhante de crescimento ao de mogno com seringueira observado pelo projeto Shift, na área experimental da Embrapa Amazônia Ocidental (LIMA, 1999), e foi maior que os demais sistemas de plantio relacionados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados de crescimento em altura (m) diâmetro do caule (cm), ataque de *H. grandella* e taxa de sobrevivência de mogno em diferentes condições de manejo na Amazônia.

Sistema de Plantio	Idade	Altura	DAP	Ataque (%)	Sobrevivência (%)	Incremento mensal	Fonte
T1 – Mogno solteiro	24	2,47	4,90*	0	90	0,10	Presente trabalho
T2 – Mogno x Ingá no PTU	24	3,03	4,30*	0	95	0,13	Presente trabalho
T3 – Mogno x Ingá no PATM	24	1,70	3,03*	5	80	0,07	Presente trabalho
T4 – Mogno na Capoeira	24	1,62	2,59*	0	90	0,07	Presente trabalho
ASP1	24	1,89	-	18	95	0,08	Matos, 2000
AS 2	24	2,22	-	10	97	0,09	Sousa et al., 1996
Clareira	19	2,17	-	25	98	0,11	Lopes, et al., 2000
Mogno x seringueira	36	5,19	5,95	0	60	0,14	Lima, 1999
Plantio solteiro	36	4,35	7,03	100	58	0,12	Neves, et al., 1993

(*) Diâmetro da Base.

Para a taxa de sobrevivência observou-se que os mognos do presente estudo foram semelhantes aos de Sousa et al. (1996) e Lopes et al. (2000) e acima dos registrados por Neves et al. (1993) e Lima (1999).

Com referência a *H. grandella*, verificou-se que o ataque registrado no presente estudo foi menor do que os identificados pelos demais autores (NEVES, et al., 1993; SOUSA et al., 1996; MATOS, 2000 e LOPES et al., 2000), exceto para o plantio de mogno com seringueira (LIMA, 1999).

Conclusões

O melhor desenvolvimento em altura para o plantio de mogno misto foi o do tratamento T2 (mogno x ingá no PTU).

Os plantios de mogno na capoeira T3 (mogno x ingá no PATM) e T4 (mogno na capoeira) desenvolveram-se abaixo do esperado, porém sem ataque de *H. grandella*.

A taxa de sobrevivência foi alta e ocorreu baixíssimo ataque de *H. grandella*.

Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Ocidental, pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam), que forneceu subsídios ao estudo.

Ao Dr. Silas Garcia Aquino de Sousa, pela orientação e oportunidade.

À Dra. Lucinda Carneiro Garcia, pela coorientação.

À equipe de SAFs, pela colaboração.

Referências

CIKEL - MOGNO. Agronegócios [S.l.] **Agro Exame**, n. 825, set. 2004. Disponível em: <www.cikel.com.br/noticias/?id=26>. Acesso em: 10 jan. 2005.

GROGAN, J.; BARRETO, P.; VERISSIMO, A. **Mogno na Amazônia brasileira: ecologia e perspectivas de manejo**. Belém, PA: Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia, 2002. 64 p.

LIMA, R. M. B. de. Desenvolvimento de espécies florestais estabelecidas em sistemas de policultivo. In: GASPAROTTO, L.; SCHORTH, G. (Ed.). **Recuperação de áreas degradadas e abandonadas, através de sistema de policultivo (Janeiro a Dezembro de 1998): relatório técnico anual**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental: Universidade de Hamburgo, 1999. p. 50-57.

LOPES, J. C. A. et al. **Plantio em clareira de exploração: uma opção para o uso e conservação do mogno (Swietenia macrophylla King)**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 4 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, 46).

MATOS, J. C. S. **Sistemas agroflorestais para a reabilitação de pastagens abandonadas na região de Manaus, AM**. 2002. 74 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

NEVES, E. J. M. et al. Comportamento de espécies florestais a pleno sol e em linhas de enriquecimento em Manaus-AM. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7.; CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO, 1., Curitiba, 1993. **Anais...** Curitiba: SBS/SBEF, 1993. v. 2. 756 p. (Trabalhos voluntários e pôsteres).

SOUSA, S.G.A. de et al. Comportamento do mogno (*Swietenia macrophylla* King) em sistemas agroflorestais na Amazônia Ocidental. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ECOSISTEMAS FLORESTAIS – FOREST"96, 4., 1996, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: BIOSFERA, 1996. v. 1. p. 183-84.

SOUSA, S. G. A. de; WANDELLI, E. V; PERIN, R. et al. Aspectos agronômicos, silviculturais e econômicos de sistemas agroflorestais implantados em áreas de pastagens degradadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 3., 2000, Manaus. **Anais...** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. 2000. p. 331-333.

Determinação da Densidade Básica da Madeira de *Eucalyptus* var. *macrophylla* x *grandis* (eucalipto) no Sentido Longitudinal da Árvore

Arthur Diego Rosário de Souza
Roberval Monteiro B. de Lima
Silas Garcia Aquino de Sousa

Resumo

A densidade da madeira é uma característica importante para informar a sua qualidade, biomassa e quantidade de carbono sequestrada pelas árvores. Este trabalho tem por objetivo determinar o valor da densidade básica da madeira e da casca de eucalipto (*Eucalyptus* var. *macrophylla* x *grandis*) em diferentes posições, ao longo do tronco, e estudar sua variação longitudinal, a partir da análise de 181 amostras provenientes de 17 árvores. A densidade foi determinada empregando-se o método da balança hidrostática, sendo que os valores médios encontrados para as densidades são de 0,315 g/cm³ para a casca e de 0,532 g/cm³ para a madeira. Houve aumento crescente da densidade na direção da base ao ápice, com valores representativos do indivíduo na posição de DAP. Constatou-se que a variação dos valores da densidade foi causada pela influência dos fatores ambientais e principalmente pela influência genética do material.

Termos para indexação: densidade, silvicultura, eucalipto.

Introdução

A densidade da madeira de uma árvore é uma variável que informa sobre a quantidade de carbono que a planta destina ao custo de construção. Essa densidade varia dentro da planta, durante a vida desta, e entre os indivíduos de uma mesma espécie. Além disso, os ramos e as partes externas do tronco tendem a apresentar densidades de madeira mais baixas que a medula do tronco (CHAVE, 2006).

A densidade é referida sob uma variedade de termos. O tipo de densidade que se necessita conhecer para estimativa da biomassa a partir dos dados do volume da floresta é a “densidade básica” ou “gravidade básica específica”, calculada como o peso seco dividido pelo volume úmido. A condição úmida, na prática, usualmente se refere às amostras de madeira que têm sido colocadas em água até completa saturação, em laboratório (FEARNSIDE, 1997).

É uma característica complexa da combinação de diversos fatores. Existem diversos trabalhos mostrando sua relação com as dimensões das fibras, particularmente espessura da parede, volume dos vasos e parênquimas, proporção entre madeira primaveril e outonal e arranjo dos elementos anatômicos (FOEKEL et al., 1971).

Sob o ponto de vista do uso e da tecnologia, a avaliação da qualidade da madeira com base na densidade é de suma importância, uma vez que ela possui ligação direta com outras propriedades, como: contração, teor de umidade, poder calorífico e dureza. Aplicando essas qualidades à utilização de eucalipto, abre-se uma gama de possibilidades quanto ao uso do produto e dos

subprodutos, tais como: lenha, carvão vegetal, móveis, celulose e papel.

Com a preocupação de buscar informações complementares sobre a caracterização do eucalipto em nossa região, assim como desenvolver seu potencial comercial, é que se intenciona a realização deste trabalho de pesquisa.

Material e Métodos

A madeira utilizada no ensaio experimental foi proveniente de árvores de eucalipto (*Eucalyptus var. macrophylla* x *grandis*) oriundas do Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental. Coletaram-se amostras de dezessete árvores, sendo utilizadas amostras nas alturas 0%, 25%, DAP, 50%, 75%, 100% e a ponteira, em relação à altura comercial da árvore e total da árvore. Totalizando 181 amostras.

As amostras da casca e da madeira permaneceram armazenadas para saturação na casa de vegetação, colocadas em recipientes com água, observando-se ponto de saturação quando as amostras submergiam no recipiente depositado. Em seguida, foram transportadas para o laboratório de sementes para determinar a densidade, coletando-se os resultados do volume em água e peso úmido. Em seguida, foram colocadas em estufa a 103 °C ± 2 °C, para obtenção da massa seca. Finalizada a coleta dos dados, foram realizados os cálculos de densidade básica pelo método da balança hidrostática. A densidade do corpo é calculada pelo quociente entre a massa seca (M) e o volume obtido (V), conforme descrito na equação abaixo:

$$D = \frac{M}{V}$$

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para a variação da densidade básica da madeira (DBM) variaram entre 0,515 g/cm³ e 0,580 g/cm³, apresentando a densidade básica média de 0,532 g/cm³ (Tabela 1).

Tabela 1. Médias de densidade básica da madeira (DBM) e casca de *Eucalyptus* var. *macrophylla* x *grandis* em sete posições longitudinais do fuste.

Posição %	DBM g/cm ³	Casca
0	0,580	0,337
25	0,516	0,292
DAP	0,530	0,294
50	0,516	0,313
75%	0,515	0,314
100	0,531	0,328
Ponteira	0,539	0,327
Média	0,532	0,315

Com relação à densidade básica para a casca, observou-se variação entre 0,292 g/cm³ e 0,337 g/cm³, apresentando a densidade básica média

de 0,315 g/cm³. Não houve diferença significativa para a casca.

A determinação da densidade pelos indivíduos apresentou algumas oscilações de valores para um mesmo povoamento de eucalipto. Segundo Ruy et al. (2001), a densidade é influenciada pela base genética, ambiental, e é resultado da interação desses dois fatores.

De acordo com análise de variância, observou-se que existe diferença significativa nas densidades da madeira entre os 17 indivíduos analisados, bem como na posição longitudinal. Entretanto, não houve diferença significativa na interação entre árvores e posição longitudinal (Tabela 2).

Após a análise de variância foi feita a comparação entre as médias pelo teste de Duncan (Tabela 3). O indivíduo 38 apresentou a maior densidade média (0,568 g/cm³), porém foi estatisticamente semelhante aos indivíduos 61, 13, 69, 56, 39, 50, 71, 67. A árvore 52 apresentou tendência de menor densidade.

Tabela 2. Análise de variância para os fatores de variação, número de indivíduos (A) observados, posição longitudinal do caule (B) e interação entre árvores x pos. long (A x B).

FV	GL	SQ	QM	F	P (> f)
A	16	0.060794	0.003800	2.6975	0.002574 **
B	6	0.093416	0.015569	11.0532	2.019e-08 **
A x B	93	0.128870	0.001386	0.9837	0.533992 NS
Resíduo	64	0.090150	0.001409		
Total	179	0,37323	0,022164		

Tabela 3. Teste de Duncan para comparação entre as médias de densidade da madeira entre os indivíduos de *Eucalyptus* var. *macrophylla* x *grandis*.

Fatores	Médias	Fatores	Médias
38	0.568 a	67	0.529 abcde
29	0.562 ab	24	0.527 bcde
61	0.553 abc	33	0.527 bcde
13	0.551 abc	31	0.52 cde
69	0.551 abc	41	0.515 cde
56	0.548 abc	17	0.514 cde
39	0.543 abcd	43	0.506 de
50	0.534 abcde	52	0.503 e
7	0.531 abcde		

Tabela 4. Teste de Duncan para comparação das médias de densidade da madeira entre as posições longitudinais do fuste de *Eucalyptus* var. *macrophylla* x *grandis*.

Fatores	Médias
0%	0.580 a
Ponteira	0.539 b
100%	0.531 bc
50%	0.516 bc
DAP	0.530 bc
25%	0.516 c
75%	0.515 c

*Densidade da base foi superior às demais posições (0,580 g/cm³).

A posição em 75% do fuste comercial apresentou a menor tendência em densidade, porém foi estatisticamente semelhante a posições em 100% do fuste e a 25% em direção à base do caule (Figura 1).

Em relação à posição, houve aumento da densidade no sentido longitudinal, sendo esses resultados semelhantes aos encontrados por Alzate et al. (2005) para os valores de densidade básica da madeira, no sentido longitudinal do tronco dos clones de *E. grandis* x

urophylla. Esses autores mostraram um modelo de variação caracterizado pelo aumento da densidade da base até o topo, com dispersão dos seus valores dentre e entre os clones do híbrido.

Como foi apresentado na Tabela 4, a posição do DAP mostrou-se intermediária em relação à altura total comercial do caule, sendo sua densidade representativa para o caule, quando em trabalhos realizados com espécies do gênero *Eucalyptus*. Ferreira (1970) concluiu que as secções transversais do caule, tomadas ao nível do DAP, estimam a densidade básica média da árvore.

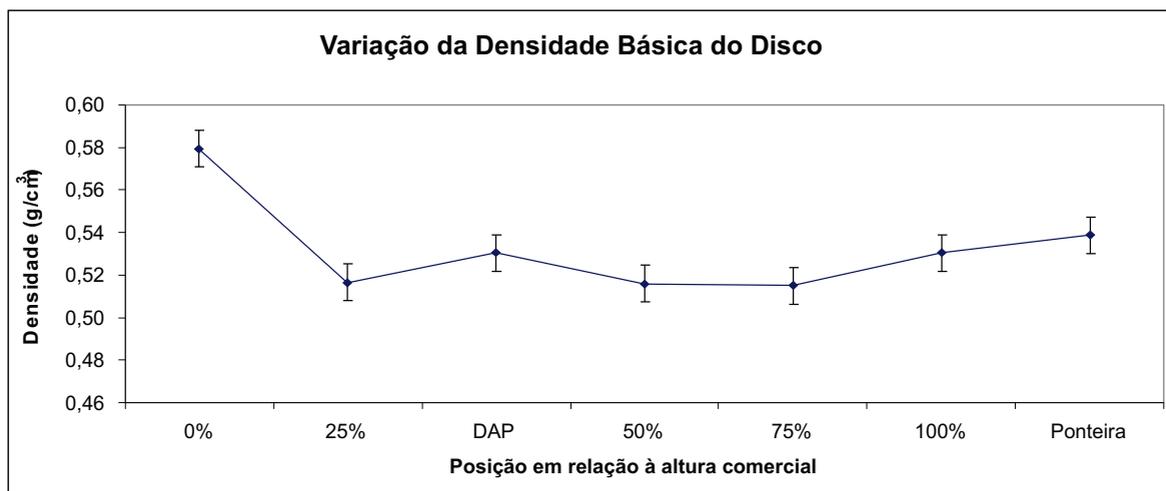


Figura 1. Gráfico da variação longitudinal da densidade básica média.

Conclusões

Não houve diferença significativa da densidade para a casca.

Houve diferença de densidade básica média entre os indivíduos estudados, influenciada pelo efeito dos fatores ambientais e genéticos.

A densidade básica média na altura do DAP é representativa ao longo da altura comercial do fuste.

Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Ocidental, pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), que forneceu subsídios ao estudo.

Ao Dr. Roberval Monteiro B. de Lima, pela orientação e oportunidade.

Ao Dr. Silas Garcia Aquino de Sousa, pelas sugestões.

Ao Sales, por ensinar o manuseio dos equipamentos.

Aos colegas Lian e Raulison, pelo apoio na realização das atividades.

Referências

ALZATE, S. B. S.; FILHO, M. T.; PIEDADE, S. M. S. **Varição longitudinal da densidade básica da madeira de clones de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, *E. saligna* Sm. e *E. grandis* x *urophylla***. Scientia Forestalis, n. 68, p. 87-95, ago. 2005.

CHAVE, J. **Medição da densidade da madeira em árvores tropicais – manual de campo**. s.l.: Projeto Pan-Amazônia, 2006.

FEARNSIDE, P. M. Wood density for estimating Forest biomass in Brazilian Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v. 90, p. 59-87, 1997.

FOEKEL, C. E. B.; BRASIL, M. A. M.; BARRICHELO, L. E. G. **Métodos para determinação da densidade básica de cavacos para coníferas e folhosas**. IPEF, Piracicaba, n.2/3, p. 65-74, 1971.

FERREIRA, M. Estudo da variação da densidade básica da madeira em povoamentos de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. 1970. Tese (Livre Docência) - ESALQ, Piracicaba.

RUY, O. F.; TOMAZELLO FILHO, M.; FERREIRA, M. Qualidade da madeira de grupos fenotípicos de clones de *Eucalyptus urophylla*. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n. 60, p. 21-27, 2001.

Efeito de Diferentes Embalagens e Substratos na Formação de Mudanças de Andiroba (*Carapa guianensis* - Meliaceae)

Raulison de Almeida Xavier
Lucinda Carneiro Garcia
Railma Pereira de Moraes
Silas Garcia Aquino de Sousa

Introdução

A Amazônia tem imensos recursos florestais, onde abriga 1/20 das florestas tropicais do planeta. Nesse rico patrimônio natural, destacam-se várias espécies madeireiras com elevado valor comercial. Entre essas, encontra-se a andiroba (*Carapa guianensis*), espécie arbórea que ocorre, preferencialmente, em várzeas úmidas e inundáveis da Amazônia, às margens dos rios, podendo ser encontrada também em terra firme, em agrupamentos chamados “reboleiras” (LEÃO, 2006).

Estudos relacionados ao setor de mudas de espécies florestais nativas da região amazônica são fundamentais e urgentes, considerando a escassez de informações básicas sobre a produção e o manejo adequado de mudas de espécies arbóreas promissoras, bem como a inexistência de normas para a produção, comercialização e certificação de sementes e mudas de espécies florestais nativas amazônicas (BRASIL, 1992). São poucos os trabalhos que fazem referência a tipos de embalagem e substratos usados para mudas da espécie andiroba. Azevedo et al. (1997) estudaram o comportamento de mudas da espécie em diferentes níveis de sombreamento e concluíram que ela respondeu favoravelmente ao sombreamento, em viveiro.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes embalagens e substratos no comportamento de mudas de andiroba.

Material e Métodos

Coleta das Sementes e Viveiro

As sementes foram coletadas em um plantio de andiroba na sede da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada no Km 29 da Rodovia AM-010, em Manaus, AM. Os frutos foram beneficiados manualmente, efetuando-se uma triagem para selecionar as sementes maiores, sem má-formação e sem indício de pragas, e em seguida realizar a semeadura em viveiro florestal constituído de tela sombrite, com 70% de luz, e irrigação com sistema de nebulização intermitente. Simultaneamente, efetuaram-se as análises básicas de laboratório, constituídas de: peso de mil sementes; número de sementes por quilograma; determinação do grau de umidade inicial e teste preliminar de germinação, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

Embalagens e Substratos Testados

Foram testados sacos plásticos de dois tamanhos (12 cm x 21 cm e 21 cm x 30 cm) e tubete de tamanho médio (6 cm x 19 cm). Semeou-se uma única semente por recipiente. O controle de ervas invasoras (pré e pós-emergência), bem como de pragas e doenças, foi efetuado a cada dois dias, durante todo o período do experimento.

Os substratos usados foram compostos de porções iguais de areia, argila e terriço de floresta. Instalaram-se os seguintes tratamentos: T1 = argila + saco plástico grande; T2 = terriço de floresta + saco plástico grande; T3 = areia + saco plástico grande; T4 = argila + saco plástico pequeno; T5 = areia +

saco plástico pequeno; T6 = terriço de floresta + saco plástico pequeno; T7 = terriço de floresta + tubete; T8 = argila + tubete; T9 = areia + tubete.

Procedimento Estatístico

Usou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 mudas, por tratamento, no esquema fatorial 3 x 3. Na verificação de diferenças significativas entre os tratamentos, foi usado o teste de Tukey, a 5% de significância, para comparação das médias dos diferentes tratamentos, de acordo com Banzatto e Kronka (1995).

Resultados e Discussão

As sementes de andiroba iniciaram o processo germinativo após sete dias da semeadura. As análises básicas das sementes recém-coletadas apresentaram os seguintes resultados:

- Teor de água das sementes: 49,92%.
- Peso de 1.000 sementes: 6.579 g.
- Número de sementes por quilo: 152.

Por meio das análises de variância dos dados para os diferentes tratamentos, verificou-se que estes exerceram influência significativa sobre a germinação e o IVE das plantas de andiroba (Tabela 1).

De acordo com os resultados, pôde-se constatar que a embalagem tubete, contendo o substrato terriço de floresta (T7), apresentou a menor percentagem de germinação e o menor índice de velocidade de emergência das sementes da espécie, ocorrendo somente 42,5% de germinação e IVE de 0,27 (Tabela 1). Verificou-se, contudo, que, no referido tratamento, para o crescimento da parte aérea da planta, não houve diferença

significativa quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 1). Esse resultado, provavelmente, está relacionado a um fator não inerente aos tratamentos. No viveiro, por exemplo, no referido tratamento, poderá ter ocorrido menor ou maior incidência de luz, sistema de nebulização com escassez ou excesso de água, fatores estes que, certamente, interferem nos resultados.

Ressalta-se que os substratos terriço de floresta e areia, quando acondicionados nas embalagens saco plástico grande e pequeno (T2; T3; T5; T6), apresentaram os melhores resultados para a percentagem total de germinação das sementes, mesmo sendo estatisticamente iguais aos demais (Figura 1).

Azevedo et al. (1997), trabalhando com mudas de andiroba, usaram sacos plásticos como embalagem e o substrato terriço de floresta. Segundo Gonzáles e Torres (2003), usa-se, de modo geral, o método de produção de mudas em sacos

plásticos para as mais diferentes espécies. Entretanto, verifica-se a necessidade de métodos diferentes, conforme as peculiaridades de cada espécie, como o crescimento de raízes e parte aérea, sendo que algumas destas não toleram danos mecânicos ao sistema radicular.

Com relação ao crescimento da parte aérea das mudas, constatou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos. No entanto, é importante observar que, mesmo no tratamento em que ocorreu a menor percentagem de germinação e o mais baixo IVE (T7), as plantas cresceram na mesma proporção que aquelas dos outros tratamentos (Tabela 1). Contudo, considerando que a semente da espécie é grande, deve-se evitar o uso de tubete na semeadura.

Diante desses resultados, recomendam-se, para a formação de mudas de andiroba, os substratos areia ou terriço de floresta em sacos plásticos.

Tabela 1. Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Percentagem Total de Germinação (%) e Comprimento da Parte Aérea (cm) de Mudanças de Andiroba. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, 2009.

Teste	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	
IVE	1,11a	0,73b	0,82a b	0,74b	0,89ab	0,81ab	0,90ab	0,27c	0,62b	0,68b
Germinação	97,50a	81,25a	86,25a	88,75a	81,25a	87,50a	86,25a	42,50b	85,00a	85,00a
Parte Aérea	-	31,40a	32,70a	28,00a	30,10a	30,80a	31,30a	28,50a	29,60a	31,10a

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

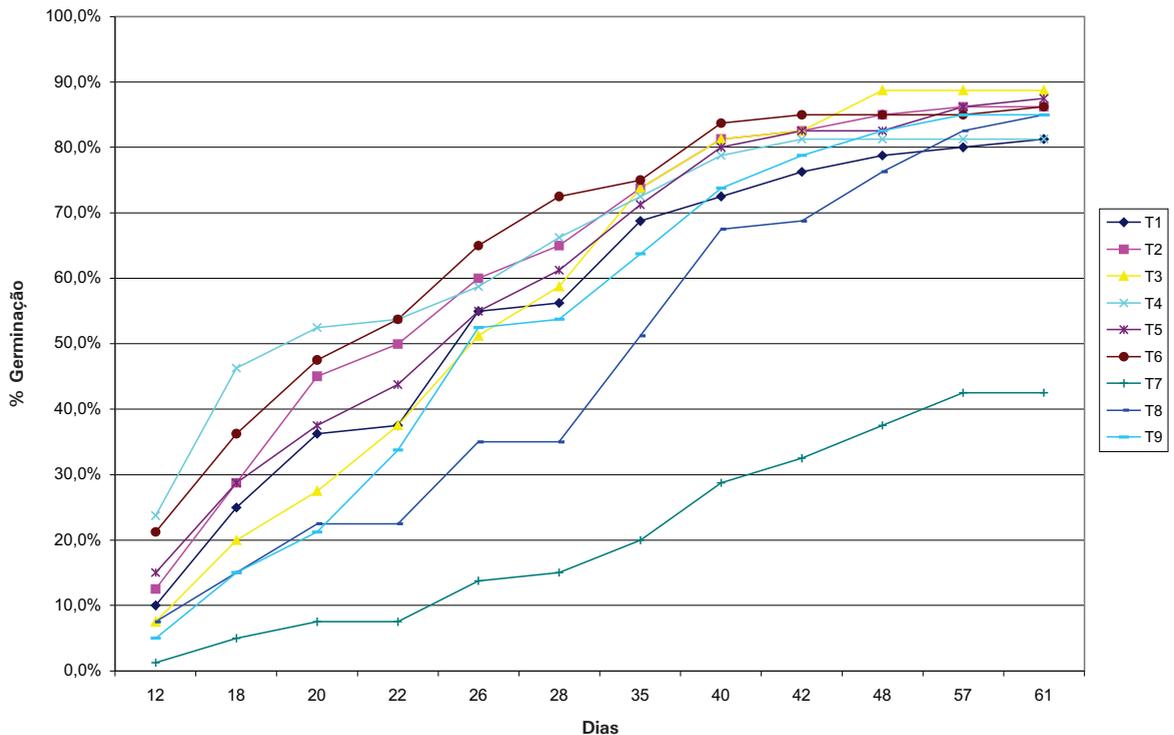


Figura 1. Emergência de plantas de andiroba submetidas a diferentes embalagens e substratos. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, 2009.

Referências

AZEVEDO, C. P. de; LIMA, R. M. B. de; LIMA, D de; GARCIA, L. C.; SILVA, S. E. L. da. Formação de mudas de Andiroba (*Carapa guianensis* – Meliaceae): resposta a diferentes níveis de sombreamento. **Revista da Universidade do Amazonas**. Série Ciências Agrárias, Manaus, v. 6, n. 1/2, p. 1, 1997.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 274 p.

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.

GONZÁLES, S.; TORRES, R. A. A. Coleta de sementes e produção de mudas. In: **GERMINAÇÃO de sementes e produção de mudas de plantas do Cerrado**. Brasília, DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2003. 96 p.

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

Seção III – Genética e Melhoramento

Análise do Fator de Transcrição PacC e Condições de pH Ambiente em *Mycosphaerella fijiensis*

Casley Borges de Queiroz
Gilvan Ferreira da Silva
Nelcimar Reis Sousa
Luadir Gasparotto
Rogério E. Hanada

Resumo

Alguns fitopatógenos podem dinamicamente alterar o pH local para adaptar o ambiente ao seu arsenal enzimático. A amplitude na mudança de pH depende da força de tamponamento do tecido da planta, de forma que o patógeno produzirá diferentes efeitos em diferentes tecidos. Além disso, muitos patógenos aumentam sua virulência pela modulação do pH do hospedeiro. Esse mecanismo asseguraria que genes, que codificam enzimas exportadas, sejam expressos e seus produtos, secretados em condições ótimas de pH para o seu funcionamento. Por esse motivo, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o fator de transcrição PacC e a influência do pH no crescimento de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal da sigatoka-negra em bananeira. O promotor do gene pacCMf apresenta nove possíveis sítios de reconhecimento 5'-GCCARG-3' para o fator de transcrição PacC indicando que a transcrição desse gene pode ser autoinduzida em condições de crescimento alcalino. A proteína deduzida – PacCMf é altamente conservada na região dedo de zinco. Os motivos YPXL/I de ligação a PaIA foram localizados na região C-terminal. Análises do crescimento de *M. fijiensis* em pH 3.0, 5.0, 7.0 e 9.0 revelaram a habilidade desse patógeno em alterar o pH durante o cultivo para valores entre 7.9 e 8.9, independente do pH inicial, com taxa de crescimento maior em pH 3.0.

Termos para indexação: *Mycosphaerella fijiensis*, pacC, transdução de sinal por pH, virulência, sigatoka-negra.

Introdução

A sigatoka-negra é uma doença foliar da bananeira causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. É a doença mais destrutiva dessa cultura e, nas regiões onde ocorre, devido à maior agressividade de seu agente etiológico e também em decorrência da alta gama de cultivares de bananeira suscetíveis, supera rápida e muito eficientemente a sigatoka-amarela. O ataque resulta na produção de frutos pouco desenvolvidos e impróprios para comercialização ou pode até causar a morte das plantas em virtude da redução da capacidade fotossintética (GASPAROTTO et al., 2006).

No Brasil, *M. fijiensis* foi detectada inicialmente no Amazonas em 1998, no Município de Tabatinga, fronteira do Brasil com a Colômbia e o Peru. Desde então, o fungo se alastrou rapidamente por todos os municípios do estado e tem se expandido rapidamente pelo País. A alta capacidade destrutiva do patógeno faz com que a doença adquira grande importância econômica e social (GASPAROTTO et al., 2006).

Estudo das condições fisiológicas possivelmente relacionadas à patogenicidade é fundamental para o desenvolvimento de ferramentas de controle da doença, e as condições de pH são um desses componentes, haja vista que os microrganismos possuem a capacidade de adaptar-se ao pH do ambiente. Um dos aspectos dessa adaptação, particularmente importante para os organismos que crescem sob ampla variação de pH, é a capacidade de expressão gênica adequada a cada pH (ARST e PEÑALVA, 2003; PEÑALVA e ARST, 2004).

Entre os genes regulados por pH ambiental, encontram-se aqueles que codificam para enzimas secretadas, permeases e reguladores da expressão de genes que codificam enzimas intracelulares ligadas à síntese de produtos, que são exportados como toxinas, antibióticos, assim como enzimas ligadas à produção de compostos capazes de modificar o pH. Nos últimos anos, têm surgido evidências de que a regulação de genes envolvidos na modificação pós-traducional das enzimas destinadas à secreção também é regulada em resposta ao pH (NOZAWA et al., 2003).

A proteína PacC reconhece o cis-elemento 5'-GCCAAG-3'. A substituição de bases resultou em substancial ou completa perda de ligação, exceto a adenina 5 (trocado por G). Um T precedente ao hexanucleotídeo aumentou a ligação da proteína (ESPESO et al., 1997).

A existência de uma cascata de sinalização, responsável pela regulação em resposta ao pH, tem sido amplamente demonstrada na maioria dos fungos filamentosos, bem como em leveduras (PEÑALVA e ARST, 2004). O fungo *A. nidulans* tem sido usado como organismo modelo para o estudo dessa cascata, e o papel funcional de cada um dos genes responsáveis pela sinalização tem sido exaustivamente analisado. Esses sinais permitem a ativação de genes, que respondem ao pH alcalino, bem como a repressão de genes expressos em pH ácido de acordo com o meio (PEÑALVA e ARST, 2004).

O sistema de sinalização é codificado por seis genes: *palA*, *palB*, *palC*, *palF*, *palH* e *pall*, os dois últimos codificam proteínas transmembrana capazes de detectar o pH externo. Os produtos dos

genes *palC* e *palF* ainda não possuem papel claro na cascata de sinalização. A transdução de sinal mediada por pH culmina na clivagem do fator de transcrição *PacC* para sua forma ativa, e, para que tal fato ocorra, a proteína *PalA* liga-se a dois motivos *YPXL/I* localizados em cada lado da região de sinalização da protease. Adicionalmente, *PalA* interage com *Vps32/Snf7* e recruta a proteína *PalB*, que é uma cisteína protease (CADDICK et al., 1986; VINCENT et al., 2003; ARST e PEÑALVA 2003; TILBURN et al., 2005).

Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o fator de transcrição *PacC* e a influência do pH no crescimento de *M. fijiensis* Morelet, agente causal da sigatoka-negra.

Material e Métodos

Isolados e condições de crescimento

Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Amazônia Ocidental. Para as análises, foram utilizados dois isolados das fases sexuada e assexuada de *M. fijiensis* obtidos de folhas de bananeira com sintomas da doença. Os isolados foram mantidos em meio BDA a 27 °C. Para obtenção de massa micelial, os isolados foram macerados e distribuídos em *erlenmyers* de 125 mL, cada um contendo 50 mL de meio de Potato Dextrose Broth enriquecido (250 g de batata, 2 g de peptona, 1,5 g de caseína, 2 g de extrato de levedura e 10 g de glicose). Após 7 dias em crescimento, os micélios foram recuperados por filtração e lavados com água autoclavada. Para se conseguir peso estável, o micélio foi pressionado entre papel toalha e papel filtro em placa de petri, para retirada da

umidade. Obteve-se peso total de micélios e dividiu-se em 16 porções como peso inicial. Cada porção foi distribuída em *erlenmyer* de 125 mL, cada um contendo meio de Potato Dextrose Broth em pH 3.0, 5.0, 7.0 e 9.0, com 4 repetições de cada pH.

Todos os *erlenmyers* foram mantidos em mesa agitadora a 120 rpm durante 15 dias. Os micélios foram pesados novamente pelo mesmo método descrito acima, obtendo-se, assim, um peso final.

Análise de *PacC* em *M. fijiensis*

A sequência do gene que codifica *PacC* foi obtida no banco de dados do projeto sequenciamento de *M. fijiensis* (sítio <http://genome.jgi-psf.org/Mycfi1/Mycfi1.home.html>), por meio da ferramenta *blastp* utilizando *PacC* de *Aspergillus nidulans* (Tabela 1).

As ferramentas de *blast* (*tblastx* e *tblastp*) foram usadas para analisar a presença de genes homólogos a *PacC* em outros fungos. As sequências obtidas foram alinhadas utilizando o programa *Clustal W 2.0* (LARKIN et al, 2007). As inferências filogenéticas foram obtidas usando o programa *MEGA 4.0* (KUMAR et al., 2007).

Análise da região promotora do gene *pacCmF*

Para analisar a região promotora de *pacCmF*, foi utilizado o software *DNAman* para identificação do cis-elemento 5'-GCCAAG-3'.

Tabela 1. Organismos utilizados na análise filogenética.

Organismo	Número de Acesso
<i>Aspergillus oryzae</i>	BAB20756
<i>Aspergillus niger</i>	Q00203
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Q96UW0
<i>Aspergillus flavus</i>	EED55786
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	XP_001930424
<i>Botryotinia fuckeliana</i>	AAV54519
<i>Aspergillus clavatus</i>	XP_001271195
<i>Ajellomyces capsulatus</i>	XP_001538988
<i>Aspergillus fumigatus</i>	XP_754424
<i>Trichophyton rubrum</i>	Q9C1A4
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	XP_001591909
<i>Neosartorya fischeri</i>	XP_001263266
<i>Coccidioides immitis</i>	XP_001244284
<i>Exophiala dermatitidis</i>	ACB12920
<i>Hypocrea lixii</i>	ABK60115
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Q8J257
<i>Yarrowia lipolytica</i>	XP_500847

Resultados e Discussão

Identificação do gene que codifica PacC em *M. fijiensis*

A sequência do gene PacC de *M. fijiensis* foi localizada no banco de dados JGI (*M. fijiensis* v1.0) com auxílio da ferramenta blastp. Uma região de 2.669 pares de bases (pb) apresentando 4 introns de tamanho variável (49 a 73pb) com uma ORF (Open Reading Frame) de 1923 pb (Figura 1).



Figura 1. Esquema representando a sequência do gene PacC de *M. fijiensis* localizado no JGI, os exons são apresentados em linhas grossas; os introns, em linhas finas com os tamanhos indicados na parte inferior.

Análise da região promotora do gene PacCMf

Foram analisados 1.000 pares de bases da região promotora de PacC de *M. fijiensis* para a presença do cis-elemento (5'-GCCARG-3'). Foram localizados nove sítios de reconhecimento para o fator

PacC, cujas posições estão listadas na (Tabela 2). O fator de transcrição PacC liga-se aos cis-elementos para ativação da transcrição em condições de pH alcalino (ESPESO et al., 1997). Esses dados indicam que PacCMf sofre autorregulação transcricional.

Tabela 2. Análise da região promotora de PacC de *M. fijiensis* indicando as posições de cada sítio de consensos para o fator PacC .

Posições	Consensos
-1pb	CCCTCTGGAGATCCATCAC GCCAAGA AATG
-50pb	ACGTCTTGGCAGCAGCGCAG GCCAGG CTCAGCCAG
-65pb	CAACAAGACAGCTTCACGT CTTGGC AGCAGCGCA
-368pb	GAAGGCAGTGAGGCAGGCG CTTGGC ACAGTTGGC
-449pb	TTGGCAGCAGGGATGGCGG CTTGGC AGCGCTCTC
-469pb	CTCCGAAGTCAGCTTGATT CTTGGC AGCAGGGAT
-706pb	GGGGTGTGGTTTAGAGGGT CTTGGC ATTCAATTAT
-961pb	CATTTCCGTGCGTCTTGGCT CTTGGC ATGTTGCAT
-967pb	ATCTT CATTTCGGTGCCT CTTGGC CTTGGCATG

Caracterização de PacC em *M. fijiensis*

A proteína deduzida PacCMf revelou que os motivos de reconhecimento proteína-proteína YPXL/I de

interação com PalA estão localizados na região C-terminal da proteína PacC entre os aminoácidos 440 e 633, em *M. fijiensis* cuja sequência é YPSL (Figura 2). Mutações em qualquer um dos dois sítios YPXL/I impedem o processamento de PacC (DÍEZ et al., 2002).

		440				
361	GGHQYRSSNS	PPNFQNNLNO	GGMGGV GAMS	SSSGMOGMTQ	SASALDTPAL	TPASVSSYNS
421	SSHSPMSSHS	RASFGSAHMY	PSL PAVTGMS	DLGAGYPTTT	SAPASGLASG	FEGLDGRRYS
481	GGRLQRQAPS	ASSEQQDTEM	GDAEDGS RTP	KASDAKRPKS	KGNSSIDPAL	RGENEGSDSA
541	STPAAQSEGA	EDKQQEQWVE	NIRLIEALRK	WVGERLKNGE	YDNAEASKSD	DAKDGADVEM
601	KNPVDPSNAV	EEKLKSAL EG	EKEKASASGD	AK YPSL PIAA		
				633		

Figura 2. Motivos de reconhecimento YPSL para interação com PalA, localizados na região C-terminal da proteína PacCMf entre os aminoácidos 440 e 633.

O alinhamento de PacC mostrou que a região dedo de zinco mantém-se extremamente conservada em todos os organismos utilizados que contém PacC/Rim101 (Figura 3). O aminoácido triptofano (W), localizado entre duas cisteínas entre o primeiro e o segundo dedo de zinco, é considerado um fator crítico na estrutura e função de PacC. No terceiro dedo de zinco, a glicina (Q) envolvida no contato com o DNA e as duas lisinas (K) que precedem a histidina

(H) estão relacionadas à localização nuclear e estão também conservadas em todos os organismos (FERNANDEZ-MARTÍNEZ et al., 2003). O fato de a região dedo de zinco estar altamente conservada em todos os organismos analisados é um indicativo de que essa sequência é importante para sobrevivência desses organismos, tanto que se mantém conservada durante a evolução. Esse achado também é um indício de que PacC em *M. fijiensis* pode ser funcional.

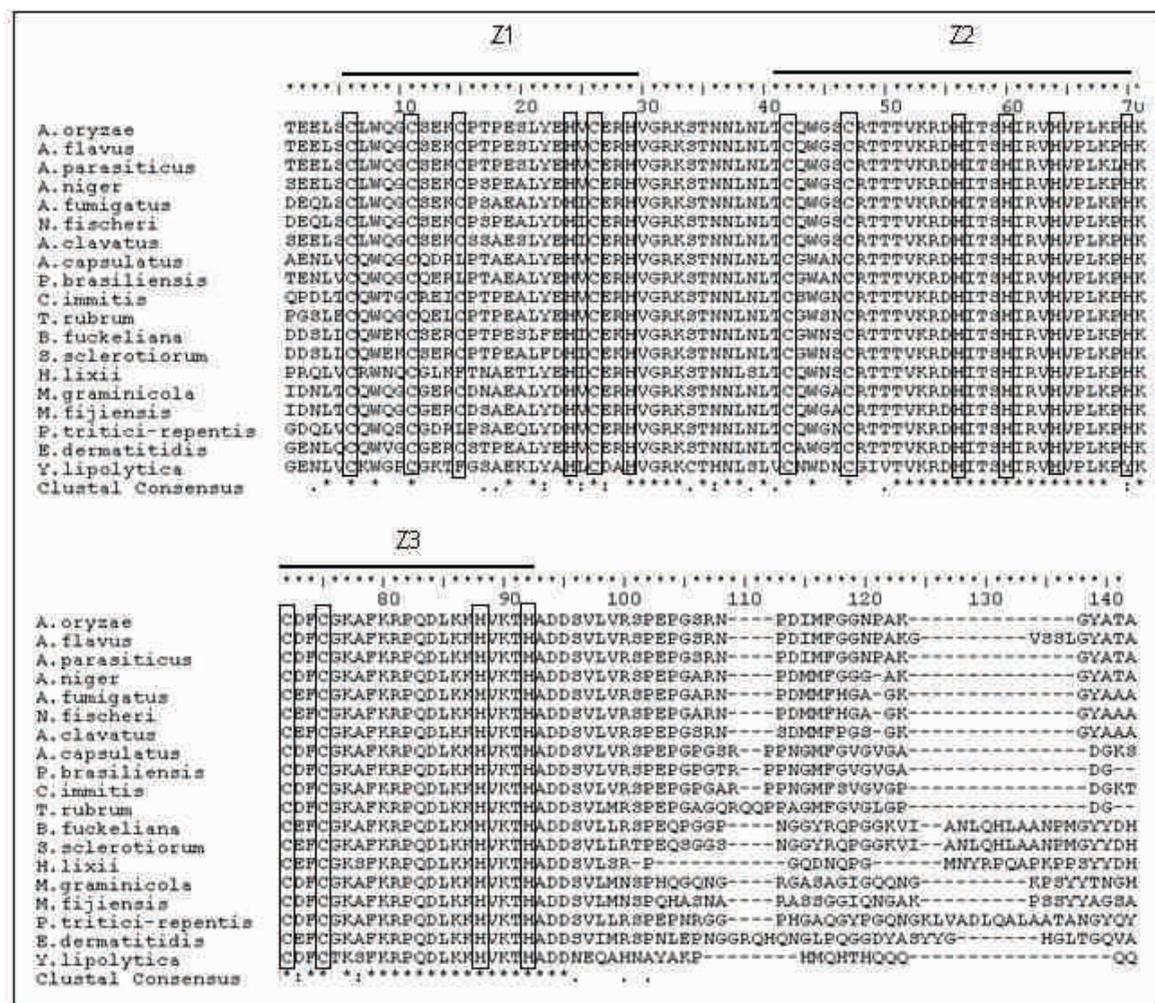


Figura 3. Alinhamento de PacC de *M. fijiensis* com as proteínas homólogas em outros fungos. As cisteínas do dedo de zinco e as histidinas estão destacadas em colunas. Os organismos e o número de acesso das proteínas estão listados na Tabela 1.

A análise filogenética apresentada na Figura 4 mostra que o fator de transcrição de *Yarrowia lipolytica* Rim101, que é o homólogo de PacC em leveduras, está enraizando o cladograma, o que está de acordo com o esperado do ponto de vista evolutivo. A análise revela também o agrupamento de todos os ascomicetos pertencentes ao gênero *Aspergillus* utilizados na análise, exceto *Neosartorya fischeri*, que está mais proximamente relacionada com *A.*

fumigatus; por outro lado ambos pertencem à mesma família (Trichocomaceae) (Figura 4A). Os organismos pertencentes à ordem Onygenales, da qual faz parte o ascomiceto *Trichophyton rubrum*, que é um importante agente de dermatofitoses capaz de parasitar tecidos como pele e unha, mostram-se agrupados no mesmo ramo (Figura 4B). *M. fijiensis* está mais relacionado a *M. graminicola*, agente causal da septoriose no trigo (Figura 4C).

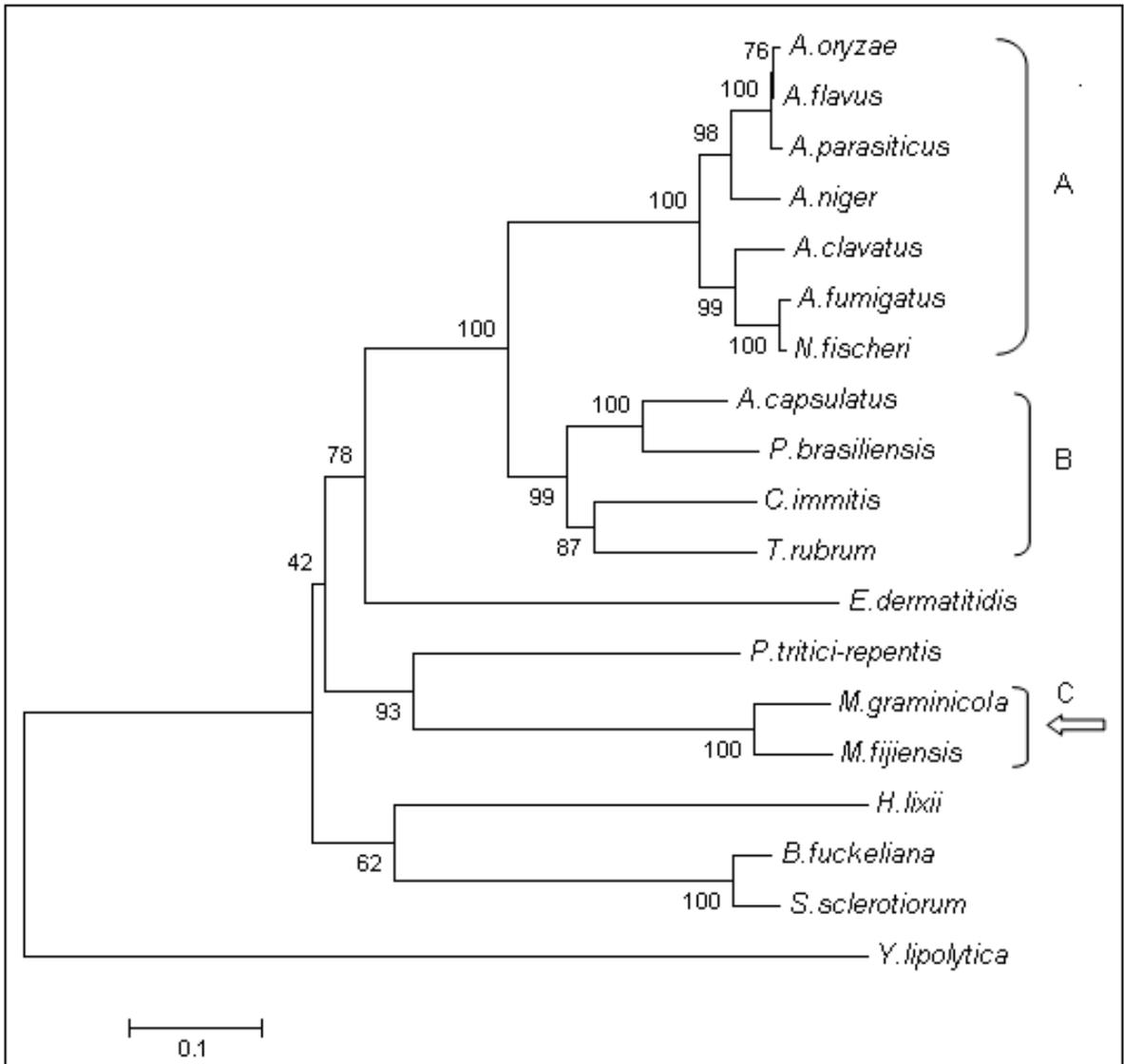


Figura 4. Análise filogenética do fator de transcrição PacC/Rim101 de *M. fijiensis* usando o programa MEGA 4.0 pelo método Neighbor-Joining (NJ) com bootstrap de 1.000 réplicas. Os organismos utilizados e o número de acesso estão localizados na Tabela 1.

Influência do pH no crescimento de *M. fijiensis*

Para determinar a taxa de crescimento em relação ao pH, dois isolados de *M. fijiensis*, um sexuado e outro assexuado, foram crescidos em meio BD em pH 3,0, 5,0, 7,0, e 9,0. A avaliação do crescimento foi feita por meio do peso seco após 15 dias de incubação, os resultados são mostrados na Figura 5. A taxa de crescimento de *M. fijiensis* foi maior no meio ajustado inicial-

mente com o pH 3,0, e quanto maior o pH, menor o crescimento, tanto no isolado sexuado quanto no assexuado, com uma leve diferença a partir do pH 5,0. Contudo, independentemente do pH inicial, *M. fijiensis* tem a habilidade de alterar pH do meio, durante o cultivo, para valores entre 7,96 e 8,90 (Tabela 3). Os fungos alteram o pH ambiente como estratégia para garantir que enzimas extracelulares sejam secretadas somente em valores de pH onde possam ter uma atividade eficaz (PEÑALVA et al., 2008).

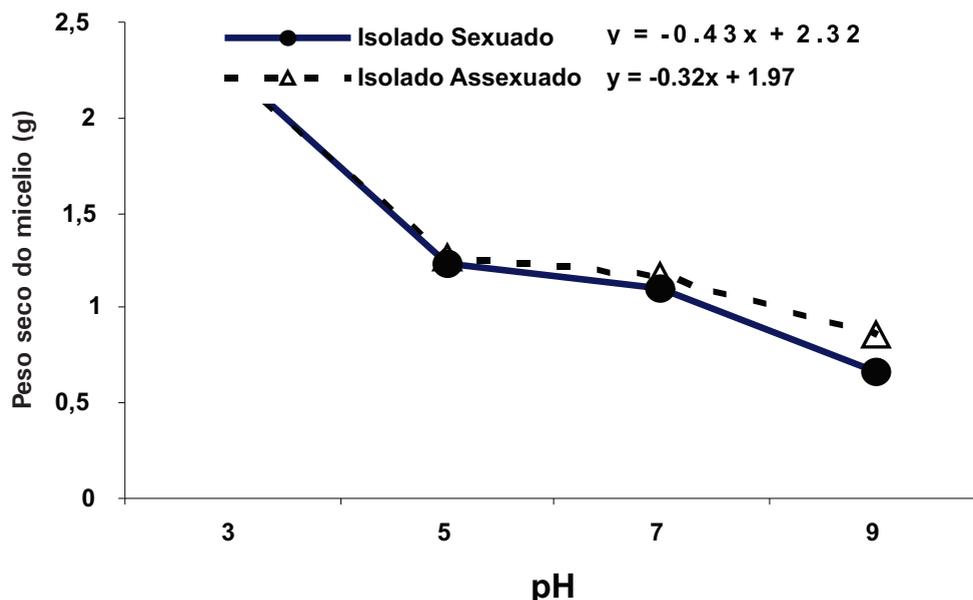


Figura 5. Gráfico da taxa de crescimento em relação à variação de pH.

Tabela 3. Média dos pHs, antes e depois do crescimento dos isolados de *M. fijiensis*, e taxa de crescimento.

pH inicial	pH final	Média de crescimento (g)
3,0	8,44	1,83
5,0	7,96	0,88
7,0	8,22	0,73
9,0	8,90	0,41

Conclusões

A presença dos nove consensos 5'GCCARG no gene *pacCMf* sugere autorregulação transcricional.

A análise da proteína deduzida, bem como os dedos de zinco altamente conservados, e o motivo YPSL na proteína PacC em *M. fijiensis* indicam que esse fator de transcrição está potencialmente ativo nesse fitopatógeno.

As alterações do pH durante o crescimento indicam que *M. fijiensis* possui habilidade de alterar as condições de pH do ambiente para adequar o seu arsenal enzimático à melhor condição de atividade.

Agradecimentos

A Deus, pela força e determinação para superar os obstáculos e atingir meus objetivos.

Ao Dr. Gilvan Ferreira da Silva, pela oportunidade, dedicação e paciência em me orientar durante esse trabalho.

À Embrapa Amazônia Ocidental, por possibilitar o desenvolvimento dos experimentos.

Ao CNPq, pela bolsa.

À minha família, pela compreensão e força que me deram nas horas críticas.

À Dra. Nelcimar Reis Sousa, pela análise de dados estatísticos.

Ao Eric, pela companhia e pelos ensinamentos laboratoriais na microbiologia.

Ao Edil, pelo auxílio durante a realização dos experimentos.

Aos técnicos Jéferson Chagas da Cruz e Anthony Jasson Zubiato Augustin, pelos ensinamentos de procedimentos laboratoriais na biologia molecular.

Referências

- ARECHIGA-CARVAJAL, E. T.; RUIZ-HERRERA, J. The RIM101/*pacC* homologue from the basidiomycete *Ustilago maydis* is functional in multiple pH-sensitive phenomena. **Eukaryot Cell**, v. 4, p. 999-1008, 2005.
- ARST, H. N.; PENALVA, M. A. PH regulation in *Aspergillus* and parallels with higher eukaryotic regulatory systems. **Trends in Genetics**, v. 19, p. 224-231, 2003.
- CADDICK, M. X.; BROWNLEE, A. G.; ARST JR., H. N. Regulation of gene expression by pH of the growth medium in *Aspergillus nidulans*. **Molecular and General Genetics**, v. 203, p. 346-353, 1986.
- DIEZ, E. et al. Activation of the *Aspergillus PacC* zinc finger transcription factor requires two proteolytic steps. **Embo Journal**, v. 21, p. 1350-1359, 2002.
- ESPESO, E. A. Specific DNA recognition by the *Aspergillus nidulans* three zinc finger transcription factor PacC. **Journal of Molecular Biology**, v. 274, p. 466-480, 1997.
- FERNANDEZ-MARTINEZ, J. et al. Overlap of nuclear localisation signal and specific DNA-binding residues within the zinc finger domain of PacC. **Journal of Molecular Biology**, v. 334, p. 667-684, 2003.

GASPAROTTO, L. et al. **Sigatoka-negra da bananeira**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2006. 177 p.

KUMAR, S. et al. MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. Molecular Biology and Evolution. EUA, May 7, 2007. Disponível em: <<http://mbe.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/msm092v1?ck=nck>>. Acesso em: 3 maio 2009.

LARKIN, M. A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics Applications Note**, v. 23, n. 21, p. 2947–2948, 2007.

NOZAWA, S. R. et al. The pH-induced glycosylation of secreted phosphatases is mediated in *Aspergillus nidulans* by the regulatory gene pacC-dependent pathway. **Fungal Genetics and Biology**, v. 39, p. 286-295, 2003.

PENALVA, M. A.; ARST JR., H. N. Recent advances in the characterization of ambient pH regulation of gene expression in filamentous fungi and yeasts. **Annual Review of Microbiology**, v. 58, p. 425-451, 2004.

PEÑALVA, M. A. et al. Ambient pH gene regulation in fungi: making connections. **Trends in Microbiology**, v. 16, p. 291-300, 2008.

TILBURN, J. et al. Mutational analysis of the pH signal transduction component PalC of *Aspergillus nidulans* supports distant similarity to BRO1 domain family members. **Genetics**, v. 171, p. 393-401, 2005.

VINCENT, O. et al. YPXL/I is a protein interaction motif recognized by *Aspergillus* PalA and its human homologue, AIP1/Alix. **Molecular and Cellular Biology**, v. 23, p. 1647-1655, 2003.

Avaliação de Genótipos de Feijão-Caupi em Ecossistemas de Várzea e Terra Firme no Estado do Amazonas

Patrícia de Almeida Santos
José Ricardo Pupo Gonçalves

Resumo

O feijão-caupi é uma das culturas mais importantes para as populações das regiões Norte e Nordeste. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de 40 genótipos de feijão-caupi em ecossistemas de várzea e terra firme. Os experimentos foram conduzidos no Município de Iranduba, onde foram avaliados dois grupos de acordo com os portes: a) semiereto e ereto; b) semiprostrado e prostrado. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. A semeadura em várzea foi realizada em agosto/08 e, em terra firme, em maio/09. Foram avaliados parâmetros de crescimento e produção, e os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias dos tratamentos comparadas pelos testes de Tukey e Scott Knott a 5% de significância. Em ambiente de várzea, os genótipos de porte prostrado que mais se destacaram foram BRS Paraguaçu, Pingo-de-ouro 1-2 e MNC99-537F-14-2 e, de porte ereto foram os genótipos MNC 05-832B-234-5, Califórnia Black Eye, Vaina Blanca e MNC99-541F-5, todos com produtividades acima de 1.000 kg ha⁻¹. Em relação à terra firme, o ensaio ainda está sendo conduzido no campo, e a colheita não foi realizada até o presente momento.

Termos para indexação: *Vigna unguiculata*, produção, porte ereto, porte prostrado.

Introdução

O feijão é um alimento de expressiva participação na alimentação dos brasileiros, constituindo um dos produtos de maior importância econômica e social do País. Nas regiões Norte e Nordeste, em virtude das condições ambientais desfavoráveis ao feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), predomina o cultivo do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), que resiste melhor ao calor e à deficiência hídrica (LEITE, 2004). Segundo Santos et al. (2000), o feijão-caupi apresenta forte interação genótipo x ambiente e desempenho distinto quando cultivado em diferentes situações de manejo e época do ano.

O caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é a mais importante leguminosa de grãos do Semiárido brasileiro e exerce a função de suprir parte das necessidades proteicas das populações mais carentes da região (TEIXEIRA et al., 1988). Também denominado feijão verde, feijão-decorda ou feijão macassar, é uma dicotiledônea pertencente à ordem Rosales, família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae*, gênero *Vigna*, e espécie *Vigna unguiculata* (SELLSCHOP, 1962).

É uma cultura bastante rústica, adaptada às regiões secas com solos de pouca produtividade, como é o caso da maioria das áreas do Norte e Nordeste brasileiros. Nesse sentido, a identificação e a seleção de genótipos altamente estáveis, ou que apresentem interação positiva com os ambientes (alta produtividade), representa um dos principais objetivos dos programas de melhoramento.

A recomendação de cultivares com base unicamente nas produtividades médias obtidas numa região e extrapoladas para outra pode resultar em produções bem abaixo do esperado, quando cultivadas em outras condições (DUARTE e ZIMMERMANN, 1994). Os efeitos da interação genótipo x ambiente podem ser resultantes de diferentes fatores, como: condições ambientais, fertilidade do solo, conhecimentos tecnológicos dos produtores e sistema de manejo adotado. Esses fatores, isoladamente ou em conjunto, podem alterar o comportamento de um genótipo, mesmo numa região de pequena extensão territorial.

Os primeiros trabalhos que visavam ao melhoramento do caupi no Nordeste foram iniciados na década de 1960 e tinham como objetivo básico o aumento da produtividade (KRUTMAN et al., 1968). O caupi, com relação a outras culturas, é pouco melhorado; possui, entretanto, ampla variabilidade genética para praticamente todos os caracteres de interesse agrônomo (EMBRAPA, 1990; FREIRE FILHO et al., 1981, 1992; TEÓFILO et al., 1989, 1990). Embora reconhecendo a necessidade de fazer melhoramento do caupi para várias características (WATT et al., 1978), o melhoramento tem sido feito visando principalmente à produtividade e à resistência a vírus (ARAÚJO e CARDOSO, 1981; FREIRE FILHO et al., 1991).

Na região Nordeste, a produtividade média de grãos de feijão-caupi é baixa ($342 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$). As principais causas são: cultivo em ambientes que apresentam restrições edafoclimáticas, baixa utilização de tecnologias e a ocorrência de pragas e doenças. O Pará, por sua vez, é o maior produtor de feijão-caupi da região Norte, seguido pelo Estado do Amazonas.

Com relação aos aspectos socioeconômicos, a cultura do feijão-caupi é responsável pela geração de 1.451.578 empregos/ano no Brasil, com o valor de produção estimado em US\$ 249.142.582,00/ano (PINTO, 2009).

Numerosos estudos têm sido realizados para estimar a base genética dos principais genótipos cultivados de feijão-caupi. No entanto, poucas pesquisas têm sido realizadas com a cultura no Estado do Amazonas visando à avaliação de materiais genéticos mais adaptados, resistentes e com características comerciais favoráveis. Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento e a produtividade de genótipos de feijão-caupi de porte ereto e prostrado em ecossistemas de várzea e terra firme no Estado do Amazonas.

Material e Métodos

Local

Os experimentos foram instalados e conduzidos no Campo Experimental Caldeirão, da Embrapa Amazônia Ocidental, localizado no Município de Iranduba, a 28,55 quilômetros de Manaus (latitude 03° 17' 05'S e longitude 60° 11' 10'W, altitude 60 metros). O solo de várzea foi classificado como Gleissolo, e não foram utilizados corretivos ou fertilizantes. O solo de terra firme foi classificado como Argissolo Amarelo Tb distrófico a antrópico (terra preta de índio).

Delineamento experimental dos ensaios

Em cada ecossistema, foram conduzidos dois experimentos (grupo ereto e grupo ramador) utilizando o deli-

neamento experimental de blocos casualizados, com 20 tratamentos e 4 repetições. As parcelas apresentavam as seguintes dimensões: a) grupo de porte prostrado – área da parcela: 3,20 m x 5,0 m, com quatro fileiras espaçadas a 0,80 m, com intervalo entre covas de 0,25 m, área útil de 8 m² e área total de 1.536 m²; b) grupo de porte ereto – área da parcela: 2,0 m x 5,0 m, com quatro fileiras espaçadas a 0,50 m, com intervalo entre covas de 0,25 m, área útil de 5 m² e área total de 960 m². Foram semeadas quatro sementes por cova e realizado desbaste quinze dias após o plantio, com compensação das falhas, deixando em média duas plantas por cova, visando obter uma população de 160 mil plantas por hectare no ensaio de porte ereto e 100 mil plantas por hectare no ensaio de porte prostrado.

Genótipos avaliados

Os genótipos avaliados foram cedidos pela Embrapa Meio-Norte, localizada em Teresina, PI, que realiza o melhoramento genético utilizando genótipos e progênies provenientes de diversas partes do Brasil e de outros países, como Nigéria, Peru e Estados Unidos. Para a realização deste trabalho, foram utilizados 40 genótipos de várias classes e subtipos. As linhagens de porte semiprostrado e prostrado são: MNC99-510F-16-1, MNC99-510F-16-3, MNC99-537F-14-2, MNC01-611F-11, MNC01-614F-15, MNC01-631F-11, MNC01-631F-15, MNC01-631F-20-5, MNC01-649E-2, Canapuzinho, Canapuzinho-2, Inhuma, Pingo-de-ouro-1-2, Pingo-de-ouro-2, Paulista, Patativa, BRS Paraguaçu, BRS Milênio, BRS 17 Gurguéia, BRS Marataoã e Tracuateua. As de porte semiereto e ereto são: MNC99-537F-1, MNC99-537F-4, MNC99-541F-5, MNC99-541F-8, MNC99-542F-5, MNC00-553D-8-1-2-2 (BRS-Novaera), MNC00-553D-8-1-2-3,

MNC99-557F-2, MNC01-627F-14-2, MNC01-627F-14-5, MNC03-720C-20, MNC03-720C-31, MNC03-731C-21, MNC03-732C-5, TVx-5058-09C, MNC05-784B-32-2, MNC05-832B-234-5, Vaina Blanca, Califórnia Black Eye-27, BRS Guariba, BR 8 Caldeirão e Ipean V69.



Figura 1. Detalhe das sementes enviadas pela Embrapa Meio-Norte acondicionadas em sacos de papel.

Preparo da área dos experimentos

Para a instalação dos experimentos, tanto em área de várzea como de terra firme, foram necessárias uma aração e duas gradagens, para que o solo apresentasse as características físicas desejadas para a semeadura, que foi efetuada manualmente no dia 26/8/2008 em ecossistema de várzea e 16/4/2009 em ecossistema de terra firme.



Figura 2. Vista da área de várzea após preparo do solo.



Figura 3. Semeadura realizada em ecossistema de várzea.

Tratos Culturais

Os tratos culturais foram realizados de acordo com a necessidade em função da severidade de ataque e infestação de pragas e plantas daninhas. Foi feita uma capina manual aproximadamente aos trinta dias após a semeadura para manter a cultura livre de infestação de plantas daninhas. O controle de doenças foi realizado visando selecionar genótipos mais resistentes. Foram aplicados os inseticidas Tamaron, aos dezesseis dias após a semeadura, e Decis, aos trinta dias após a semeadura, em doses comerciais recomendadas para o controle da vaquinha.

Avaliações realizadas

Foram avaliadas as seguintes variáveis: data para florescimento, ciclo, estande, tamanho de vagem, peso de vagem, número de grãos por vagem, peso de 100 grãos.

Colheita na várzea e em terra firme

A colheita foi realizada manualmente, de acordo com a maturação de cada material, aproximadamente aos 65 dias após o plantio. Foram realizadas quatro colheitas espaçadas de quatro a sete dias em condições para que as vagens tivessem aptas a ser colhidas sem ocasionar danos e perdas.



Figura 4. Realização da primeira colheita no dia 30 de outubro de 2008, em ecossistema de várzea.

Pós-colheita

Após a colheita, o material foi devidamente identificado e separado em sacolas de papel, sendo transportado para que fosse realizada a secagem em ambiente natural aberto. Após a secagem, foi realizada a debulha manual, em que foram retiradas cinco vagens de cada tratamento para análise.

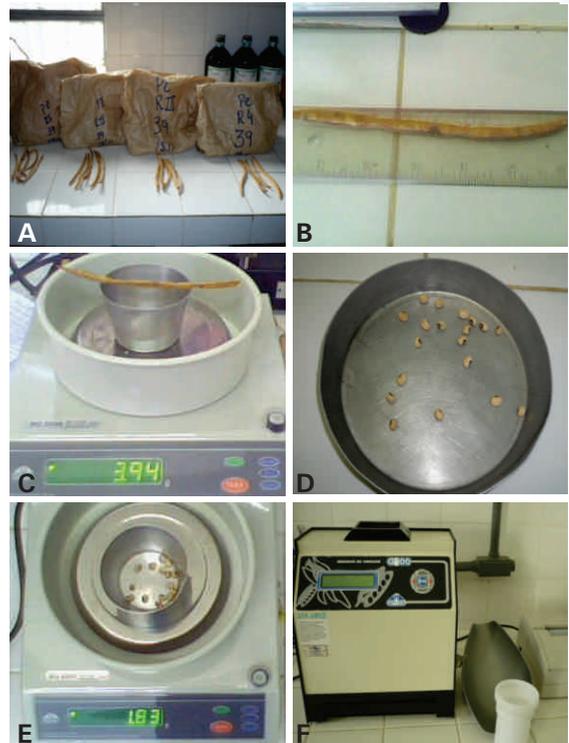


Figura 5. A) Material acondicionado em saco de papel, devidamente separado para análise, mostrando as vagens e a produtividade; B) Amostra da vagem sendo medida com régua convencional; C) Amostra da vagem sendo pesada; D) Contagem dos grãos de cada vagem; E) Peso dos grãos de cada vagem; F) Analisador de umidade de sementes.

Resultados e Discussão

Nas Tabelas 1,2,3 e 4, encontram-se os resultados do ensaio de porte prostrado (EAP) e ereto (EAE) conduzidos no ecossistema de várzea. No ensaio de porte prostrado, as linhagens apresentaram floração média aos 44 dias e maturação aos 68 dias após a semeadura (Tabela 1).

Tabela 1. Dados de subclasse comercial, produtividade, peso de 100 grãos e florescimento de genótipos de feijão-caupi de porte prostrado e semiprostrado avaliados em ecossistema de várzea amazônica no Município de Iranduba, AM, 2008.

Linagem	Subclasse comercial	Produtividade (kg ha ⁻¹)	Peso 100 grãos (g)	Floração (dias)
BRS Paraguaçu	Branco	1288,87 A	12,90 C	45,25 C
Pingo-de-ouro-1-2	Canapu	1098,59 AB	19,05 A	49,00 ABC
Mnc99-537F-14-2	Branco	1064,79 AB	17,22 AB	44,00 C
BRS Marataoã	Sempre Verde	960,29 ABC	14,35 BC	49,50 ABC
Canapuzinho 2	Canapu	879,03 ABCD	18,04 AB	46,50 BC
MNC01-649E-2	Sempre Verde	853,73 ABCD	14,17 BC	54,25 A
MNC01-631F-11	Mulato	818,83 ABC	18,03 AB	53,00 AB
Inhuma	Canapu	767,69 BCD	17,08 AB	49,00 ABC
Paulistinha	Canapu	732,37 BCD	17,59 AB	50,75 ABC
Patativa	Sempre Verde	724,92 BCD	14,71 BC	49,00 ABC
MNC99-510F-16-1	Sempre Verde	669,35 BCD	15,54 ABC	49,00 ABC
MNC01-614F-15	Mulato	665,07 BCD	16,24 ABC	50,75 ABC
MNC01-631F-15	Mulato	649,99 BCD	15,48 ABC	49,00 ABC
PINGO-DE-OURO-2	Canapu	636,97 BCD	17,94 AB	49,50 ABC
MNC01-631F-20-5	Mulato	602,29 BCD	19,01 A	52,50 AB
BR17 Gurguéia	Sempre Verde	538,37 CD	14,17 BC	54,75 A
BRS Milênio	Branco	525,72 CD	17,16 AB	53,00 AB
Canapuzinho	Canapu	480,70 CD	17,95 AB	50,75 ABC
MNC99-510F-16-3	Sempre Verde	434,50 D	15,28 ABC	54,25 A
MNC01-611F-11	Mulato	386,27 D	15,53 ABC	52,50 AB
CV (%)		26,58	9,03	5,30
DMS		286,78	0,43	3,71

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

A produtividade do ensaio variou de 386 kg ha⁻¹ a 1.289 kg ha⁻¹, e as linhagens com maiores produtividades foram BRS Paraguaçu, Pingo-de-ouro 1-2 e MNC 99-537F-14-2 com 1.289 kg ha⁻¹, 1.098 kg ha⁻¹ e 1.064 kg ha⁻¹, respectivamente. As linhagens que produziram menos foram BR17 Gurguéia, BRS Milênio, Canapuzinho, MNC99-510F-16-3 e MNC01-611F-11, com 538 kg ha⁻¹, 526 kg ha⁻¹, 481 kg ha⁻¹, 434 kg ha⁻¹ e 386 kg ha⁻¹, respectivamente. A cultivar BRS Gurguéia, embora tenha apresentado alta produtividade, estabilidade e adaptabilidade nos ensaios realizados no Estado do Piauí (FREIRE FILHO et al., 2003), não apresentou boa produtividade em ecos-

sistema de várzea amazônica. Em termos de precocidade, as linhagens MNC99-537F-14-2, Paraguaçu e Canapuzinho foram as mais precoces, apresentando 44; 45,25; e 46,5 dias, em média, para florescer. Houve correlação negativa entre dias para florescimento e produtividade, sendo que as cultivares mais precoces apresentaram maior produtividade que as mais tardias, com correlação altamente significativa ($P < 0,01$). Esse aspecto é importante para cultivo em várzea, uma vez que cultivares mais precoces permitem o cultivo de outras culturas na sequência, favorecendo o melhor aproveitamento da área e do nitrogênio atmosférico fixado nas raízes da leguminosa. O tamanho do grão é um

fator de extrema importância na escolha da cultivar, uma vez que há tendência para a comercialização de grãos mais graúdos. A cultivar que apresentou maior peso de 100 sementes foi a Pingo-de-ouro 1-2, com peso médio de 19,04 gramas. Essa cultivar apresentou ciclo relativamente curto, alta produtividade e

alto peso de 100 sementes, podendo representar boa opção de cultivo de feijão-caupi, subclasse Canapu, no ecossistema estudado. Outra opção de cultivo seria a cultivar BRS Paraguaçu, da subclasse branco, que apresentou alta produtividade e relativa precocidade nas condições avaliadas.

Tabela 2. Avaliação do peso médio de vagem, comprimento médio de vagem, número médio de grãos por vagem, peso médio dos grãos por vagem de feijão-caupi de porte prostrado, em ecossistema de várzea no Amazonas.

Linagem	PMV (g)	CMV (cm)	NMGV (un)	PMGV (g)
BRS Paraguaçu	2,46 CD	18,84 ABC	15,35 AB	1,98 C
Pingo-de-ouro 1-2	3,41 AB	17,18 CD	15,10 AB	2,86 AB
MNC99-537F-14-2	2,73 BCD	18,02 BCD	12,25 BC	2,10 BC
BRS Marataoã	2,84 BCD	17,10 CD	15,00 AB	2,17 ABC
Canapuzinho-2	3,54 AB	18,31 BC	16,30 A	2,94 A
MNC01-649E-2	2,91 ABCD	18,50 BC	16,25 A	2,31 ABC
MNC01-631F-11	3,62 AB	20,36 AB	15,65 AB	2,82 AB
Inhuma	3,40 ABC	18,58 BC	15,89 A	2,76 ABC
Paulistinha	3,43 AB	19,11 ABC	16,10 A	2,83 AB
Patativa	2,90 ABCD	17,74 BCD	15,15 AB	2,23 ABC
MC99-510F-16-1	2,90 ABCD	17,67 BCD	14,33 ABC	2,23 ABC
MNC01-614-15	2,99 ABCD	18,57 BC	14,75 ABC	2,39 ABC
MNC01-631F-15	3,16 ABCD	19,57 ABC	15,83 A	2,45 ABC
Pingo-de-ouro -2	3,41 AB	17,85 BCD	15,40 AB	2,76 ABC
MNC01-631F-20-05	3,81 A	21,65 A	15,65 AB	2,98 A
BRS Gurguéia	2,91 ABCD	18,45 BC	16,25 A	2,31 ABC
BRS Milênio	2,44 D	15,38 D	11,40 C	1,95 C
Canapuzinho	3,29 ABCD	18,15 BCD	15,25 AB	2,72 ABC
MC99-510F-16-3	3,09 ABCD	19,57 ABC	16,45 A	2,52 ABC
MNC01-611F-11	2,99 ABCD	17,89 BCD	15,65 AB	2,43 ABC

PMV = peso médio de vagem; CMV = comprimento médio de vagem; NMGV = número médio de grãos por vagem; PMGV = peso médio dos grãos por vagem.

As linhagens MNC01-631F-20-05, MNC01-631F-11, Canapuzinho-2 e Paulistinha apresentaram maior PMV de 3,81 g, 3,62 g e 3,54 g, respectivamente. Já as linhagens que tiveram menor PMV foram MNC99-537F-14-2, BRS Paraguaçu e BRS Milênio com 2,73g, 2,46 g e 2,44 g, respectivamente. Em relação ao CMV, as linhagens MNC01-631F-20-05, MNC01-631F-11 e MC99-510F-16-3 demonstraram maiores valores com 21,65 cm, 20,36

cm e 19,57 cm, respectivamente. As linhagens Pingo-de-ouro 1-2, BRS Marataoã, BRS Milênio apresentaram os menores valores de CMV, com valores de 17,18 cm; 17,10 cm; e 15,38 cm, respectivamente. Em relação ao NMGV, há ampla faixa de significância entre as linhagens com os valores compreendidos entre 16,45 grãos a 14,33 grãos, com exceção da MNC99-537F-14-2 e BRS Milênio com 12,25 grãos e 11,40 grãos, respectivamente. O mesmo

ocorreu para o PMGV, na qual os maiores valores foram de 2,98 g a 2,17 g e os menores, de 1,98 g e 1,95 g correspondendo a BRS Paraguaçu e BRS Milênio, respectivamente. A linhagem MNC01-631F-11, além de boa produtividade, apresentou bom comprimento e peso médio de vagem, bem como bons resultados de número e peso dos grãos por vagem.

As avaliações das respectivas variáveis mostraram que a linhagem BRS Paraguaçu, apesar de ter apresentado a maior média para a produtividade, teve um dos menores índices de PMV e PMGV com 2,46 g e 1,98 g; mas em relação às variáveis CMV e NMGV destacou-se com os valores de 18,84 cm e 15,35 grãos, respectivamente.

Tabela 3. Dados de subclasse comercial, produtividade de grãos, peso de 100 grãos e florescimento de genótipos de feijão-caupi de portes semiereto e ereto avaliados em ecossistema de várzea amazônica no Município de Iranduba, AM, 2008.

Linhagem	Subclasse comercial	Produtividade (kg ha ⁻¹)	Peso 100 grãos (g)	Floração (dias)
MNC05-832B-234-5	Branco	1.447,709 A	19,92 A	45,25 C
Califórnia Black Eye	Fradinho	1.406,346 AB	15,68 B	45,25 C
Vaina Blanca	Fradinho	1.229,177 ABC	16,24 AB	45,25 C
MNC99-541F-5	Branco	1.212,302 ABC	15,10 B	49,00 ABC
MNC99-537F-4	Branco	1.211,950 ABC	17,58 AB	49,00 ABC
MNC99-542F-5	Branco	1.207,857 ABC	17,87 AB	49,00 ABC
MNC99-537F-1	Branco	1.205,577 ABC	17,64 AB	49,00 ABC
BRS Nova Era	Branco	1.103,348 ABCD	17,20 AB	49,00 ABC
MNC 03-720C-20	Branco	1.091,989 ABCD	16,86 AB	49,00 ABC
MNC99-541F-8	Branco	1.073,551 ABCD	14,93 B	51,75 AB
MNC03-731C-21	Branco	999,909 ABCD	18,80 AB	51,25 AB
BRS Guariba	Branco	954,084 ABCD	16,57 AB	49,00 ABC
MNC00-553D-8-1-2-3	Branco	930,334 ABCD	19,22 A	49,50 ABC
MNC99-557F-2	Branco	882,453 ABCD	17,31 AB	46,50 BC
MNC03-720C-31	Branco	871,816 ABCD	18,39 AB	47,75 ABC
MNC01-627F-14-2	Branco	840,519 BCD	15,61 B	47,75 ABC
MNC05-784B-38-2	Branco	801,891 CD	18,88 AB	50,00 ABC
MNC01-627-14-5	Branco	774,676 CD	15,04 B	49,00 ABC
TVx-5058-09C	Branco	757,809 CD	12,66 B	52,25 A
MNC03-732C-5	Branco	538,960 D	17,54 AB	51,25 AB
CV (%)		21,61	17,08	4,15
DMS		296,32	3,48	2,66

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

A produtividade de grãos do ensaio variou de 538 a 1.447 kg ha⁻¹ e os genótipos com maiores produtividades foram MNC05-832B-234-5, Califórnia Black Eye, Vaina Blanca, MNC99-541F-5 e MNC99-537-4, com produtividades de 1.447 kg ha⁻¹, 1.406 kg ha⁻¹ e 1.229 kg ha⁻¹, 1.212 kg ha⁻¹ e 1.211 kg ha⁻¹, respectivamente. Já as que produziram menos foram as linhagens MNC 01-627F-14-2,

MNC05-784B-38-2, MNC01-627-14-5, TVx-5058-09C e MNC03-732C-5, com 840 kg ha⁻¹, 801 kg ha⁻¹, 774 kg ha⁻¹, 757 kg ha⁻¹ e 538 kg ha⁻¹, respectivamente. A linhagem MNC05-832B-234-5, além de boa produtividade, apresentou relativa precocidade, com média de 45,25 dias para floração, e bom peso de 100 grãos (19,92 g). Esses atributos são de grande importância para a escolha da cultivar a ser

semeada, uma vez que, em ecossistema de várzea, o período de cultivo é curto, e quanto mais precoce a cultivar, maior é a possibilidade de realizar o cultivo de outra cultura e aproveitar melhor a disponibilidade da área e o efeito residual promovido pelo cultivo da leguminosa. As cultivares BRS Nova Era e BRS Guariba produziram 1.103 kg ha⁻¹ e 954 kg ha⁻¹, respectivamente, com floração média de 49 dias e peso de 100 grãos de 17,20 e 16,57 gramas. A cultivar Nova Era já é recomendada para o cultivo no Estado do Amazonas, podendo ser utilizada na agricultura familiar e empresarial (FREIRE

et al., 2008). Já a cultivar BRS Guariba é recomendada para alguns estados da região Nordeste e para alguns estados do Norte, a exemplo de Roraima (VILARINHO e FREIRE, 2007). Dessa forma, considerando que a produtividade média estadual é baixa, estima-se que, por volta de 350 kg ha⁻¹, essas linhagens apresentaram bom potencial produtivo para as condições de várzea, podendo ser opção de cultivo para esse ecossistema, uma vez que não há recomendação para cultivares da subclasse branco para o Estado do Amazonas.

Tabela 4. Avaliação das variáveis do comprimento médio de vagem, peso médio de vagem, número médio de grãos por vagem, peso médio dos grãos por vagem de feijão-caupi de porte ereto, em ecossistema de várzea no Amazonas.

Linhagem	CMV (cm)	PMV (g)	NMGV (un)	PMGV (g)
MNC05-832B-234-5	16,02 BCDEF	2,78 ABCD	11,15 BCDE	2,22 ABC
Califórnia Black Eye	15,00 DEF	1,94 EF	10,20 BCDE	1,60 BC
Vaina Blanca	16,13 BCDEF	2,06 EF	10,60 BCDE	1,72 BC
MNC99-541F-5	17,73 ABCD	2,47 BCDEF	13,10 AB	1,96 ABC
MNC99-537F-4	18,93 A	3,21 A	14,90 A	2,62 A
MNC99542F-5	18,25 ABC	2,95 AB	13,50 AB	2,42 AB
MNC99-537F-1	18,70 AB	2,84 ABC	12,95 ABC	2,28 AB
MNC00-553D-8-1-2-2(Nova Era)	16,88 ABCDEF	2,60 ABCDE	11,90 ABCDE	2,04 ABC
MNC03-720C-20	16,22 ABCDEF	2,49 BCDE	11,80 ABCDE	1,99 ABC
MNC99-541F-8	15,61 CDEF	2,21 CDEF	11,80 ABCDE	1,76 ABC
MNC03-731C-21	15,65 CDEF	2,13 CDEF	9,75 CDE	2,30 AB
BRS Guariba	16,96 ABCDEF	2,46 BCDEF	11,80 ABCDE	1,96 ABC
MNC00-553D-8-1-2-3	17,05 ABCDE	2,99 AB	12,50 ABCD	2,40 AB
MNC99-557F-2	17,22 ABCDE	2,11 DEF	9,30 DE	1,61 BC
MNC03-720-C-31	16,39 ABCDEF	2,63 ABCDE	11,45 BCDE	2,10 ABC
MNC01-627F-14-2	14,18 F	1,76 F	8,60 E	1,34 C
MNC05-784B-38-2	17,10 ABCDE	2,08 DEF	9,15 E	1,73 BC
MNC01-627F-14-5	16,35 ABCDEF	2,19 CDEF	11,15 BCDE	1,68 BC
TVx-5058-09C	15,58 CDEF	2,06 EF	13,50 AB	1,71 BC
MNC03-732C-5	14,92 EF	2,04 EF	9,10 E	1,59 BC

PMV = peso médio de vagem; CMV = comprimento médio de vagem; NMGV = número médio de grãos por vagem; PMGV = peso médio dos grãos por vagem

As linhagens MNC99-537F-4, MNC00-553D-8-1-2-3 e MNC99542F-5 apresentaram maior PMV com valores de 3,21 g; 2,99 g e 2,95 g, respectivamente. Já as linhagens que tiveram menor PMV foram MNC03-732C-5, Califórnia Black Eye, MNC01-627F-14-2 com 2,04 g, 1,94 g e 1,76 g, respectivamente. Em relação ao CMV, as linhagens MNC99-537F-4, MNC99-537F-1 e MNC99542F-5 demonstraram maiores valores variando entre 18,93 cm, 18,70 cm e 18,25 cm, respectivamente. As linhagens Califórnia Black Eye, MNC03-732C-5 e MNC01-627F-14-2 obtiveram menores valores, entre 15,00 cm; 14,92 cm e 14,18 cm, respectivamente.

Em relação ao PMGV, houve pequena variação entre as linhagens, com destaque para MNC99-537F-4, com 2,62 g, e MNC01-627F-14-2, com 1,34 g. Quanto ao NMGV, verificou-se uma diferença entre as linhagens, e a que apresentou o maior número foi MNC99-537F-4 com 14,90 grãos e menor MNC01-627F-14-2 com 8,60 grãos. A linhagem MNC99-537F-4 está entre as mais produtivas, tendo como destaque o comprimento da vagem, o peso médio de vagem e o número e peso dos grãos por vagem.

A linhagem MNC05-832B-234-5 apresentou a maior produtividade entre as demais para o PMV, PMGV com 2,78 g e 2,22 g, mas em relação ao CMV e NMGV apresentou 16,06 cm e 11,15 grãos, mostrando que essa linhagem, mesmo tendo poucos grãos em relação às demais, possui peso relativamente elevado, assim refletindo na sua produtividade. A BRS Nova Era destacou-se entre as mais produtivas e em todas as demais variáveis (CMV, PMV, NGV E MGV). Por ser precoce na floração e maturação das vagens, facilita sua reco-

mendação em ecossistema de várzea. O porte ereto apresenta maior facilidade para a colheita manual e mecanizada devido à disposição das vagens, diminui o contato das vagens com o solo aumentando a qualidade do produto final.

Conclusões

As linhagens apresentam a interação genótipo x ambiente, indicando a necessidade do desenvolvimento de cultivares de caupi específicas para determinadas regiões e condições de cultivo. Existem diferenças significativas no peso de 100 grãos e no potencial produtivo dos genótipos. As cultivares de porte prostrado BRS Paraguaçu e BRS Pingo-de-ouro 1-2 apresentaram boa opção de cultivo em várzea no Estado do Amazonas por sua precocidade e produtividade. A BRS Paraguaçu apresentou grãos pequenos, mas com produtividades elevadas, acima de 1.000 kg ha⁻¹; já a cultivar BRS Pingo-de-ouro 1-2 apresentou maior peso de grãos que a cultivar BRS Paraguaçu.

O porte ereto das linhagens MNC05-832B-234-5, Califórnia Black Eye e Vaina Blanca é uma característica favorável e esses genótipos apresentam boa produtividade também, todos acima de 1.000 kg ha⁻¹, quando cultivados em ecossistema de várzea sem a utilização de fertilizantes e corretivos. As cultivares BRS Nova Era e BRS Guariba destacam-se em produção, nos ensaios, e apresentam a vantagem de ter sementes para comercialização, ao contrário das cultivares Vaina Blanca e Califórnia Black Eye, que são provenientes do Peru e EUA, respectivamente, e não há sementes no comércio.

Referências

- ARAÚJO, A. G. de; CARDOSO, M. J. Melhoramento do feijão macassar no Piauí. 1. Introdução e avaliação de cultivares e linhagens. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, 2., 1980, Teresina. **Anais...** Teresina: EMBRAPA-UEPAE de Teresina, 1981. p. 67-75.
- DUARTE, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. de O. Adaptabilidade e estabilidade de rendimento de genótipos de feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 25-32, jan. 1994.
- EMBRAPA Meio-Norte: caupi movimentada mais de US\$ 249 milhões no Brasil. Embrapa Meio-Norte, Teresina, v. 3, n. 3, p. 4-5, Relatório julho de 2001. Disponível em: <http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/Feijao_Caupi/importancia.htm>. Acesso em: 15 jan. 2009.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão. **Catálogo descritivo de germoplasma de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. Goiânia, 1990. 16 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 31).
- FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; ARAÚJO, A. G. de; SANTOS, A.A. dos; SILVA, P. H. S. da. **Características botânicas e agrônômicas de cultivares de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. Teresina: Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro EMBRAPA-UEPAE de Teresina, 1981. 40p. (EMBRAPA-Teresina. Boletim de Pesquisa, 4).
- FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q. Variabilidade genética e capacidade de combinação em feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) In: SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, 6., 1990, Teresina. **Anais...** Teresina: EMBRAPA-UEPAE de Teresina, 1992. p.219-227.
- FREIRE FILHO, F. R.; CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q.; ATHAYDE SOBRINHO, C.; SILVA, P. H. S. da. **Introdução, avaliação e utilização de germoplasma de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. Relatório Técnico Anual da Unidade de Execução de Âmbito Estadual de Teresina 1990. Teresina, p. 126-131, 1991.
- FREIRE FILHO, F. R.; RAMOS, S. R. R.; MEIRELLES, A. C. de S.; BARROS, G. B.; SOBRAL, P. V. C.; SANTOS, J. O.; SANTOS, E. P. A. dos.; ROCHA, M. de M.; SILVA, K. J. D.; SOUZA, O. V. V. de. Diagnóstico da situação de manejo do Banco Ativo de Germoplasma de *Vigna* sp. da Embrapa Meio-Norte. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2008, Brasília. **Anais...** Brasília: CENARGEN, 2008. p. 328.
- FREIRE FILHO, F. R.; SANTOS, A. A. dos; ARAÚJO, A. G. de; CARDOSO, M. J.; RIBEIRO, V. Q.; GOMES, S. M. F. Melhoramento do feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) no Piauí - período 1980-1983. In: SEMINÁRIO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO PIAUÍ, 4., 1986, **Anais...** Teresina, 1986, Teresina, EMBRAPA-UEPAE de Teresina, 1986. p.204-229.

KRUTMAN, S.; VITAL A. F.; BASTOS, E. G. Variedades de feijão macassar "*Vigna simensis*": características e reconhecimento. Recife: IPEANE, 1968.46 p.

LEITE, M. de LIMA, VIRGENS FILHO, J. S. Produção de matéria seca em plantas de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) submetidas a déficits hídricos. **Publicatio UEPG**, v. 10, n. 1, p. 43-51, 2004.

PINTO, R. J. (Ed.). **Pará: negócios, economia, política e meio ambiente.** Produção paraense de feijão-caupi ganha nova variedade. Disponível em: <[http://www.paranegocios.com.br/anterior_cont.asp?id=1867 - 28k](http://www.paranegocios.com.br/anterior_cont.asp?id=1867-28k)>. Acesso em: 15 jan. 2009.

SANTOS, C. A. F.; ARAÚJO, F. P.; MENEZES, E. A. Comportamento produtivo de caupi em regime irrigado e de sequeiro em Petrolina e Juazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 2229-2234, 2000.

SELLSCHOP, J. P. F. Cowpeas. *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Field Crop Abstract, v. 15, n. 4, p. 259-266, 1962.

TEIXEIRA, S. M.; MAY, P. H.; SANTANA, A. C. de. Produção e importância econômica do caupi no Brasil. In: ARAUJO, J. P. P. de; WATT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília, DF: IITA/Embrapa, 1988. p. 99-136.

TEÓFILO, E. M.; PAIVA, J. B.; VIDAL, J. J. Renovação de estoque e caracterização de 94 cultivares de feijão-de-corda (*Vigna sinensis* (L.) Savi.). In: Universidade Federal do Ceará (Fortaleza, CE). Centro de Ciências Agrárias. **Relatório de pesquisa 1988: criação e difusão de novos cultivares de feijão-de-corda para o estado do Ceará**, Fortaleza: UFC/CCA/FCPC, 1990. p.1-5.

TEÓFILO, E. M.; PAIVA, J. B.; VIDAL, M. J. Estudo de caracterização e renovação de estoques de 143 cultivares de feijão-de-corda, **Vigna sinensis** (L.) Savi. In: Universidade Federal do Ceará (Fortaleza, CE). Centro de Ciências Agrárias. **Relatório de pesquisa 1987: criação e difusão de novas cultivares de feijão-de-corda para o estado do Ceará**. Fortaleza: UFC/CCA/FCPC, 1989. p. 1-18.

WATT, E. E. First annual report on the EMBRAPA/IITA – Cowpea Program in Brasil. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1978. 55 p.

Avaliação e Multiplicação de Genótipos de Pimenta-de-Cheiro

Liliane dos Santos Oliveira
Silfran Rogério Marialva Alves
Ricardo Lopes
Lucifrancy Vilagelim Costa
Januário Macedo Viana Júnior
Raimundo Nonato Vieira da Cunha

Resumo

O grupo pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) é muito apreciado na região Norte do Brasil e cultivado por pequenos produtores, sendo importante fonte de renda para a agricultura familiar. Existe grande variabilidade genética nesse grupo, que carece de caracterização e avaliação. Não existem variedades com características agronômicas definidas para recomendação de plantio, o que resulta em baixa produtividade e qualidade dos frutos. Este projeto teve por objetivos dar continuidade à avaliação de genótipos dessa espécie em um experimento instalado em fevereiro de 2008; selecionar e multiplicar os genótipos de melhor desempenho visando ao desenvolvimento de futuras variedades. Foram avaliados 23 genótipos de diferentes origens. O experimento foi instalado em DBC com três repetições e seis plantas por parcela. Foram avaliadas as características: número de frutos, peso médio de frutos, comprimento e diâmetro do fruto e relação comprimento/diâmetro do fruto. Os dados foram submetidos à análise de variância e a teste de médias (Tukey 5%). Os genótipos Guajará I, Manacapuru III, Manacapuru V, Oiriximiná II e São Gabriel da Cachoeira I têm potencial no desenvolvimento de espécies melhoradas, portanto recomendadas a autofecundação e a recombinação no delineamento genético dialelo desses genótipos.

Termos para indexação: *Capsicum chinense*, seleção, melhoramento genético.

Introdução

As pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) compõem uma importante parte do mercado de hortaliças frescas do Brasil e também do forte segmento de condimentos, temperos e conservas, em nível mundial. O Brasil é um importante centro secundário de espécies domesticadas do gênero *Capsicum*, possuindo considerável diversidade em *C. annuum* var. *annuum*, *C. bacatum* var. *pendulum*, *C. frutescens* e *C. chinense*. Verifica-se ampla variabilidade quanto aos principais caracteres morfológicos, como formato, tamanho, cor e posição de flores e frutos, número de pedicelo por nó e folhas, o que condiciona uma ampla diversidade de tipos. A distinção entre as espécies tem sido feita considerando-se várias características morfológicas, bioquímicas e citológicas, em conjunto (MCLEOD et al., 1982).

Pickersgill (1997), estudando a importância dos recursos genéticos no melhoramento de *Capsicum* spp., concluiu que a diversidade disponível dentro das espécies domesticadas tem sido pouco explorada.

De modo geral, essa hortaliça apresenta flores hermafroditas e, como sistema de reprodução, a autofecundação, sendo, portanto, autocompatível. Entretanto, os níveis de polinização cruzada variam entre as espécies. O elevado grau de polinizações cruzadas é devido, primeiro, à presença de numerosos insetos polinizadores; segundo, ao fato de as anteras serem deiscentes durante dois a três dias após a abertura da flor. Antes que a deiscência se manifeste, o estigma é receptivo ao pólen transmitido por outras plantas (BREESE, 1989).

Nas espécies domesticadas, o estigma se encontra no mesmo nível das anteras, aumentando a possibilidade de autopolinização, enquanto que, nas espécies selvagens, o estigma está acima das anteras, facilitando a fecundação cruzada (CASALI e COUTO, 1986). A autoincompatibilidade observada nesse gênero está restrita a apenas algumas espécies ou a exemplares centralizados na Bolívia e áreas adjacentes, e é do tipo gametofítica (PICKERSGILL, 1991).

Em relação à produção, diferente do pimentão, as pimentas apresentam certa rusticidade em campo e ciclo mais longo, no qual o período de colheita pode estender-se por mais um ano (REIFSCHNEIDER, 2000).

Embora as pimentas tenham alcançado posição de destaque na olericultura nacional, as informações sobre *C. chinense* são escassas. As pimentas são importante fonte de renda para os pequenos produtores familiares, que apresentam baixa utilização de insumo para condução do plantio e dispõem de pouca mão de obra qualificada durante as colheitas. O produtor ainda não dispõe de variedades com características definidas para o plantio, ocorrendo segregação genética que resulta em baixa produtividade e qualidade de frutos. Contudo, existe ampla variabilidade no grupo pimenta-de-cheiro quanto aos caracteres morfológicos e agrônômicos (CHAVES et al., 2006), o que possibilita a seleção e o melhoramento genético de genótipos superiores para obtenção de variedades com alta produtividade, qualidade de frutos, resistência a pragas e doenças, proporcionando aumento da renda do produtor e qualidade do produto.

Este trabalho foi desenvolvido com os objetivos de selecionar e multiplicar genótipos de pimenta-de-cheiro com alta produtividade e qualidade de frutos, estimar parâmetros genéticos utilizados na definição de estratégias para o melhoramento genético da pimenta-de-cheiro e fazer cruzamentos entre os genótipos selecionados visando à obtenção de populações segregantes, para prosseguir com o trabalho de melhoramento genético.

Material e Métodos

O experimento foi instalado em delineamento experimental de blocos ao acaso, com 23 tratamentos (genótipos), 3 repetições e 6 plantas por parcela no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental do Km 29, Rodovia AM-010, Manaus, Amazonas.

Foram avaliados 23 genótipos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) de diferentes origens (Tabela 1), sendo 17 de municípios do Estado do Amazonas, entre eles: Manaus, Rio Preto da Eva, São Gabriel da Cachoeira, Tabatinga, Benjamin Constant e Manacapuru, e 5 do Município de Oriximiná, no Pará, e 1 de Guajará-Mirim, em Rondônia.

As sementes dos genótipos foram semeadas no dia 20 de dezembro de 2007, em tubetes preenchidos com substrato Plantmax para hortaliças e frutos. O plantio no campo foi realizado no dia 20 de fevereiro de 2008, após 52 dias do início da germinação, quando as plantas apresentavam de 6 a 8 folhas definitivas e cerca de 10 cm de altura.

Tabela 1. Origem dos vinte e três genótipos de pimenta-de-cheiro avaliados no experimento. Embrapa Amazônia Ocidental, 2009.

Código do genótipo	Local de origem
BEN - III	Benjamin Constant, AM
BEN - IV	Benjamin Constant, AM
DBI - I	Mercado de Manaus, AM
GUA - I	Guajará-Mirim, RO
MAN - I	Manaus, AM
MAN - II	Manaus, AM
MAO - III	Rodovia AM-010, AM
MAO - IX	Rodovia AM-010, AM
MAO - VII	Rodovia AM-010, AM
MPR - III	Manacapuru, AM
MPR - V	Manacapuru, AM
ORX - I	Oriximiná, PA
ORX - II	Oriximiná, PA
ORX - III	Oriximiná, PA
ORX - IV	Oriximiná, PA
ORX - V	Oriximiná, PA
RPE - V	Rio Preto da Eva, AM
SGC - XI	São Gabriel da Cachoeira, AM

Foi realizada a análise de solo, e a acidez foi corrigida para faixa de pH 6,0 com realização de calagem 60 dias antes do plantio. O plantio foi realizado no espaçamento de 1,0 m entre linhas e 0,80 m entre plantas em covas de 20 cm x 20 cm. Antes do plantio foi aplicado 1,5 kg de esterco de galinha/cova. Adubação de cobertura foi realizada quinzenalmente utilizando formulação de NPK em quantidades definidas com base no resultado da análise de solo e das recomendações para a cultura. A eliminação de plantas daninhas foi realizada através de capina manual. Pragas e doenças que incidiram na cultura, apresentando danos significativos, foram controladas de acordo com recomendação da literatura.

Na definição do tamanho de amostra para análise das características de frutos dos genótipos, considerou-se, inicialmente, uma amostra de 40 frutos, número que foi considerado adequado

para representar a parcela. Para estabelecer o número mínimo de amostras de frutos por amostra, representando a parcela com precisão semelhante à de 40 frutos, foi utilizada a técnica de simulação e analisados os parâmetros média, variância e coeficiente de variação das características de fruto a partir de tamanhos de amostra reduzidos, variando de 2 a 38 frutos, com 100 amostragens para cada tamanho simulado em um processo de amostragem com reposição de dados. Para amostra com dois frutos, por exemplo, foram sorteados os valores de 2 dos 40 frutos e calculada a média desses valores, em seguida os valores foram repostos, e realizado novo sorteio de 2 valores, sendo calculada novamente a média. Esse processo foi repetido 100 vezes. Das 100 médias, calculou-se, então, a média, a variância e o coeficiente de variação. Esse procedimento foi repetido para cada tamanho de amostra analisado. Na determinação do tamanho mínimo da amostra foram analisadas as características de peso médio de frutos, comprimento, diâmetro de fruto, número de sementes e peso de sementes de três genótipos.

As colheitas foram iniciadas na 9ª semana após o plantio (22/4/08), sendo realizadas colheitas semanais de frutos até a 34ª semana (31/10/08), e avaliadas as seguintes características:

- Número de frutos por planta (NF).
- Peso total de frutos por planta (PTF) (g), pela pesagem do total de frutos colhidos usando balança digital.
- Peso médio de frutos (PMF) (g), obtido pela relação entre PTF/NF.

Foram também analisadas as características dos frutos:

- Comprimento (cm), medido com paquímetro (CF).

- Diâmetro (cm), medido na parte mais larga do fruto, com paquímetro (DF).
- Relação comprimento/diâmetro (RCDF).

Os genótipos de melhor desempenho foram selecionados para autofecundação e as progênies, submetidas a novos testes de campo. O processo será repetido até que as progênies apresentem estabilidade nas características avaliadas e possam ser lançadas como cultivares. Também serão efetuadas recombinações no delineamento genético dialelo parcial dos genótipos entre os selecionados, visando obter populações segregantes.

Resultados e Discussão

Para o tamanho da amostra foram obtidos os intervalos de confiança (IC) ($P = 95\%$), e o tamanho mínimo considerado foi aquele a partir do qual todas as réplicas da simulação proporcionaram valores da média dentro do IC. Para os três genótipos foram obtidos os seguintes tamanhos mínimos de amostra: PF = 19, 22 e 22; CF = 15, 21 e 22; DF = 20, 21 e 24; NS = 20, 21 e 25; e PS = 23, 23 e 25 (Tabela 2). Com base nesses dados foi estabelecido o número mínimo de 25 frutos, o que possibilita avaliar todas as características de fruto.

O resumo da análise de variância é apresentado na Tabela 3. Foram evidenciados efeitos significativos ($P < 0,05$) de genótipos para todas as variáveis avaliadas, indicando variabilidade genética das características entre os genótipos estudados, com possibilidade de seleção de genótipos superiores. Para pimenta-de-cheiro, não existe classificação para valores do coeficiente de variação (CV%), porém sabe-se que características quantitativas e avaliadas em experimentos de campo, como pro-

dução de frutos, sofrem maior influência ambiental, nesse sentido pode-se considerar como aceitáveis os valores observados para produção total de frutos por planta (PTF), 31,6%, e número de frutos por planta (NF), 31,5%. Valores superiores a 20% para as características PTF e NF também foram observados em pimentas-de-cheiro por Lima et al. (2006). Para as características morfológicas de frutos relacionadas às suas qualidades para o mercado, também quantitativas mas com menor influência ambiental devido à metodologia de amostragem e de medição, os valores de CV% foram inferiores ao de produção, variando de 7,8% (DF) a 16,2% (PF). De acordo com esses resultados pode-se considerar que o experimento foi adequadamente conduzido e que se obteve precisão experimental satisfatória.

Tabela 2. Tamanho mínimo de amostra para avaliação das características de frutos de três acessos de pimenta-de-cheiro.

Acesso	Característica	Tamanho mínimo da amostra
1	CF	22
2	CF	21
3	CF	15
1	DF	20
2	DF	21
3	DF	24
1	PF	19
2	PF	22
3	PF	22
1	NS	20
2	NS	21
3	NS	25
1	PS	23
2	PS	23
3	PS	25

Tabela 3. Análise de variância das características peso médio de frutos (PMF), comprimento de fruto (CF), diâmetro de fruto (DF) e relação comprimento/diâmetro (RCDF) avaliadas em 23 genótipos de pimenta-de-cheiro. Embrapa Amazônia Ocidental, 2009.

Variável	QMT	QMR	F	PROB	CV%
PTF	392861847,08	50272835,64	7,8146	0,0000	31,6
NF	5973287,80	760149,18	7,8580	0,0000	31,5
PMF	5,1612	1,3535	3,8131	0,0000	14,3
PF	6,3775	1,0639	5,9947	0,0000	16,2
CF	300,3945	31,1669	9,6383	0,0000	10,4
DF	22,5222	3,2081	7,0204	0,0000	7,8
RCDF	0,8706	0,0681	12,791	0,0000	11,0
EF	0,1817	0,0211	8,6215	0,0000	8,8

As médias dos genótipos são apresentadas na Tabela 4. A produção total de frutos por planta (PTF) variou de 7,46 kg (TAB-III) a 42,18 kg (ORX-II) com média de 22,43 kg. O teste de média separou os 23 genótipos em três grupos, quanto a PTF, sendo o grupo de melhor

desempenho para a característica formada pelos genótipos ORX-II (42,18 kg), MPR-V (40,30 kg), MPR-III (38,43 kg), GUA-I (36,46 kg), SGC-XI (33,18 kg), SGC-VIII (32,05 kg) e MAO-III (31,46 kg).

Tabela 4. Médias das características peso total de frutos por planta (PTF), número de frutos por planta (NF), peso médio de frutos (PMF), comprimento de fruto (CF), diâmetro de fruto (DF), relação comprimento diâmetro de fruto (RCDF), espessura do fruto (EP) e tamanho de semente (TS) avaliadas em 23 genótipos de pimenta-de-cheiro.

Genótipo	PTF (kg)	NF	PMF (g)	CF (mm)	DF (mm)	RC	Dfef (mm)
ORX-II	42,18 a	4.504,00 b	9,32 a	75,12 a	23,11 c	3,25 a	1,71 b
MPR-V	40,30 a	4.674,00 b	8,65 a	58,20 b	22,82 c	2,56 b	1,81 b
MPR-III	38,43 a	4.077,67 b	9,38 a	56,02 b	24,90 b	2,25 c	1,71 b
GUA-I	36,46 a	6.738,00 a	5,41 b	57,62 b	19,65 c	2,92 a	1,78 b
SGC-XI	33,18 a	3.984,00 b	8,62 a	49,10 c	25,52 b	1,92 c	2,10 a
SGC-XVII	32,05 a	3.707,67 b	8,78 a	47,27 c	24,77 b	1,91 c	1,72 b
MAO-III	31,46 a	2.815,33 c	11,17 a	58,51 b	24,10 c	2,43 b	2,08 a
MAO-IX	28,77 b	2.806,00 c	10,35 a	51,29 c	23,06 c	2,23 c	2,08 a
MAO-VII	26,11 b	2.704,00 c	9,56 a	52,81 c	23,79 c	2,23 c	1,85 b
ORX-I	26,03 b	3.048,00 c	8,61 a	68,48 a	21,74 c	3,15 a	1,41 c
ORX-2	23,99 b	2.932,67 c	8,21 a	68,66 a	22,51 c	3,04 a	1,57 c
MAN-I	23,36 b	3.283,33 c	7,2 b	32,14 e	32,45 a	0,99 e	1,81 b
MAN-II	22,74 b	3.181,67 c	7,29 b	42,30 d	26,53 b	1,59 d	1,83 b
TAB-V	16,76 c	2.039,67 d	7,79 b	53,02 c	21,88 c	2,42 b	1,34 c
ORX-IV	13,84 c	1.704,33 d	8,04 b	62,21 b	20,65 c	3,10 a	1,60 c
TAB-I	12,38 c	1.606,67 d	8,59 a	62,93 b	22,79 c	2,77 b	1,56 c
RPE-V	11,60 c	2.052,67 d	6,34 b	45,96 c	21,34 c	2,19 c	1,39 c
BEM-IV	11,10 c	1.654,00 d	6,74 b	49,43 c	20,69 c	2,39 b	1,46 c
DBI-I	10,56 c	1.452,33 d	7,37 b	58,89 b	22,33 c	2,65 b	1,54 c
TAB-II	10,41 c	1.179,00 d	8,34 a	42,25 d	21,80 c	1,94 c	1,40 c
BEM-III	9,03 c	1.251,33 d	7,24 b	49,54 c	20,08 c	2,46 b	1,30 c
ORX-V	7,70 c	1.140,33 d	7,39 b	49,15 c	19,91 c	2,47 b	1,30 c
TAB-III	7,46 c	1.094,33 d	7,09 b	41,79 d	22,25 c	1,89 c	1,53 c
Média	22,43	2.766,57	8,15	53,60	22,99	2,38	1,65

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

Para NF observou-se variação de 1,094,3 (TAB-III) a 6,738,0 (GUA-I) com média de 2,766,57. No teste de médias, os genótipos foram agrupados em quatro classes, destacando-se o genótipo GUA-I, que produziu 6.738,0, valor estatisticamente superior a todos os demais genótipos, em seguida foram agrupados mais quatro genótipos: MPR-V (4.674,0 frutos), ORX-II (4.504,0 frutos), MPR-III (4.077,7 frutos), SGC-XI (3.984,0 frutos) e SGC-XVII (3.707,7 frutos). Esses genótipos correspondem aos que

foram agrupados no grupo de maior PTF, fato em concordância com o valor da correlação entre essas características, 0,99, como apresentado na Tabela 5.

O PMF variou de 11,17g (MAO-III) a 5,41g (GUA-I) com média de 8,97g e os genótipos foram agrupados em duas classes pelo teste de médias. Dos genótipos que apresentaram maior PTF e maior NF, apenas GUA-I não foi agrupado no grupo com PMF superior. A correlação entre PTF e PMF foi de 0,67 e entre NF e

PMF 0,29, os resultados indicam que é possível obter genótipos com alta produtividade e peso médio de fruto, características prioritárias para o desenvolvimento de cultivares.

Tabela 5. Correlações genéticas das características peso total de frutos por planta (PTF), número de frutos por planta (NF), peso médio de frutos (PMF), comprimento de fruto (CF), diâmetro de fruto (DF), relação comprimento diâmetro de fruto (RCDF), espessura da polpa (EP) e tamanho da semente (TS), avaliadas em 23 genótipos de pimenta-de-cheiro.

	NF	PMF	CF	DF	RCDF
PTF	0.99	0.67	0.51	0.43	0.25
NF		0.29	0.41	0.33	0.26
PMF			0.46	0.36	0.16
CF				-0.53	0.99
DF					-0.80

Para as características relacionadas ao tamanho do fruto verificou-se maior discriminação dos genótipos para CF, que variou de 32,14 mm (MAN-I) a 75,12 mm (ORX-II) com média de 53,60 mm, sendo os genótipos discriminados em cinco grupos pelo teste de médias, o DF variou de 19,65 mm (GUA-I) a 32,45 mm (MAN-I) com média de 22,99 mm, sendo os genótipos separados em três classes pelo teste de médias. A RCDF, indicativo do formato do fruto, variou de 0,99 (MAN-I) a 3,25 (ORX-II) com média de 2,38. Souza e Maluf (2003), avaliando a relação do comprimento/diâmetro, obtiveram valores que variaram de 0,84 a 4,34 em genótipos de *Capsicum chinense*, valores similares observados neste estudo. A correlação entre CF e DF negativa, 0,51, indicando que a seleção de frutos mais compridos resulta em frutos com menor diâmetro e consequentemente com maior RCD (vide

correlação entre CF e RCDF, 0,99) (Tabela 5).

Os consumidores geralmente preferem pimentas-de-cheiro com maior tamanho, mas a forma muito alongada, ou seja, frutos muito compridos, porém com pouco diâmetro, são menos atrativos. Deve-se buscar a seleção de frutos com maior diâmetro mas com RCDF também alta. Genótipos com essas características podem ser obtidos a partir de populações segregantes de cruzamentos entre genótipos de frutos mais compridos com genótipos que produzem frutos com maior diâmetro. Para obtenção da cultivar com elevada produtividade e características de fruto que atendam as exigências do consumidor, a partir dessas populações segregantes, é necessário realizar a seleção simultânea de caracteres empregando índices de seleção que deem valores às características de acordo com sua importância, ou seja, como exemplo podemos avaliar se é mais vantajoso aumentar a produtividade em 20% e o tamanho do fruto em 5% ou a produtividade em 15% e o tamanho do fruto em 10%. Para saber se é possível realizar esses ganhos, deve-se estimar parâmetros genéticos e correlações entre caracteres e depois definir índices de seleção adequados.

A EF variou de 1,30 mm (BEN-III) a 2,10mm (SGC-XI) com média de 1,65mm. Essa característica é de importância comercial porque, além de serem mais pesados, os frutos com maior EF geralmente têm maior resistência na pós-colheita. As correlações entre EF e PTF, NF e PMF são altas, demonstrando que não haverá dificuldade na obtenção de genótipos com alta produtividade, maior tamanho e peso de frutos e com maior espessura da polpa.

Conclusões

Os genótipos avaliados apresentam alta variabilidade genética para produção e característica de fruto de interesse comercial, o que deverá possibilitar o desenvolvimento de cultivares com alta rentabilidade para o produtor.

Recomenda-se a autofecundação e a recombinação no delineamento genético diallelo parcial dos genótipos GUA-I, MPR-III, MPR-V, ORX-I e SGC-XI.

Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Ocidental, pela oportunidade de estágio.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

Aos funcionários do Laboratório de Dendê e Agroenergia, pelo apoio na condução do experimento.

Referências

BREESE, L. Multiplication and regeneration of germoplasm. In: STALKER, H. T.; CHAPMAN, C. (Ed.). **Scientific management of germoplasm: characterization, evolution and enhancement**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1989. p. 17-22.

CASALI, V. W. D.; COUTO, F. A. A. Origem e botânica de *Capsicum*. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 113, 1986.

MCLEOD, M. J.; ESHBAUGH, W. H.; GUTTMAN, S. I. Early evolution of chilli peppers (*Capsicum*). **Economic Botany**, New York, v. 34, n. 4, p. 261-68, 1982.

CHAVES, A. D. et al. Caracterização e divergência genética de acessos de pimenta-de-cheiro. **Horticultura Brasileira**, (Suplemento – CD-ROM), v. 24, n. 1, p. 1404-07, 2006. Trabalho apresentado no 46º Congresso Brasileiro de Olericultura, Goiânia, GO.

LIMA, M. V. L. et al. Produção de frutos e parâmetros genéticos em pimenta-de-cheiro. **Horticultura Brasileira**, (Suplemento – CD-ROM), v. 20, n. 1, p. 1404-07, 2006. Trabalho apresentado no 46º Congresso Brasileiro de Olericultura, Goiânia, GO.

PICKERSGILL, B. Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. In: TSUCHIYA, T.; GUPTA, P. K. (Ed.). **Chromosome engineering plants: genetics, breeding evolution**. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 139-60.

PICKERSGILL, B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. **Euphytica**, v. 96, p. 129-133, 1997.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Capsicum: pimentas e pimentões do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação de Transferência de Tecnologia, 2000. 113 p.

SOUSA, J. A.; MALUF, W. R. Diallel analyses and estimation of genetic parameters of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). **Scientia Agricola**, v. 60, n. 1, p. 105-113, jan./mar. 2003.

Isolamento e Conservação de *Moniliophthora perniciosa* Oriunda de Tecidos Infectados de Cupuaçuzeiro

Gilvana Figueira Gualberto
Maria Geralda de Souza
Átila de Souza

Resumo

A vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, é a principal doença do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*), constituindo-se num dos maiores entraves para a expansão da cultura no Estado do Amazonas. A doença é endêmica na região, e a utilização de materiais genéticos resistentes a ela é considerada a solução mais econômica, estável e ambientalmente desejável. A variabilidade genética do patógeno, bem como a ausência de métodos consistentes para a avaliação precoce da resistência das plantas, tem limitado a identificação de novas fontes de resistência e, conseqüentemente, a incorporação de novos genótipos de interesse ao programa de melhoramento. Assim o objetivo deste trabalho foi coletar e armazenar isolados de *M. perniciosa* de tecido infectado de *Theobroma* sp. Obteve-se um total de 17 isolados, sendo 16 do Amazonas e 1 do Acre, dos seguintes hospedeiros: 13 de *Theobroma grandiflorum*; 1 de *Theobroma caçãõ*; 1 de *Theobroma obovatum*; 1 de *Theobroma mariae*; e 1 de *Theobroma subincanum*.

Termos para indexação: vassoura-de-bruxa, *Theobroma* sp., biologia molecular.

Introdução

A vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer, agora denominado *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) (AIME e PHILLIPS-MORA, 2005), é a principal doença do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Wilt ex. Spreng), constituindo-se em um dos maiores entraves para a expansão da cultura no Estado do Amazonas. Trata-se de uma doença endêmica na região amazônica, e as estratégias de controle para a redução do inóculo incluem aplicação de métodos químicos, manejo e poda fitossanitária, que consiste na remoção dos ramos e frutos doentes, entretanto possuem custo elevado em mão de obra (OLIVEIRA et al., 2005; LIMA e SOUZA, 1997).

As informações sobre o controle químico da vassoura-de-bruxa são resultantes de testes realizados em cacauzeiro (BASTOS e EVANS, 1979; BASTOS, 1980), e a utilização de materiais genéticos, resistentes à doença, é considerada a solução mais econômica, estável e ambientalmente desejável (OLIVEIRA et al., 2005). Nesse sentido, o programa de melhoramento do cupuaçuzeiro da Embrapa Amazônia Ocidental tem sido direcionado para o aproveitamento imediato da variabilidade genética contida nos ensaios, por meio de seleção de clones que combine alta produtividade e resistência à vassoura-de-bruxa.

A variabilidade do patógeno, bem como a ausência de métodos consistentes para a avaliação precoce da resistência à *M. perniciosa*, tem limitado a identificação de novas fontes de resistência e, conseqüentemente, a incorporação de novos genótipos de interesse ao programa de melhoramento (ANDEBRAHAN et al., 1998). Assim a

determinação da diversidade genética do patógeno é um importante componente na seleção de genótipos resistentes ou tolerantes, os quais poderão ser usados no programa de melhoramento da cultura do cupuaçu. Estudo dessa diversidade genética de isolados pode auxiliar na escolha de regiões com maior diversidade de isolados para serem usados na seleção de plantas resistentes. Portanto é de fundamental importância o conhecimento da diversidade das populações de patógenos. A variação genética entre isolados de *M. perniciosa* de cacauzeiro de várias regiões da Amazônia Brasileira foi estudada por diversos autores (ALMEIDA e ANDEBRHAN, 1984; BASTOS, 1990; NIELLA et al., 2001), entretanto pouco se sabe a respeito de *M. perniciosa* de cupuaçuzeiro.

Assim, o objetivo deste projeto foi dar continuidade aos trabalhos que visam obter maior número de isolados de *M. perniciosa*, oriundos de algumas regiões da Amazônia.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada no Km 29 da Rodovia AM-010, em Manaus, AM.

Obtenção e cultivo de isolados de *M. perniciosa*

O fungo foi isolado por métodos de isolamento indireto e direto. No isolamento indireto, os isolados foram obtidos a partir de partes de tecido vegetal infectado (vassoura verde). Após assepsia superficial, fragmentos do material foram colocados em meio BDA + benlate. No isolamento direto, os isolados foram obtidos por meio de esporos liberados de basidiocarpos de *M. perniciosa*. Após

coleta nos vassoureiros e no campo, foi feita a assepsia; os basidiocarpos foram imersos em solução de cloranfenicol a 1% por 1 minuto e lavados, por 3 vezes, em água destilada, posteriormente foram fixados com vaselina na tampa de uma placa de petri, contendo meio ágar-água (AA), onde, após overnight, os esporos foram liberados. Após o desenvolvimento da colônia, o fungo foi repicado para meio BDA, enriquecido com MLGA (1,7 g de extrato de malte, 5 g de extrato de levedura, 50 g de glicerol, 20 g de ágar). Aos 14 dias de crescimento, os isolados foram transferidos para frascos de 250 mL, contendo 50 mL de meio líquido (1,7 g de extrato de malte, 5 g de extrato de levedura, 50 g de glicerol), e submetidos à agitação de 120 rpm por um período de 10 a 14 dias, para obtenção da massa micelial. O micélio foi coletado por filtração, lavado em água destilada, seco com papel toalha e armazenado em freezer para posterior extração do DNA.

Obtenção de suspensão e conservação de esporos de *M. perniciosus*

Após coleta dos basidiocarpos nos vassoureiros e no campo, foi feita a assepsia e o procedimento de liberação de esporos como descritos anteriormente, porém substituiu-se a placa de meio AA por becker de 100 mL contendo 2 mL de solução de glicerol a 16%. Em seguida, o material foi deixado em temperatura ambiente em *overnight*. Posteriormente determinou-se a concentração de esporos utilizando-se câmara de Neubauer. As concentrações acima de 10⁶ esporos/mL foram armazenadas em ultrafreezer (freezer a -80° C) para preservação dos esporos.

Após a coleta, retirou-se o excesso de água dos basídios com o auxílio de papel toalha. Os basídios foram fixados com vaselina em tampa de placa de petri e colocados sobre a boca de um becker de 100 mL contendo 2 mL de glicerol 16%; o becker foi posto sobre o fundo de uma placa de petri contendo papel toalha úmido, a fim de se criar um ambiente com saturação de umidade, para que os basidiocarpos não sofressem ressecamento e para obter melhor aproveitamento da liberação de esporos.

Teste de conservação de isolados de *M. perniciosus* no método Castellani

Foram utilizados sete isolados de *M. perniciosus* para teste de conservação no referido método. Seis discos de micélio foram retirados das extremidades das colônias de cada isolado e transferidos para tubos com tampa rosqueável, contendo água destilada e esterilizada até o volume de aproximadamente metade da capacidade do recipiente. Após três meses, um disco de cada isolado foi repicado para placa de petri com meio enriquecido (MLGA, 1,7 g de extrato de malte, 5 g de extrato de levedura, 50 g de glicerol, 20 g de ágar). A avaliação foi feita após uma semana da repicagem, anotando-se o crescimento do fungo.

Coletaram-se 100 basidiocarpos e fez-se o processo de desinfecção com solução de estreptomomicina a 1%. Posteriormente os basidiocarpos foram armazenados em tubos com tampa rosqueável. Utilizaram-se cinco tubos com água e cinco tubos secos; em cada tubo foram colocados dez basidiocarpos. Após distribuição e identificação dos tubos, estes foram armazenados em

ultrafreezer (-80 °C). A avaliação foi realizada a cada sete dias, a partir do armazenamento, retirando-se do ultrafreezer um tubo com água e um tubo seco, seguindo os procedimentos de liberação de esporos descritos anteriormente.

Quantificação de basidiocarpos de *M. pernicioso*

Avaliaram-se dez vassouras secas por tratamento: 1) vassouras secas no campo não destacadas; 2) vassouras secas no campo destacadas; 3) vassouras secas destacadas e penduradas sob telado, submetidas a oito horas de molhamento; 4) vassouras secas destacadas e penduradas no laboratório, em caixas de vidro, submetidas a oito horas de molhamento. A avaliação foi feita diariamente, de março a maio de 2009.

Condições de cultivo

Após 15 dias de desenvolvimento, o fungo foi repicado para meio enriquecido. Aos 14 dias de crescimento, os isolados foram transferidos para frascos de 250 mL, contendo 50 mL de meio líquido (1,7 g de extrato de malte, 5 g de extrato de levedura, 50 g de glicerol), e submetidos à agitação de 120 rpm por um período de 10 a 14 dias, para obtenção da massa micelial. O micélio foi filtrado, lavado em água destilada e seco em papel toalha.

Resultados e Discussão

Obtenção e cultivo de isolados de *M. pernicioso*

Neste trabalho obteve-se um total de 17 isolados, destes a maioria é do Amazonas, sendo um do Acre. Os isolados foram obtidos dos seguintes hospedeiros: 13 de *T. grandiflorum*; 1 de *T. caçãõ*; 1 de *T. obovatum*; 1 de *T. mariae*; e 1 de *T. subincanum* (Tabela 1).

Tabela 1. Relação de isolados de *M. pernicioso* obtidos de *Theobroma* sp. de algumas regiões da Amazônia.

Hospedeiros	Local da coleta	Código
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Careiro Castanho, AM	Mp* 24
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Manacapuru, AM	Mp 25
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Rio Preto da Eva, AM	Mp 26
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Embrapa Acre, AC	Mp 27
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Campo Experimental do CPAA/Shift	Mp 28
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Autazes, AM	Mp 29
<i>Theobroma mariae</i>	Campo Experimental do CPAA/ Coleção de <i>Theobroma</i>	Mp 30
<i>Theobroma subincanum</i>	Campo Experimental do CPAA/ 60 ha	Mp 31
<i>Theobroma obovatum</i>	Campo Experimental do CPAA/ Coleção de <i>Theobroma</i>	Mp 32
<i>Theobroma cacao</i>	Campo Experimental do CPAA/Nagibão	Mp 33
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Campo Experimental do DAS, AM	Mp 34
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Balbina, AM	Mp 35
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Campo Experimental do DAS, AM	Mp 36
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Estrada de Presidente Figueiredo, Km 120, AM	Mp 37
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Manacapuru, AM	Mp 38
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Balbina, AM	Mp 39
<i>Theobroma grandiflorum</i>	Balbina, AM	Mp 40

* Mp = *Moniliophthora pernicioso*

Obtenção de suspensão e conservação de esporos de *M. pernicioso*

Obtiveram-se 34 suspensões de esporos, que foram armazenados em freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabela 2).

Tabela 2. Relação de suspensão de esporos em estoque no ultrafreezer do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Ocidental.

Nº de Registro	Concentração	Volume	Local
48	$1,4 \times 10^6$	1,86 mL	Rio Preto da Eva, AM
49	$0,8 \times 10^6$	2,0 mL	Acre, AC
50	$0,2 \times 10^6$	1,7 mL	Manacapuru, AM
51	$1,1 \times 10^6$	2,0 mL	Ceplac/ AM
52	$15,65 \times 10^6$	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
53	$17,15 \times 10^6$	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
54	$1,25 \times 10^6$	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
55	$0,2 \times 10^6$	1,2 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
56	$0,36 \times 10^6$	4,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
57	4×10^6	2,6 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
58	13×10^6	1,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
59	7×10^6	2,8 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
60	3×10^6	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
61	$0,12 \times 10^6$	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
62	4×10^6	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
63	$0,093 \times 10^6$	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
64	$0,35 \times 10^6$	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
65	17×10^6	2,8 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
66	5×10^6	2,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
67	$14,5 \times 10^6$	2,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
68	12×10^6	3,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
69	7×10^6	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
70	5×10^6	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
71	$2,01 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
72	$0,3 \times 10^6$	3,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
73	$2,95 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
74	$2,45 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
75	$1,35 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
76	$0,8 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
77	$0,2 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
78	$0,15 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
79	$4,8 \times 10^6$	1,7 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
80	$1,6 \times 10^6$	1,6 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
81	$1,25 \times 10^6$	1,5 mL	Embrapa Amazônia Ocidental
82	$0,78 \times 10^6$	4,0 mL	Embrapa Amazônia Ocidental

Todos os isolados do *M. pernicioso*, após três meses conservados pelo método Castellani, quando cultivados em meio enriquecidos, apresentaram crescimento micelial (Tabela 3).

Tabela 3. Crescimento micelial de isolados *M. pernicioso* após três meses de conservação em água.

Isolados	Crescimento micelial (3 meses)
Mp 21	+ (*)
Mp 22	+
Mp 24	+
Mp 25	+
Mp 28	+
Mp 29	+
Mp 35	+
Mp 07	+

(*)Os isolados marcados com + apresentaram crescimento.

Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Ocidental, pela logística cedida; à pesquisadora Maria Geralda de Souza, pela confiança em meu trabalho; ao pesquisador Gilvan Ferreira da Silva, pela coorientação; às equipes do Laboratório de Fitopatologia e de Biologia Molecular da Embrapa, pelo treinamento e apoio no desenvolvimento do trabalho; e ao CNPq, pela concessão da bolsa.

Referências

AIME, M. C.; PHILLIPS-MOURA, W. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia*, v. 97, p. 1012-1022, 2005.

ALMEIDA, L. C.; ANDEBRHAN, T. **Reação de clones de cacau à *Crinipellis pernicioso***. Belém, PA: CEPLAC/DEPEA, 1984. p. 73-146. (Informe de Pesquisa).

ANDEBRAHAN, T.; ALMEIDA, L. C.; NAKAYMA, L. H. I. Resistência de *Theobroma cacao* L. a *Crinipellis pernicioso* (Sthael) Singer: a experiência da Amazônia Brasileira. *Agrotropica*, Itabuna, v. 10, p. 49-60, 1998.

BASTOS, C. N. **Influência da temperatura na liberação de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* (Sthael) Singer**. Belém, PA: CEPLAC/CEPEC, 1980. p. 46-49. (Informe Técnico).

BASTOS, C. N.; EVANS, H. C. **Hospedeiros da vassoura-de-bruxa (*C. pernicioso*)**. Belém, PA: CEPLAC, 1979. 91 p. (Informe Técnico).

LIMA, M. I. M.; SOUZA, A. das G. C. **Diagnose das principais doenças do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) (Wild ex. Spreng.) e seu controle**. Manaus: Embrapa-CPAA, 1997. 18 p. (Embrapa-CPAA. Documentos, 9).

NIELLA, G. R. Diferenças na agressividade de isolados de *Crinipellis pernicioso* da região cacaueteira baiana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 346, 2001

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. **Identificação e Manejo das principais doenças do cacaueteiro no Brasil**. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC/SEFIT, 2005. 132 p.

Diversidade Genética de *Mycosphaerella fijiensis* no Estado do Amazonas

Álison Thiago Barbosa Pereira
Rodrigo Fernandes de Souza
Nelcimar Reis Sousa
Luadir Gasparotto
Rogerio E. Hanada
Gilvan Ferreira da Silva

Resumo

A banana constitui parte importante da alimentação e renda dos pequenos produtores rurais. No entanto, vários fatores limitam a produção, como o manejo inadequado e o ataque de doenças, entre as quais se destaca a sigatoka-negra, considerada a doença mais importante da bananeira, na maioria das regiões produtoras do mundo, causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis*. O presente estudo objetivou analisar a diversidade de 71 isolados, sendo 63 do Estado do Amazonas, por meio do marcador molecular *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). Após triagem, foram selecionados nove *primers* da lista set#9 (*primers* 801-900) da *University of British Columbia*. Obtiveram-se 107 bandas, 103 polimórficas, resultando num percentual de polimorfismo de 96,2% e média de 11,8 bandas polimórficas por iniciador. O marcador molecular ISSR apresentou elevado nível de polimorfismo demonstrando que os *primers* foram informativos e eficazes para estudo da diversidade genética de *M. fijiensis*. As análises de relacionamento genético indicaram que não houve associação entre similaridade genética e região de coleta.

Termos para indexação: *Mycosphaerella fijiensis*, fitopatógeno, ISSR.

Introdução

A sigatoka-negra foi originalmente identificada em Fiji, em 1963, e ultimamente está presente na maioria das áreas onde a bananeira é plantada (ARZANLOU et al., 2007). *M. fijiensis* é um fungo ascomiceto, heterotático, haploide durante a fase vegetativa do seu ciclo de vida. O ciclo sexual resulta em ascósporos que exercem papel importante na epidemiologia da doença. Após a deposição, tubos germinativos dos ascósporos ou conídios assexuados penetram os estômatos. Subsequentemente, durante a fase biotrófica, a hifa filamentosa cresce lentamente entre o mesófilo. Essa etapa é seguida pela etapa necrotrófica, resultando em morte celular, que torna as folhas totalmente necróticas. Como resultado, *M. fijiensis* enfraquece a capacidade fotossintética, reduz o tamanho do fruto e induz o amadurecimento precoce em bananeiras suscetíveis.

O fitopatógeno *M. fijiensis* foi detectado primeiramente no Amazonas, em 1998, no Município de Tabatinga, fronteira do Brasil com a Colômbia e o Peru. Desde então, alastrou-se rapidamente por todos os municípios do estado e tem se expandido rapidamente pelo País. A alta capacidade destrutiva do patógeno faz com que a doença adquira grande importância econômica e social (GASPAROTTO et al., 2006).

Vários trabalhos têm descrito a diversidade genética de populações de *M. fijiensis* (CARLIER et al., 1996; PEREA et al., 2005; RIVAS et al., 2004; ZAPATER et al., 2004), uma vez que o conhecimento das variações genéticas de uma população permite a compreensão dos processos evolutivos ocorridos e suas perspectivas futuras (BURDON e

SILK, 1997; MCDONALD e LINDE, 2002; ANDERSON et al., 2004).

O estudo da diversidade por meio de marcadores moleculares tem como vantagem o fato de estes permitirem ampla amostragem do genoma. Várias ferramentas moleculares são disponibilizadas para o estudo de diversidade em fungos, entre as quais se destacam: *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs), *Simple Sequence Repeats* (SSR), *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR), *Internal Transcribed Spacer* (ITS) e mais recentemente a técnica chamada de *Diversity Arrays Technology* (DArT), entre várias outras ferramentas disponíveis.

Os microssatélites, também chamados de SSR, são regiões no genoma eucarioto que possuem repetições em *tandem* de mono-, tri-, tetra-, penta- ou até mesmo hexanucleotídeos, que se repetem por diversas vezes de maneira idêntica (motivos). As sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, ou até mesmo entre espécies relacionadas, permitindo a confecção de *primers* específicos para amplificar essas regiões via PCR (POWELL et al., 1996; FISHER et al., 1996; HITE et al., 1996; PRIMMER et al., 1997; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; TÓTH et al., 2000; HAYDEN e SHARP, 2001). Os genomas cloroplástico e mitocondrial também possuem SSR, mas, em geral, trata-se de repetições mononucleotídicas (POWELL et al., 1996; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Os ISSRs (*Inter Simple Sequence Repeat*) são produtos de PCR obtidos usando *primers* com repetição de di-, tri-, tetra- ou pentanucleotídeos. Esse marcador é baseado na amplificação entre regiões de microssatélite e vem sendo extensivamente usado, nos últimos anos, em diferentes organismos, inclusive nos fungos *Acromyrmex* ssp. (ABRIL e BUCHER 2007), *Fusarium pseudograminearum* (MISHRA et al., 2006), *Beauveria bassiana* (ESTRADA et al., 2006), entre outros.

O marcador ISSR também vem sendo usado para separar as diferentes espécies de fungo. O trabalho realizado por Wang et al. (2005) mostrou que o marcador ISSR é capaz de separar diferentes espécies do gênero *Beauveria* spp., como *B. brongniartii*, *B. amorpha* e *B. velata*, e ainda conseguir diferenciar 100% dos indivíduos de *B. Bassiana*. Vale ressaltar que de 18 *primers* utilizados, quando aplicados somente em *B. Bassiana*, 8 apresentaram 100% de polimorfismo, demonstrando, assim, a eficácia do marcador em análise de diversidade genética intraespecífica.

Este trabalho objetivou analisar a diversidade de *M. fijiensis* por meio do marcador ISSR.

Material e Métodos

Microrganismo e condições de cultivo

Os isolados de *M. fijiensis* foram obtidos na coleção da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, e mantidos em Potato Dextrose Agar enriquecido. Para extração de DNA, os isolados foram crescidos em Potato Dextrose Broth líquido sob agitação de 120 rpm para

obtenção de massa micelial. O micélio foi recuperado por filtração, lavado com água autoclavada, seco com papel toalha e armazenado a -80 °C, para a extração.

Extração do DNA genômico

As extrações de DNA foram realizadas conforme o protocolo de Doyle e Doyle (1987). A quantificação foi efetuada com o auxílio do espectrofotômetro (NanoDrop-Thermo) e em gel de agarose 0,8% para análise da qualidade. Para a análise da diversidade, extraiu-se o DNA de 71 amostras de várias localidades (Tabela 1). Para fins de efeito comparativo foram incluídos, na análise, isolados de Roraima, Mato Grosso, São Paulo e um isolado causador da sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*).

Reação em Cadeia da Polimerase

As reações de PCR foram previamente padronizadas para *M. fijiensis* por Pereira et al. (2008). As reações foram realizadas em volume total de 15 μ L com 0,3 μ M de iniciador, 50 ng de DNA, 2 mM de MgCl₂ e 0,5 mM de dNTP e 1 U de *Taq* DNA polimerase (Phoentria). As condições de amplificação foram: um ciclo a 94 °C por 3 minutos, 40 ciclos a 94 °C por 30 s, e anelamento de acordo com cada *primer* por 1 minuto, e 72 °C por 2 minutos, extensão final a 72 °C por 7 minutos, as reações foram realizadas utilizando o termociclador Veriti™ (*Applied Biosystems*).

Tabela 1. Relação dos isolados de *M. fijiensis* oriundos dos municípios do Amazonas, de Roraima, de São Paulo e do Mato Grosso, provenientes do banco de isolados da Embrapa Amazônia Ocidental.

Identificação	Município	Coordenadas em GPS	
1	Presidente Figueiredo, AM	S 02° 03 324	W 59° 38 650
2	Presidente Figueiredo, AM	S 02° 03 346	W 59° 40 047
4	Manaus, AM	-	-
5	Presidente Figueiredo, AM	S 02° 03 329	W 59° 34 650
6	Manacapuru, AM	S 03° 17 338	W 60° 37 236
7	Manacapuru, AM	S 03° 16 252	W 60° 30 539
8	Manacapuru, AM	-	-
9	Manacapuru, AM	-	-
10	Manacapuru, AM	-	-
13	Manacapuru, AM	-	-
16	Manacapuru, AM	-	-
17	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 40 510	W 59° 33 602
18	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 44 069	W 59° 46 152
19	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 39 260	W 59° 34 051
20	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 43 599	W 59° 53 292
22	Itacoatiara, AM	S 03° 06 051	W 58° 43 214
23	Manacapuru, AM	S 03° 15 419	W 60° 39 152
24	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 43 040	W 59° 4 515
25	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 39 249	W 59° 34 087
27	Cajoti, SP	S 24° 43 325	W 48° 84 214
29	Rio Preto da Eva, AM	-	-
30	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 43 999	W 59° 53 485
31	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 41 535	W 59° 42 374
33	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 44 371	W 59° 29 399
37	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 42 956	W 59° 41 802
38	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 43 074	W 59° 41 859
40	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 42 996	W 59° 41 803
41	Rio Preto da Eva, AM	S 02° 51 594	W 59° 24 414
42	Rio Preto da Eva, AM	-	-
43	Itacoatiara, AM	S 03° 03 244	W 58° 46 100
45	Manaus, AM	S 02° 52 960	W 60° 02 091
46	Manaus, AM	S 02° 56 857	W 60° 01 664
47	Manaus, AM	S 02° 54 027	W 59° 54 520
49	Manaus, AM	S 02° 54 027	W 59° 54 520
51	Manaus, AM	S 02° 43 381	W 59° 55 413
52	Manaus, AM	S 02° 59 693	W 60° 04 472
54	Manaus, AM	S 02° 54 163	W 59° 54 150
58	Manaus, AM	S 02° 48 377	W 59° 55 400
59	Manaus, AM	S 02° 48 380	W 54° 55 407
60	Manaus, AM	S 03° 16 340	W 60° 38 493
61	Manacapuru, AM	S 03° 15 291	W 60° 38 062
62	Manacapuru, AM	S 03° 16 511	W 60° 38 280
64	Manacapuru, AM	S 03° 07 404	W 60° 22 043
66	Manacapuru, AM	S 03° 13 588	W 60° 07 317
67	Cáceres, MT	S 16° 10 980	W 57° 38 345
68	Manacapuru, AM	S 03° 16 509	W 60° 38 284
69	Manacapuru, AM	S 03° 15 397	W 60° 39 143

Tabela 1. Continuação

Identificação	Município	Coordenadas em GPS
72	Manacapuru, AM	S 03° 09 4508 W60° 24 153
75	Manacapuru, AM	S 03° 16 349 W 60° 38 486
79	Cáceres, MT	S 16° 09 484 W 57° 35 555
82	Cáceres, MT	S 16° 09 147 W 57° 37 914
84	Nossa Senhora do Livramento, MT	S 15° 46 338 W 56° 20 234
86	Cáceres, MT	S 16° 10 050 W 57° 36 202
92	Nossa Senhora do Livramento, MT (sigatoka-amarela)	S 15° 46 339 W 58° 20 526
97	Irاندuba, AM	S 03° 13 483 W 60° 07 505
99	Irاندuba, AM	S 03° 11 633 W 60° 08 392
100	Irاندuba, AM	S 03° 10 035 W 60° 06 341
101	Irاندuba, AM	S 03° 14 944 W 60° 08 838
102	Irاندuba, AM	S 03° 08 372 W 60° 14 286
103	Irاندuba, AM	S 03° 06 364 W 60° 09 377
105	Presidente Figueiredo, AM	S 01° 52 972 W 60° 04 326
112	Benjamin Constant, AM	S 04° 25 125 W 70° 03 420
119	Caroebe, RR	S 00° 47 820 W 59° 25 749
121	Caroebe, RR	S 00° 47 823 W 59° 25 722
123	Presidente Figueiredo, AM	S 02° 02 554 W 59° 37 295
127	Presidente Figueiredo, AM	S 02° 03 335 W 59° 38 652
134	Atalaia do Norte, AM	S 04° 22 598 W 70° 10 356
146	Atalaia do Norte, AM	S 04° 22 570 W 70° 10 490
149	São Gabriel da Cachoeira, AM	S 00° 09 074 W 67° 00 972
150	Itacoatiara, AM	S 03° 03 520 W 58° 50 140
153	São Gabriel da Cachoeira, AM	S 00° 05 683 W 67° 04 747

Seleção de *Primers*

A sequência dos *primers* usados para amplificação das regiões ISSR foi baseada na lista set#9 (*primers* 801-900) da *University of British Columbia* (UBC). Para triagem dos *primers* que amplificam bandas com perfil polimórfico em *M. fijiensis*, utilizou-se uma amostra de DNA. Os produtos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% contendo 0,3 μg de brometo de etídio por mL.

Análise de dados

Os produtos de amplificação foram visualizados em gel de agarose 1,5% e utilizados na elaboração de uma matriz de similaridade genética, por meio do registro da presença (1) e da ausência (0) de bandas no perfil eletroforético de cada isolado. A similaridade genética foi estimada por meio do coeficiente de Jaccard, e, para visualizar a forma de agrupamento dos isolados, foi elaborado o dendograma empregando-se o método de agrupamento da distância média (UPGMA- *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), utilizando o programa *NTSYSpc*, versão 2.10 (ROHLF, 2000).

Resultados e Discussão

Seleção dos *Primers* ISSR

Após a padronização das condições de amplificação do marcador ISSR em *M. fijiensis*, realizou-se a seleção dos *primers*. Dos 100 *primers* testados, 53 amplificaram de 1 a 15 bandas e destes, 25 produziram mais de 5 bandas e foram selecionados. Na análise de polimorfismo com uma amostra de 10 isolados, apenas 16 *primers* apresentaram polimorfismo: 807, 829, 834, 836, 841, 856, 857, 861, 864, 881, 884, 885, 886, 889, 891 e 895. Nove *primers* foram selecionados para serem aplicados em todos os isolados (Tabela 2).

Os *primers* com blocos de repetição (AT e TA) com diferentes âncoras no sentido 3' (AT)₈T, (AT)₈G, (AT)₈C, (TA)₈A, (TA)₈C, (TA)₈G, (AT)₈YA, (AT)₈YC, (AT)₈YG, (TA)₈RT, (TA)₈RC e (TA)₈RG não amplificaram nos testes iniciais, provavelmente em razão de a triagem inicial

desses *primers* ter sido realizada em temperatura de anelamento mais alta (45 °C) do que a indicada, que é de 25 °C. Outra possibilidade seria a sequência de nucleotídeos que separa os dois *loci* de SSR estar além da capacidade de amplificação da enzima.

Análise da diversidade de *M. fijiensis* por meio do marcador ISSR

Os *primers* selecionados foram seis dinucleotídeos, dois trinucleotídeos e um pentanucleotídeo (Tabela 2). O iniciador 885 apresentou 15 bandas no total, sendo 86,6% polimórficas. Os *primers* 807, 841, 856, 861, 864 e 881 apresentaram 100% de polimorfismo. Com 13 bandas amplificadas e polimorfismo de 92,3% ficaram os *primers* 886 e 889, confirmando que o marcador ISSR é capaz de detectar diferenças entre isolados de *M. fijiensis*.

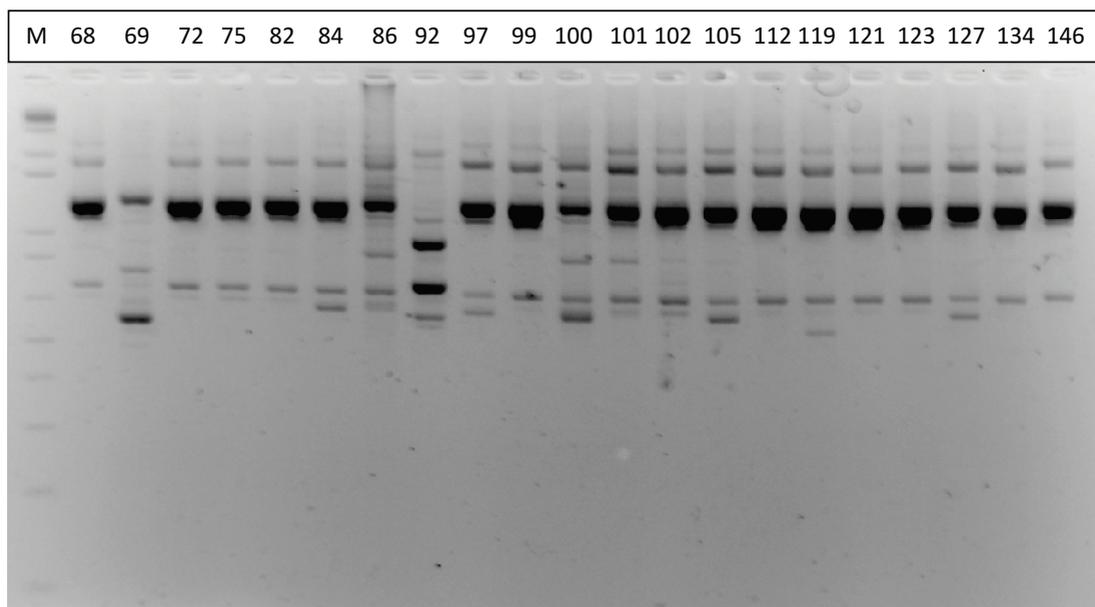
Tabela 2. Resultados dos nove *primers* selecionados para a análise da diversidade de *M. fijiensis*.

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Âncoras	Temperatura de Anelamento (°C)	Número de bandas amplificadas	Número de bandas polimórficas	Percentual de polimorfismo (%)
UBC 807	(AG) ₈	T	47,0	13	13	100%
UBC 841	(GA) ₈	YC	48,5	15	15	100%
UBC 856	(AC) ₈	YA	52,8	11	11	100%
UBC 861	(ACC) ₆	-	60,6	9	9	100%
UBC 864	(ATG) ₆	-	43,6	9	9	100%
UBC 881	(TGGGG) ₂	GGG- TG	59,3	9	9	100%
UBC 885	(GA) ₇	BHB-	48,3	15	13	86,6%
UBC 886	(CT) ₇	VDV-	48,4	13	12	92,3%
UBC 889	(AC) ₇	DBD-	50,1	13	12	92,3%
Total	-	-	-	107	103	

No total foram obtidas 107 bandas, destas 103 polimórficas, resultando em um percentual de polimorfismo de 96,2%, com média de 11,8 bandas polimórficas por *primer*. Somente três iniciadores não apresentaram 100% de polimorfismo (885, 886 e 889), com média de 1,33 fragmentos monomórficos por *primer*. Todos os *primers* testados apresentaram elevado número de bandas polimórficas, o que demonstra alta variabilidade genética entre os isolados. Os resultados aqui encontrados foram mais eficientes do que os obtidos por Meng e Chen (2001) por meio de 13

primers de ISSR em isolados de *Phialophora gregata*. Nossos dados também foram superiores aos encontrados por Qian et al. (2001), ao analisarem, com o marcador ISSR, a variação genética de *Oryza granulata* da China. Tal diferença pode ser justificada pela baixa diversidade genética existente na população chinesa de *O. granulata*.

Detectou-se um perfil de bandas diferenciado no isolado 92, o que era esperado por se tratar de outra espécie, *M. musicola* (Figura 1).



*A letra M representa o marcador 1 kb DNA ladder.

Figura 1. Gel de agarose a 1,5% mostrando o produto da amplificação do *primer* 807. Os números representam os isolados e a letra (M) representa o marcador 1kb DNA ladder.

O dendrograma construído a partir da matriz de similaridade de Jaccard mostra o relacionamento genético entre os 71 isolados (Figura 2). No geral, observou-se que não houve formação de grupos homogêneos por região. Notou-se que os isolados de municípios muito

próximos, como Manaus e Iranduba, não apresentaram alto grau de similaridade que resultasse na formação de um agrupamento. Porém, o dendrograma apresenta um grupo com 26 isolados com a predominância dos municípios de Manacapuru (8) e Rio Preto da Eva (13).

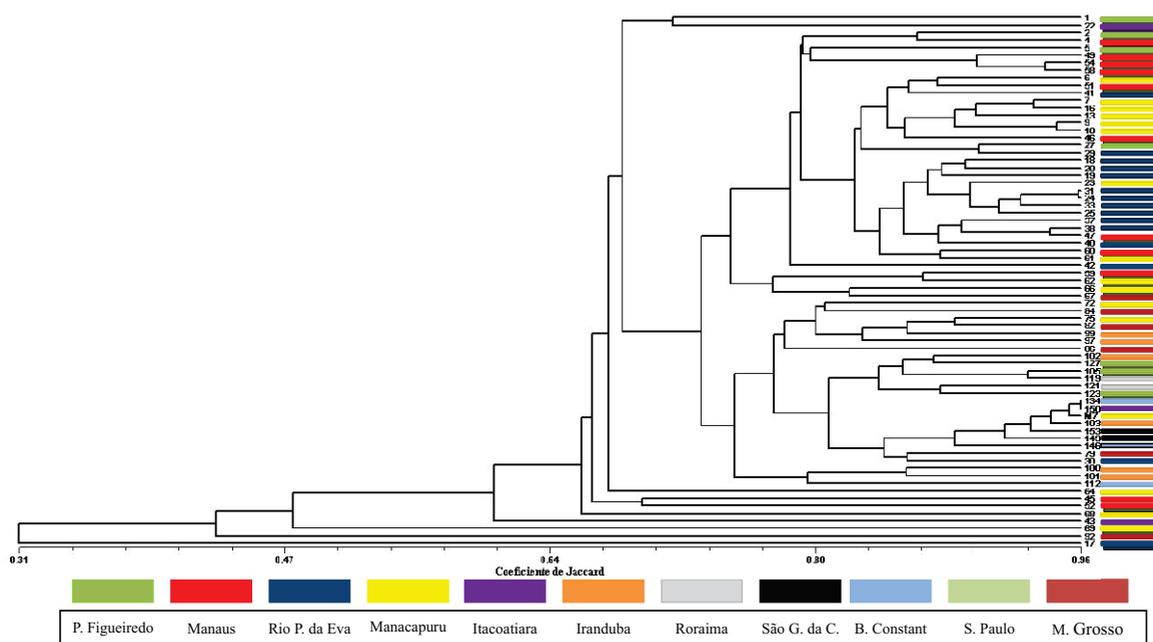


Figura 2. Dendrograma de similaridade genética de isolados de *M. fijiensis* provenientes de municípios do Amazonas e de outras localidades do Brasil.

Nossos dados indicam que não houve associação entre similaridade e região de coleta. Os isolados de Benjamin Constant e Itacoatiara (134 e 150) foram os mais relacionados (coeficiente similaridade igual a 0,96). Em contrapartida, alguns isolados provenientes da mesma localidade apresentaram grau de similaridade genética superior a 0,80, tais como o 9 e o 10. A divergência, aqui detectada, entre similaridade genética e região de coleta, pode ser atribuída à recente introdução desse fitopatógeno no Estado do Amazonas (PEREIRA et al., 1998a).

Conclusões

- O marcador ISSR é eficaz na discriminação de isolados de *M. fijiensis* do Estado do Amazonas.

- Os dados preliminares mostram que não houve relação direta entre similaridade e local da coleta.

Agradecimentos

A Deus, pela vida e por tudo.

Ao pesquisador Gilvan Ferreira, pela extrema paciência e orientação.

À pesquisadora Nelcimar Reis, pela ajuda e cooperação.

Ao Técnico Jeferson Cruz, pelos ensinamentos.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Fitopatologia, pelo apoio.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

À Embrapa, pelo espaço físico e pela oportunidade.

Referências

- ABRIL, A.B., BUCHER, E.H. Genetic Diversity of Fungi Occurring in Nests of Three Acromyrmex Leaf-cutting Ant Species from Cordoba, Argentina. *Microb Ecol.* Apr 29, 2007.
- ANDERSON, P.K., CUNNINGHAM, A.A., PATEL, N.G., MORALES, F.J., EPSTEIN, P.R., DASZAK, P. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology & Evolution.* 19(10):535-544, 2004.
- ARZANLOU, M., ABELN, E.C.A., KEMA, G. H. J., WAALWIJK, C., CARLIER, J., CROUS, P.W. Molecular diagnostics in the Sigatoka disease complex of banana. *Phytopatology*, v. 97, p.1112-1118, 2007.
- BURDON, J.J., SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. *Phytopathology* 87:664-669,1997.
- CARLIER, J., LEBRUN, M.H., ZAPATER, M.F., DUBOIS, C., MOURICHON, X. Genetic structure of the global population of banana black leaf streak fungus, *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology*, 5, 499–510, 1996.
- DOYLE, J.J., DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19:11-15. 1987.
- ESTRADA, M.E., CAMACHO, M.V., BENITO, C. The molecular diversity of different isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. as assessed using intermicrosatellites (ISSRs). *Cell Mol Biol Lett.* 2007;12(2):240-52, 2006
- FERREIRA, M.E., GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CERNAGEN, 220p, 1998.
- FISHER, P.J., GARDNER, R.C., RICHARDSON, T.E. Single locus microsatellites isolated using 5'anchored PCR. *Nucleic acids Research*, v.24, n. 21, p.4369-4371, 1996.
- GASPAROTTO, L., PEREIRA, J.C., R., HANADA, R.E., MONTORROYOS, A.V.V. **Sigatoka-negra da bananeira.** Manaus, 177p. 2006.
- HAYDEN M.J., SHARP, P.J. Targeted Development Of Informative Microsatellite (SSR) Markers. *Nucleic Acids Research*, V.29, N.8, 2001.
- HITE, J. M. et al. Factors Affecting Fidelity Of DNA Synthesis During PCR Amplification Of D(C-A)N D(G-T)N Micosatellite Repeats. *Nucleic Acids Research*, V.24, N.12, P.2429-2434, 1996
- MENG, X., CHEN, W. Applications of AFLP and ISSR techniques in detecting genetic diversity in the soybean brown stem rot pathogen *Phialophora gregata*. *Mycol. Res.* 105 (8): 936 ± 940, 2001.
- MISHRA, P.K., TEWARI J.P., CLEAR, R.M., TURKINGTON, T.K. Genetic diversity and recombination within populations of *Fusarium pseudograminearum* from western. Canada. *Int Microbiol*, v. 9, n.1, p.65-8, 2006.
- MCDONALD, B.A., LINDE, C. Pathogen population genetics, Evolutionary Potential, and durable resistance, *Ann. Rev.* v. 40, p. 349-379, 2002.

- PEREA, I., ARANGO, E. R., E. MÁRQUEZ, E., ARANGO, R. Genetic diversity of Colombian isolates of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet based on microsatellite markers. **InfoMusa** - Vol. 14 No. 2, 2005.
- PEREIRA, J.C.R., GASPAROTTO, L., COELHO, A.F. da S. et. al. Ocorrência da Sigatoka negra no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23 (suplemento), p.295, 1998.
- PEREIRA, Á.T.B., SILVA .G.F., GASPAROTTO, L., HANADA R. E. INTER-SINGLE -SEQUENCE-REPEAT (ISSR) EM *Mycosphaerella fijiensis*, SELEÇÃO DE LOCOS E PADRONIZAÇÃO DA PCR. In: Simpósio Brasileiro de Recursos Genéticos, 2008, 2. Brasília. **Anais do Simpósio Brasileiro de Recursos Genéticos**, 2008. v. 1.
- PRIMMER, C.R., RAUDSEPP, T., CHOWDHARRY, B.P., MOLLER, A.P., ELLEGREN H. Low Frequency of Microsatellites In The Avian Genome. **Genome Research**, v. 7, p.471-482, 1997.
- POWELL, W., MACHRAY, G.C., PROVAN, J. Polymorphism Revealed By Simple Sequence Repeats. **Trends In Plant Science**, v.1, n.7, p. 215-222, 1996.
- QIAN, W., GE, S., HONG, D-Y. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. **Theor Appl Genet**, 102:440–449, 2001.
- RIVAS, G. G., ZAPATER, M. F., ABADIE, C., CARLIER, J. Founder effects and stochastic dispersal at the continental scale Of the fungal pathogen of bananas *Mycosphaerella fijiensis*. **Molecular Ecology**, Oxford, GB, v. 13, p. 471-482, 2004.
- ROHLF, F. J. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 2.1. Exeter Software: Setauket, NY, 2000.
- TÓTH, G., GÁSPÁRI, Z., JURKA, J. Microsatellite In Different Eukaryotic Genome Survey And Analysis. **Genome Research**, V. 10, P.967-981, 2000.
- WANG, S., MIAO, X., ZHAO, W., HUANG, B., FAN, M., LI, Z., HUANG, Y. Genetic diversity and population struture among strains of the entomopathonic fungus, *Beuveria bassiana*, as revealed by inter-simple sequence repeats (ISSR). **The British Mycological Society**. 109 (12): 1364-1372, 2005.
- Z A P A T E R , M . F . , RAKOTONANTOANDRO, A., COHEN, S., CARLIER, J. Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism markers for the fungal banana pathogen *Mycosphaerella fijiensis*. **Molecular Ecology Notes** 4, 80–82, 2004.

Embriogênese Somática de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*): Indução a Calogênese

Marcelle Larissa Correa
Nelcimar Reis Sousa
Aparecida das Graças Claret de Souza
Regina Caetano Quisen

Resumo

O processo de embriogênese somática da espécie *Theobroma grandiflorum* surgiu com o objetivo de auxiliar a produção de planta-elite em grande escala, podendo servir como base para programas de melhoramento, visando à produção de plantas resistentes a doenças, como a vassoura-de-bruxa, e à alta produção de frutos. Desse modo, esse trabalho teve como objetivo estudar o processo inicial da morfogênese por meio da calogênese em diferentes explantes de cupuaçuzeiro. Os tecidos foram inoculados in vitro em meio de cultura com sais, vitaminas, aminoácidos, açúcares, agentes antioxidantes, ágar e diferentes concentrações de auxinas e citocininas. As culturas foram mantidas em sala de crescimento, com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados. Os resultados indicaram que a cultura de calos, nessa espécie, requer a presença de reguladores de crescimento, provavelmente por não apresentar níveis endógenos suficientes de hormônios, principalmente as auxinas. Os dados confirmaram a recalcitrância in vitro observada em muitas culturas perenes tropicais e reforçam a necessidade do aprofundamento na composição dos meios de cultura e a definição do comportamento morfogenético desses tecidos com vistas à embriogênese somática.

Termos para indexação: cultura in vitro, espécies lenhosas, recalcitrância.

Introdução

Os plantios e a produção de cupuaçu concentram-se na região Norte do País, sendo o Pará o principal estado produtor, seguido do Amazonas, de Rondônia e do Acre (CAVALCANTE, 2001). Esses plantios possuem alto grau de heterozigiosidade genética, sendo esse fato associado à falta de material genético melhorado, limitando consequentemente a expansão da cultura do cupuaçuzeiro na Amazônia. Outro fator que interfere no cultivo é a incidência do fungo *Crinipellis pernicioso*, agente causador da doença conhecida vulgarmente como “vassoura-de-bruxa”, que também promove a alta taxa de abortamento dos frutos e a queda dos frutos maduros, prejudicando assim seu valor comercial (RODRIGUES, 2000).

Desenvolvido em rede e envolvendo as Unidades da Embrapa com sede na região amazônica, o programa de melhoramento genético do cupuaçu da Embrapa Amazônia Ocidental está, no momento, concentrado na avaliação da variabilidade intraespecífica e seleção preliminar de genótipos superiores para serem avaliados na primeira rede de experimentos de competição de clones da região.

Nesse programa, também estão sendo desenvolvidos diversos estudos de propagação *in vitro*, que tem como objetivo possibilitar a inserção dessa técnica como ferramenta para o melhoramento, a conservação e propagação massal da espécie.

Diante disso, as biotécnicas vieram para trazer benefícios ao melhoramento genético das plantas, sendo um dos seus principais objetivos acelerar a geração de conhecimentos fundamentais sobre a

biologia e a genética da cultura, e, em consequência, o melhoramento pode ser mais científico e preciso, com redução do tempo para o desenvolvimento de cultivares de alto desempenho.

Alguns estudos de propagação de espécies *in vitro* no gênero *Theobroma* vem sendo desenvolvidos, concentrados principalmente no cacau, os quais relataram que o potencial e a competência do gênero à regeneração de plântulas a partir da embriogênese somática, direta e indireta, de diferentes tecidos é bastante proveitosa

Os primeiros estudos visando à obtenção de plantas de cacau por embriogênese somática foram conduzidos por Esan (1977) e Pence et al. (1979), os quais utilizaram embriões imaturos como fonte de tecidos para cultivo, mas apenas cerca de dez anos mais tarde foi possível obter plantas completas, com raiz bem desenvolvida, utilizando esse mesmo tipo de explante (NÓVAK et al., 1986).

Entretanto, apesar da existência de técnicas de clonagem atualmente disponíveis para a produção massiva de espécies correlatas, não tem sido possível obter os mesmos avanços no cupuaçuzeiro, onde raras são as contribuições, na literatura, à cultura referente a aplicações de técnicas biotecnológicas.

Alguns resultados iniciais foram obtidos por Janick e Whipkey (1988). Velho et al. (1990) obtiveram embriões somáticos de cupuaçu a partir de calos, mas não conseguiram converter em plântulas viáveis.

Esse comportamento é atribuído por Damião Filho (1995) à recalcitrância de certas espécies de plantas à obtenção de calos em quaisquer tipos de explante,

sendo que algumas gramíneas e muitas espécies lenhosas só produzem calos quando são empregadas doses altíssimas de auxinas no meio de cultura.

Assim, considerando esse panorama, é necessário incrementar pesquisas de embriogênese somática voltadas aos aspectos morfogenéticos de diferentes tecidos de plantas de cupuaçu submetidos a várias condições de cultura *in vitro*. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo induzir a formação de calos embriogênicos em tecidos do cupuaçu (*T. grandiflorum*), em função do tipo de explante e meio de cultura.

Material e Métodos

No experimento 1, peças florais (pétalas, cógulas e estaminódios) foram isolados de botões florais imaturos e inoculadas sob condições *in vitro* em meio de indução a calogênese com sais e vitaminas de DKW (MC GRANAHAN et al., 1987), suplementado com ágar (0,7%), glicose (2%), água de coco (10%), aminoácidos, 2,4-D (4,0 mg⁻¹.L) e TDZ (0,005 mg⁻¹.L). Os tratamentos consistiram na ausência (tratamento 1) e na presença (tratamento 2) de carvão ativado (0,2%) no meio DKW. O pH foi ajustado para 5,8 e o meio autoclavado, para 121 °C por 15 minutos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, com cinco explantes cada.

No experimento 2, utilizou-se como explante o tecido nucelar de sementes imaturas e inoculados em meio de indução a calogênese, o MS/2 (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com água de coco (10%), caseína (100 mg⁻¹.L), PVP (0,5 g⁻¹.L), sacarose (2,0 g⁻¹.L), glicose (2,0 g⁻¹.L), ágar (0,6 %), 2,4-D

(1,0 mg⁻¹.L). No tratamento 1, a cinetina foi adicionada 0,5 mg⁻¹.L, enquanto o 2ip a 0,5 mg⁻¹.L no tratamento 2. O pH foi ajustado para 5,8 e o meio autoclavado a 121 °C por 15 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, com cinco explantes cada.

No experimento 3, utilizaram-se como explantes segmentos de epicótilos de plântulas obtidas de germinação *in vitro* que foram inoculados em meio de cultura com sais e vitaminas de MS suplementado com sacarose (3,0%), glicose (6,0%) e ágar (0,9%). Nesse meio basal foram constituídos quatro tratamentos: o T1 com TDZ (0,5 mg⁻¹.L); o T2 com TDZ (0,5 mg⁻¹.L) e ANA (0,1 mg⁻¹.L); o T3 com TDZ (0,5 mg⁻¹.L) e tiamina (150 mg⁻¹.L); e o T4, com TDZ (0,5 mg⁻¹.L), ANA (0,1 mg⁻¹.L) e tiamina (150 mg⁻¹.L). O pH foi ajustado a 5,8 e autoclavado a 121 °C por 15 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento, com um explante cada.

No experimento 4, foram utilizados como explantes segmentos de folhas de plântulas obtidas de germinação *in vitro* e inoculados em meio de indução de calogênese com sais e vitaminas de MS suplementado com sacarose (2,5%) e fitagel (0,2%). No meio basal foram aplicados sete tratamentos: T1 - 2,4-D (5 mg⁻¹.L); T2 - 2,4-D (7 mg⁻¹.L); T3 - 2,4-D (10 mg⁻¹.L); T4 - BAP (2,0 mg⁻¹.L) e AIA (0,5 mg⁻¹.L); T5 - BAP (4,0 mg⁻¹.L) e AIA (0,5 mg⁻¹.L); T6 - BAP (6,0 mg⁻¹.L) e AIA (0,5 mg⁻¹.L); e T7 - BAP (8,0 mg⁻¹.L e AIA (0,5 mg⁻¹.L). O pH foi ajustado a 6,0 e autoclavado a 121 °C por 15 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, com quatro explantes cada.

As culturas foram mantidas no escuro, em sala de crescimento, com temperatura de $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até apresentarem formação de calos (30-100 dias). Ao final de cada fase, os experimentos foram avaliados pela contagem de calos aparentes, aspecto do calo formado, presença e ausência de contaminantes (fungos e bactérias).

Resultados e Discussão

Experimento 1

Os resultados obtidos (Tabela 1) demonstram que a produção de calos ocorreu para todos os explantes no tratamento 1 (sem carvão), sendo que no tratamento 2 (com carvão), somente a cógula apresentou essa formação. Esses calos apresentaram aspecto que variavam de compacto a semifriável e

coloração escurecida ou clara (branca ou amarela), seguida do escurecimento, e variando em diferentes seções no mesmo explante.

Arnaldos et al. (2001) atribuíram essas mudanças à formação de compostos pigmentados em resposta ao estresse surgido frente a um possível déficit de hormônios, nutrientes ou água, condições estas que provocam aumento em radicais livres. Resultados semelhantes a esse trabalho foram verificados por Valle (2003), em que a adição de 5 e 7,5 mg.L⁻¹ de 2,4-D associado a 0,5 mg.L⁻¹ de cinetina promoveu total necrose dos tecidos. Dessa forma, cuidados devem ser observados com relação à restrição de tempo entre a formação do calo e o início da degeneração das células que o formam, uma vez que esse período é de no máximo 10 dias (VALLE, 2003).

Tabela 1. Eficiência do meio DKW suplementado com 2,4-D e TDZ na indução de calos em segmentos florais de cupuaçuzeiro, aos 90 dias. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2009.

Cógula	Tratamento 1 (sem carvão)	Tratamento 2 (com carvão)
Formação de calo (%)	16,7	6,7
Explante inerte (%)	6,7	10,0
Perda por oxidação (%)	10,0	53,3
Perda por contaminação (%)	33,3	30
Estaminódio	Tratamento 1 (sem carvão)	Tratamento 2 (com carvão)
Formação de calo (%)	6,7	0,0
Explante inerte (%)	26,7	16,7
Perda por oxidação (%)	33,3	83,3
Perda por contaminação (%)	6,7	33,3
Pétala	Tratamento 1 (sem carvão)	Tratamento 2 (com carvão)
Formação de calo (%)	20,0	0,0
Explante inerte (%)	40,0	83,3
Perda por oxidação (%)	3,3	16,7
Perda por contaminação (%)	36,7	0,0

A oxidação foi responsável pelas maiores perdas de explante, como para estaminódios, que alcançaram 83,3% e 33,3% nos tratamentos 1 e 2, respectivamente. No tratamento 2, essas perdas foram maiores para todos os explantes quando comparadas ao tratamento 1 (Tabela 1).

Um dos fatores frequentemente considerados como componente da recalcitrância *in vitro* é o elevado conteúdo fenólico e oxidativo nesses compostos. Efraim et al. (2005), comparando o teor de compostos fenólicos (flavan-3-ols e procianidinas), encontraram valores consideráveis destes em tecidos de cupuaçu e cacau. Do mesmo gênero do cacau, que apresenta naturalmente uma grande quantidade de polifenóis (GRIFFITHS, 1958); KIIM e KEENEY, 1983), o conteúdo desses compostos nos tecidos de cupuaçu pode ser um dos fatores que influenciaram na baixa frequência de formação de calos.

As pétalas foram responsáveis por 40% dos tecidos que não responderam aos estímulos à calogênese no tratamento 1, seguido pelo estaminódio (26,7%) e cógula (6,7%). No tratamento 2, esses valores foram de 83,3% (pétalas), 16,7% (estaminódios) e 10% (cógulas). O comportamento dos tecidos que não responderam à indução sugere que a cultura de calos dessa espécie requer a presença de 2,4-D exógeno, provavelmente por não apresentar níveis suficientes de auxina endógena.

Também se observou que adição de carvão ativado no tratamento 2, suplementado ao meio de cultura com o objetivo de minimizar os efeitos negativos da oxidação fenólica durante a cultura *in vitro*, interferiu na calogênese

nos três diferentes explantes testados. Esse fato é reforçado por Winkle et al. (2003), que fazem considerações de que o carvão ativado promove a adsorção também de elementos que promoveriam a calogênese, tais como os reguladores de crescimento, vitaminas, Fe-EDTA, íons Zn e Cu, e outros componentes do meio de cultura.

De acordo com Damião Filho (1995), certas espécies de plantas são recalcitrantes à obtenção de calos em quaisquer tipos de explante, sendo que algumas gramíneas e muitas espécies lenhosas só produzem calos quando são empregadas doses altíssimas de auxinas no meio de cultura. Rodrigues (2000), por sua vez, atribui esses resultados à concentração do 2,4-D, que tanto pode induzir como inibir a calogênese.

Além desses fatores, devem ser considerados nessa análise a concentração dos sais, bem como a temperatura, o fotoperíodo e os agentes geleificantes. Neste sentido, os resultados obtidos neste trabalho reforçam a necessidade do aprofundamento na composição dos meios de cultura visando à definição do comportamento morfogenético desses tecidos com vistas à embriogênese somática.

Experimento 2

Conforme demonstrado na Tabela 2, ambos os tratamentos influenciaram a formação de calos em segmentos de tecido nucelar, em que o tratamento com 2,4-D e cinetina (T1), apesar de apresentar 56% de calos formados, foi responsável por 36% de tecidos não responsivos. Os calos apresentavam coloração branca e de aspecto cristalino e compacto.

Tabela 2. Influência da associação de reguladores de crescimento na calogênese de tecido nucelar de cupuaçuzeiro, aos 100 dias. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2009.

	Tratamento 1 (Meio com 2,4-D e KIN)	Tratamento 2 (Meio com 2,4-D e 2ip)
Perda por contaminação (%)	8,0 b	48,0 a
Perda por oxidação (%)	0,0 ns	0,0 ns
Explante inerte (%)	36,0 a	12,0 b
Explante com calo (%)	56,0 ns	40,0 ns

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Verificou-se diferença significativa entre os tratamentos quanto à contaminação, com 48% de perda de explantes por agentes contaminantes no tratamento, comparado a 8% do tratamento 1. Em ambos os tratamentos, não ocorreu perda por oxidação durante essa fase da calogênese.

Os tratamentos aplicados contribuíram para o desenvolvimento de calos nos 70 dias de cultura in vitro de segmentos nucleares de sementes imaturas. A combinação do 2,4-D com cinetina ou 2ip, nas concentrações testadas, foi bastante favorável à iniciação e progressão. Esse fato demonstra a necessidade de haver um balanço ideal entre os reguladores de crescimento para indução e manutenção dos calos, sendo variável conforme a espécie, a idade e o tipo do explante. Entre as auxinas existentes, o 2,4-D e o ANA são os mais frequentemente empregados na indução de calos e em culturas em suspensão (PESCADOR et al., 2000).

A formação de calos compactos indica a necessidade de outros testes com diferentes concentrações desses reguladores de crescimento, visto que, de acordo com Gaspar et al. (1996), altas concentrações dessa auxina podem

induzir a calogênese. Torres e Caldas (1990), por sua vez, alertam que concentrações elevadas de auxinas podem inibir, dependendo da espécie, a formação de calos friáveis.

Experimento 3

De acordo com a análise de variância, não houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados, sendo que todos os meios testados foram eficientes na indução de calos em tecidos de segmento de epicótilo de cupuaçuzeiro com porcentagens que variaram entre 100% (tratamento 1) e 50% (tratamento 4), e valores intermediários de 70% (tratamento 2) e 50% (tratamento 3). Apesar de Lopes et al. (1997) terem observado que a tiamina promoveu o crescimento e incrementou a friabilidade de calos de *Pilocarpus pennatifolius*, no presente trabalho os calos formados apresentaram aspecto compacto e cristalino.

A aplicação de TDZ influenciou a formação de calos, sendo maior no tratamento sem adição de tiamina e/ou ANA. Essa interação, apesar de favorecer valores entre 70% e 50% de calos, considerando a recalitrância in vitro característica de espécies perenes,

quanto maior a porcentagem de calos obtidos, maior a possibilidade de converter essas massas calosas em calos embriogênicos e posterior formação de embriões somáticos e regeneração de plantas.

Aparentemente o uso de TDZ aumenta o potencial da formação de calos em segmentos de epicótilo, enquanto que a associação com a auxina ANA apresentou comportamento oposto. Segundo Kaneda et al. (1997), melhor performance do TDZ, aparentemente, pode estar relacionada a maior atividade citocinínica ou a forma de ação diferente de outras citocininas durante o processo de desdiferenciação e rediferenciação celular, como também ao fato de o TDZ induzir a acumulação de auxinas e citocininas endógenas no tecido (MURTHY et al., 1995).

Experimento 4

De acordo com os resultados obtidos (Figura 1), verificou-se que os segmentos foliares foram responsivos aos tratamentos aplicados, com maior formação de calos quando cultivados em meio com a combinação citocinina/auxina.

Flores et al. (2006), estudando a indução de calos em explantes de *Pfaffia tuberosa* (Spreng.), verificaram que explantes de origem foliar foram os que proporcionaram os melhores resultados, semelhantes aos obtidos por Dhar e Joshi (2005), que, trabalhando com *Saussurea obvallata*, observaram significativa influenciado tipo primário de explantes (hipocótilo, raízes, cotilédones e folhas) sobre a taxa de formação de calos, tendo sido as folhas a melhor fonte com 100% de calogênese.

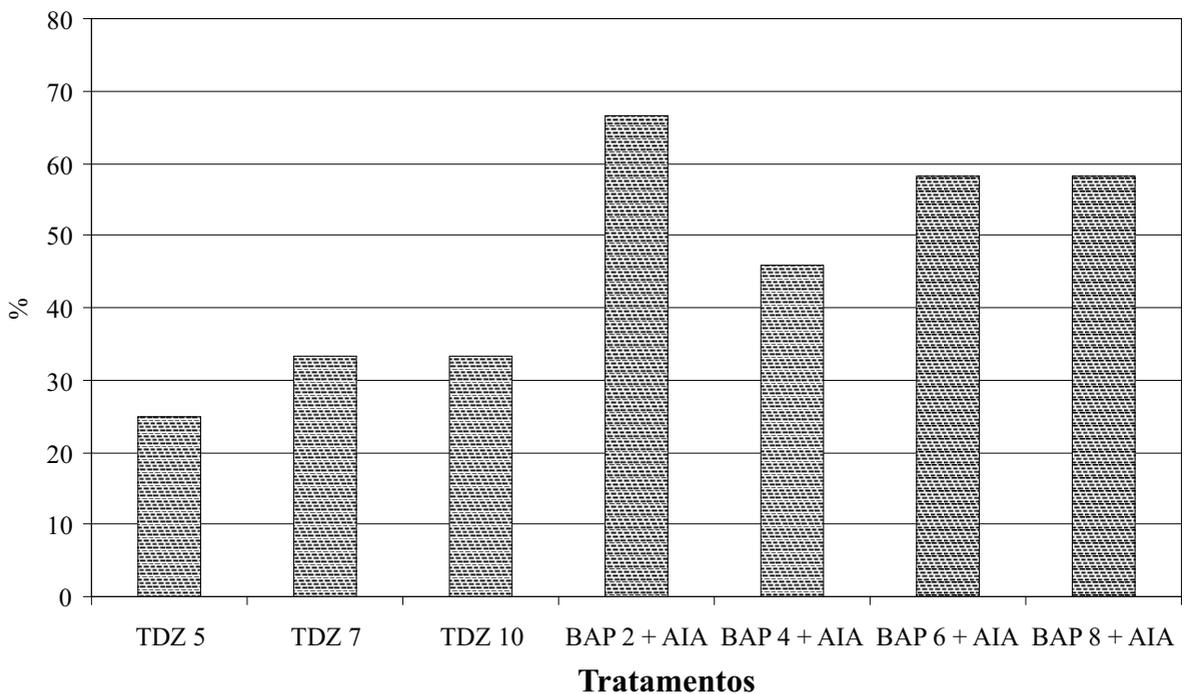


Figura 1. Porcentagem de explantes foliares de *T. grandiflorum* com calos formados em meio MS sob diferentes concentrações de reguladores de crescimento, aos 60 dias após inoculação. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 2009.

Segundo Rey et al. (1980), auxinas e citocininas são exigidas para o crescimento de calos. As primeiras propiciam um calo mais friável, enquanto as outras, calos mais firmes. Assim como observado nos resultados apresentados neste trabalho, a concentração dos reguladores de crescimento influencia o desenvolvimento da cultura de calos in vitro e, geralmente, concentrações semelhantes de auxinas e citocininas no meio promovem a formação de calos. Esses resultados confirmam o relato de Tisserat (1985), ao verificar que a produção de calos pode ser induzida apenas pela adição de auxina; entretanto, quando foi adicionada citocinina, a proliferação dos calos aumentou.

Conclusões

- Nenhum dos experimentos (1 a 4) avaliados apresentou proliferação de calos embriogênicos até o final da cultura, sendo que no primeiro experimento alguns calos com aspecto semifriável e coloração mais clara escureceram ao final da permanência no meio de indução.
- Para iniciar o processo de cultura de calos para o cupuaçuzeiro, é imprescindível a suplementação do meio nutritivo com reguladores de crescimento.
- Todos os tecidos testados demonstraram competência para a diferenciação celular, sendo necessário, contudo, novos experimentos com variações na composição do meio de cultura (sais, vitaminas, aminoácidos, carboidratos, entre outros compostos) visando à formação de calos embriogênicos, à maturação e à germinação de embriões somáticos e regeneração de plantas completas.

Agradecimentos

Ao CNPq, pela concessão de bolsa; e à Embrapa Amazônia Ocidental, pela logística cedida.

Referências

ARNALDOS, T.L.; MUÑOZ, R.; FERRER, M.A.; CALDERÓN, A.A. Changes in phenol content during strawberry (*Fragaria x ananassa*, cv. Chandler) callus culture. **Physiologia Plantarum**, v.13, p.315-322, 2001.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa-CNPH, 1990. p.37-70.

CAVALCANTE, A. da S. L. **Respostas morfogenéticas in vitro de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) e de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Will. Ex Spreng Schum))**. 2001. 124 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceara, Fortaleza.

DAMIÃO FILHO, C. F. **Cultura de tecidos de plantas: micropropagação**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 25 p.

DHAR, U.; JOSHI, M. Efficient plant regeneration protocol through callus for *Saussurea obvallata* (DC) Edgew. (Asteraceae): effect of explant type, age and plant growth regulators. **Plant Cell Report**, Berlin, v.24, p.195-200, 2005.

- EFRAIM, P. et al. Identificação de flavanols e procianidinas em sementes de cupuaçu e cacau. In: CONGRESSO IBEROAMERICANO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS, 5., 2005, Jalisco. **Hacia una visión integrada de Ika ingeniería de alimentos**. Campo Grande: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. 1 CD ROM.
- ESAN, E. B. Tissue culture studies on cacao (*Theobroma cacao* L.): a supplementation of current research. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 5., 1977, Idaban. **Resumes...** Idaban: [s.n.], 1977. p. 116-125.
- FIGUEIRA, A.; JANICK, J. Development of nucellar somatic embryos of *Theobroma cacao* L. **Acta Horticulturae**, v. 336, p. 231-236, 1993.
- FLORES, R.; NICOLOSO, F. T.; VASCONCELLOS, N. J. S. Indução de calos e aspectos morfogenéticos de *Puffia tuberosa* (Spreng.) Hicken. **Rev. Bras. Pl. Med. Botucatu**. 8(3):89-95p. 2006
- GASPAR, T.; KEVERS, C.; PENEL, C.; GREPPIN, H.; REID, D.M.; THORPE, T.A. Plant hormones and growth regulators in plant tissue culture. **In Vitro Cellular and Development Biology-Plant**, Wallingford, v. 32, p.272-289. 1996.
- GONDIM, T. M. S. **Aspectos de produção de cupuaçu**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2001. 43 p.
- GRIFFITHS, E. 1958. Sexual reproduction and variation in *Gloeotinia temulenta* (Prill. & Delacr.) Wilson & Gray. **Transactions of the British Mycological Society**, 41:461-482.
- JANICK, J.; WHIPKEY, A. Somatic embryogenesis in *Theobroma grandiflorum*. **HortScience**, Alexandria, n. 23, p.807, 1988.
- KANEDA, Y. et al. Combination of thidiazuron and basal media with low salt concentrations increases the frequency of shoot organogenesis in soybeans [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Plant Cell Reports**, v.17, p.8-12, 1997.
- KIM, H.; KEENEY, P. G. 1983. Method of analysis for (-)-epicatechin in cocoa beans by high-performance liquid chromatography. **J. Food Sci**, 48:548-551.
- LOPES, S. de O. et al. Influência da tiamina no cultivo in vitro de *Pilocarpus pennatifolius*. **Caderno de Farmácia**, v. 13, n. 2, p. 167-168, 1997.
- McGRANAHAN, G. H.; DRIVER, J. A.; TULECKE, W. Tissue culture of juglans. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (Ed.). **Cell and tissue culture in forestry: case histories: gymnosperms, angiosperms and palms**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987. p. 261-271.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- MURTHY, B. N. S.; MURCH, S. J.; SAXENA, P. K. Thidiazuron- induced somatic embryogenesis in intact seedlings of peanut (*Arachis hypogaea*): endogenous growth regulator levels and significance of cotyledons. **Physiologia Plantarum**, v.94, p.268-276, 1995.

NÓVAK, F. J. DONINI, B.; OWUSU, G. **Somatic embryogenesis and in vitro plant development of cocoa (*Theobroma cacao*)**. In: Proc. Int. Symp. Nuclear techniques and in vitro culture for plant improvement. IAEA, Vienna, pp. 443-449, 1986.

PENCE, V. C.; HASEGAWA, P. M.; JANICK, J. Asexual embryogenesis in *Theobroma cacao* L. **Journal of the American Society of Horticulture Science**, Geneva, New York, v.104, n.2, p.145-148, 1979

PESCADOR, R. Biotecnologia da *Piper hispidinervium* – Pimenta longa. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 15, p. 18-23, 2000.

REY, H.; MROGINSKI, L. A.; FERNANDEZ, A. Inducción in vitro de callos y raíces de seis cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Pitón**, v. 39, n. 1, p. 161-170, 1980.

RODRIGUES, E. F. **Desenvolvimento do eixo embrionário in vitro e calogênese de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e estabelecimento do ápice caulinar de bacuri (*Platonia insignis*)**. 2000 70 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

TISSERAT, B. Embryogenesis, organogenesis, and plant regeneration. In: DIXON R. A. (Ed.). *Plant cell culture: a practical approach*. Oxford: IRL, 1985. p. 79-105.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCTP/ EMBRAPA-CNPQ, 1990. 433 p.

VAN WINKLE, S.; JOHNSON, S.; PULLMAN, G. S. The impact of gelrite and activated carbon on the elemental composition of plant tissue culture media. **Plant Cell Report**, New York, v. 21, p. 1175-1182, 2003.

VELHO C. C.; WHIPKEY, A.; JANICK J. **Cupuassu: a new beverage crop in Brazil**. In: Janick J. and Simon JE (eds) *Advances in New Crops*, pp 372-375, 1990. Timber Press, Portland, USA.

Levantamento de Germoplasma de Guaranazeiro com Potencial para Uso Ornamental

Mariângela Serrão Amâncio
Firmino José do Nascimento Filho
Regina Caetano Quisen

Resumo

A existência de bancos de germoplasma de espécies tropicais constitui uma riqueza, em termos de variabilidade genética, a ser avaliada para a introdução em programas de melhoramento genético visando à geração de novos produtos para a indústria de plantas ornamentais. Apesar da beleza exótica dos frutos e de suas cores atrativas, o guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) nunca foi avaliado quanto ao seu potencial ornamental dentro do programa de melhoramento genético existente. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo selecionar, por meio de caracteres morfológicos/fenológicos/estéticos, clones do banco de germoplasma de guaranazeiro com características atrativas de efeito paisagístico. O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas, é constituído por 300 acessos, com 5 plantas/clone, nos quais foram identificados e selecionados clones considerando-se principalmente os aspectos: características da folhagem, arquitetura da planta, ciclo produtivo e características peculiares da frutificação. As avaliações foram realizadas em duas fases considerando características desejáveis para os padrões de paisagismo. Ao final, dos 40 acessos pré-selecionados, somente 5 foram definidos como potenciais quanto ao conjunto de características paisagísticas, e que passarão para a fase seguinte de estudo dos aspectos de reprodução e cultivo em vasos e jardins. Concluiu-se que a variabilidade genética existente no BAG de guaraná, de comportamento diverso e formatos variados nos seus mais diferentes aspectos, constitui-se numa riqueza a ser explorada com grande potencial no segmento de plantas ornamentais, assim como em programas de melhoramento para esse fim.

Termos para indexação: *Paullinia cupana*, plantas nativas, Amazônia, paisagismo.

Introdução

A expansão da floricultura no Brasil e a crescente demanda por novidades têm incentivado a busca de novas espécies para uso como plantas ornamentais. Aliada a isso, a marca "tropical" ganha peso a cada dia, devido à beleza, exotividade e exuberância de nossas plantas e flores.

O Brasil possui a maior diversidade genética de espécies vegetais do mundo, ainda que o que isso representa em termos de recursos genéticos seja pouco explorado. Essa diversidade de plantas, com formas, tamanhos e cores, pode ser racionalmente explorada para uso ornamental, seja como flor de corte, plantas de vaso, paisagismo de parques e jardins ou folhagens de corte (SOUZA et al., 2006).

O dinamismo é uma das principais características do mercado da floricultura, onde a busca por produtos diferenciados e inovadores mostra-se cada vez mais intensa. Dentro dessa ótica, é recomendável a avaliação do potencial ornamental de plantas tradicionalmente cultivadas para outros fins.

Nesse sentido, algumas culturas agrônomicas têm demonstrado expressivo potencial ornamental, com a vantagem de se prestarem aos mais diversos usos, ou como plantas de vaso, flores de corte ou para o paisagismo. No entanto, os programas de melhoramento genético dessas culturas, sejam estas nativas ou exóticas, sempre tiveram seu foco voltado para a obtenção de variedades resistentes a agentes bióticos e abióticos, mais produtivas e com frutos de qualidade organoléptica superior à encontrada no mercado. O uso dessas culturas como plantas ornamentais no

Brasil é ainda incipiente e restrito a jardins particulares, apesar de países europeus e asiáticos investirem em pesquisa e melhoramento para essa finalidade (BOSCO, 2005; STOKES, 2004).

Entre essas culturas, o guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*), espécie nativa da Amazônia, matéria-prima para a indústria farmacêutica e para a fabricação de refrigerantes, apresenta beleza exótica e cores vibrantes de seus frutos, que são um grande atrativo para utilização como planta ornamental.

A espécie apresenta, em seu ambiente natural, hábito escandente, podendo atingir até 10 metros de comprimento, com inflorescências que podem atingir até 25 cm de comprimento e cachos que portam centenas de flores com tamanho aproximado de 1,5 cm, brancas, que exalam aroma adocicado. Os frutos, quando maduros, têm coloração que vai do amarelo ao laranja-avermelhado e são deiscentes. Com a abertura dos frutos, são expostas sementes escuras envolvidas por um arilo brando, que lembram olhos. Quando cultivadas a pleno sol, essas plantas apresentam comportamento arbustivo (ESCOBAR et al., 1984; NASCIMENTO-FILHO et al., 2006).

A coleção de germoplasma, que dá suporte ao programa de melhoramento desenvolvido com o guaranazeiro, sempre enfatizou a obtenção de materiais mais produtivos, que constituem uma riqueza em termos de variabilidade genética a ser avaliada para a introdução em programas visando à geração de novos produtos para a indústria de plantas ornamentais.

O BAG da Embrapa Amazônia Ocidental, única coleção da espécie no mundo, reúne mais de 300 acessos, em que se estima que a maior parte da variabilidade genética intra e interespecífica do guaraná esteja aí representada. Destacam-se nesse BAG vários genótipos com extensa fonte de cores de frutos e flores, de grande beleza, rusticidade e, acima de tudo, originalidade, que poderiam ser indicados para programas de melhoramento genético, visando à geração de novas variedades, garantindo a dinâmica das novidades no setor de plantas ornamentais.

Dentro desse panorama, como parte do projeto "Prospecção da flora brasileira e uso de espécies agrícolas para a diversificação e inovação do agronegócio da floricultura brasileira" coordenado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), com ações voltadas para a identificação de espécies nativas nos diversos biomas brasileiros visando a sua inserção na cadeia produtiva de flores do País, o presente trabalho teve como objetivo selecionar genótipos de guaranzeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) no BAG da Embrapa Amazônia Ocidental, com características atrativas e potencial para a utilização como planta ornamental e em paisagismo.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado de agosto de 2008 a julho de 2009, no BAG de guaranzeiro instalado no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental localizado no Km 27 da Rodovia AM-010, Manaus, Amazonas. O BAG é composto por mais de 300 acessos que ocupam uma área de 3 ha, com 5 plantas/clone, em parcelas lineares, com espaçamento de 5,0 m x

4,0 m.

As avaliações foram realizadas em duas fases, sendo que na primeira (agosto/2008 até fevereiro/2009), do total 300 acessos, foram identificados os clones com base na fase de floração (ausência e presença) e nos aspectos da arquitetura da planta. Em razão de os descritores utilizados para a caracterização de germoplasma do guaranzeiro tradicionalmente serem morfoagronômicos, optou-se por selecionar uma relação de características mais adaptadas à finalidade dessa avaliação, o potencial ornamental.

Ainda na primeira fase de seleção, avaliou-se a floração de acordo com a abertura das flores, sendo a categoria 0 atribuída às plantas com flores fechadas, e de 1 até 3, àquelas com flores que variavam de masculina a feminina com cachos de flores atrativas e com cheiro agradável. Os ramos com floração foram marcados com fitas coloridas, para diferenciar os lados onde estavam os galhos receptivos.

Na segunda fase (março a julho de 2009), seguiu-se com a avaliação quanto aos aspectos: formato da copa, comprimento da folha regular, largura da folha uniforme, altura da planta, período de frutificação, comprimento do ramo médio, tamanho do cacho em relação a pequenos e grandes, cor dos frutos e folhas.

Os clones selecionados foram fotografados e monitorados durante o período de produção de flores e frutos (agosto/2008 a fevereiro/2009), até repouso vegetativo das plantas (março a julho/2009).

Resultados e Discussão

Na primeira fase foram avaliados os 300 acessos do BAG, sendo considerados de interesse aqueles que reuniam aspectos vantajosos para utilização como planta ornamental e de paisagismo, e descartados aqueles com características não desejáveis, tais como frutificação e folhagem escassa, porte irregular da copa e incidência de pragas e doenças.

Do total de acessos avaliados foram selecionadas 30 plantas que reuniram características atrativas, que foram: S, 5A, 132, 193, 207, 211, 237, 250, 336, 350, 1502, 1503, 1543, 1553, 1555, 1556, 1557, 1573, 1578, 1580, 1605, 1615, 1658, 1684, 1712, 1765, 1767, 1801, 1808, 1813.

Nessa primeira seleção, todas as plantas apresentavam floração com duração de 2 a 3 semanas, seguida da formação dos frutos, de formas e cores diferenciadas. Essas cores se modificaram em razão do desenvolvimento e da maturação dos frutos.

A marcação dos ramos com flores mostrou-se bastante necessária e eficaz, pois facilitou a identificação do ramo na volta ao campo *a posteriori*, visto que os galhos marcados mudavam de posição devido à ocorrência de chuvas.

Na segunda fase de seleção, observou-se que as plantas apresentaram alteração no formato e aspecto da sua arquitetura, como reação fisiológica de adaptação a variações da precipitação e temperatura característica no período de transição inverno-verão da região.

O ataque de doenças em algumas plantas durante esse período resultou na eliminação de alguns materiais, reduzindo a seleção a cinco, chamados, então, de “clones potenciais”, que foram os clones: 1556, 1712, 1605, 1557 e 1573 (Figura 1).

Na Tabela 1, estão resumidas as características desses clones potenciais de acordo com a avaliação final.

A identificação desses cinco clones potenciais foi uma fase essencial dentro do projeto, visto que desses selecionados serão produzidas estacas para os experimentos de avaliação do comportamento da cultura quando submetidos a diferentes condições de cultivo e manejo (vasos e jardins).

Em razão da ampla variabilidade genética observada entre os acessos conservados no BAG do guaranazeiro, com foco nas características de interesse para o segmento de plantas ornamentais e floricultura, conclui-se que o aproveitamento dessa espécie nativa, com comportamento diverso e formatos variados nos seus mais diferentes aspectos, torna-se uma riqueza a ser explorada com grande potencial para programas de melhoramento para esse fim.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a ampla variabilidade genética presente nos acessos de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* permite o aproveitamento dessa cultura em programas de melhoramento genético para uso ornamental.



Figura 1. Clones potenciais: A – clone 1556; B – 1712; C – 1573; D – 1665; E – 1557. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas, 2009.

Tabela 1. Característica de clones potenciais para utilização em arborização e paisagismo. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas, 2009.

Característica	1556	1573	1557	1605	1712
Formato da copa	oval	arredondada	espalhada	uniforme	uniforme
Comprimento do ramo	80 cm	68cm	60 cm	80 cm	40 cm
Largura da folha	10 cm	10 cm	8 cm	10 cm	15 cm
Altura da planta	alta	alta	baixa	alta	média
Período de frutificação	outubro	setembro	outubro	setembro	novembro
Cor do fruto	alaranjado	amarelo	vermelho	vermelho	vermelho
Cor da folha	verde-claro	verde-escuro	verde-escuro	verde-claro	verde-escuro
Tamanho do cacho	20 cm	15 cm	12 cm	10 cm	16 cm
Textura da folha	grossa	grossa	fina	áspera	fina

Agradecimentos

À Fapeam, pela concessão de bolsa.

À minha orientadora, Dra. Regina Quisen.

À Embrapa Amazônia Ocidental.
Aos meus amigos.

STOKES, T. New ornamental banana. *Trends in Plant Science*. v. 6, n. 9, p. 404, 2004.

Referências

BOSCO, S. F. del. The use for ornamental purposes of an ancient citrus genotype. *Acta Horticulturae*, v. 598, 2005.

ESCOBAR, J. R.; CORREA, M. P. F; AGUILERA, F. J. P. Estruturas florais, floração e técnicas para a polinização controlada do guaranazeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DO GUARANÁ, 1., 1983, Manaus. *Anais...* Manaus: EMBRAPA-UEPAE de Manaus, 1984. p. 222. (EMBRAPA-UEPAE de Manaus. Documentos, 3).

NASCIMENTO FILHO, O. et al. Identification and selection of ornamental pineapple plants *Acta Horticulturae*, Leuven, v. 702, p. 93-99, 2006.

Seção IV – Pastagem

Produção e Composição Botânica de Uma Pastagem Natural de Várzea Alta Submetida a Diferimento

Geraldo Max Linhares
Rogério Perin
Gilvan Coimbra Martins

Resumo

No Estado do Amazonas, grande parte das propriedades localizadas às margens dos rios se dedica à pecuária. Nessas áreas, a atividade tem caráter extensivo e apresenta baixa produtividade. Apesar disso, é uma atividade cada vez mais presente nas explorações familiares da região. O manejo tradicional empregado provoca impacto negativo na produção de forragem, na medida em que mantém a altura da pastagem muito baixa e limita a quantidade de luz interceptada pela pastagem e, portanto, a taxa de crescimento da pastagem. De forma semelhante, também os processos envolvidos na dinâmica das comunidades de plantas são afetados. Considerando que a interferência do homem na produção animal a partir do uso de pastagens deve garantir a perenidade do sistema e assegurar o balanço entre a oferta de quantidade e qualidade de forragem, realizou-se um ensaio com o objetivo de avaliar o efeito do diferimento sobre a produção de forragem e a composição botânica de uma pastagem de várzea alta. Os resultados obtidos possibilitam concluir que um diferimento de 64 dias permite restaurar a produtividade da pastagem de várzea alta, entretanto não é suficiente para promover mudanças na composição botânica da pastagem.

Termos para indexação: Amazônia Central, Careiro da Várzea.

Introdução

As várzeas de água branca da área dos rios Solimões/Amazonas e dos seus principais tributários, como os rios Japurá, Juruá, Madeira e Purus, compreendem uma área estimada em até 192 mil km², dos quais se considera que cerca de 38 mil km² constituem pastagens naturais, formadas por espécies de gramíneas e ciperáceas (PIRES, 1973). Os solos dessas áreas, resultado de sucessivos acúmulos de sedimentos depositados pelas enchentes periódicas, apresentam boa fertilidade natural e poucas restrições químicas à exploração agropecuária, com exceção, talvez, dos níveis de nitrogênio (ALFAIA e FALCÃO, 1988).

No Estado do Amazonas, grande parte das propriedades localizadas às margens dos rios se dedica à criação de rebanho misto (LIMA FILHO e MELO, 1990). Nessas pastagens de várzea, a pecuária compreende a criação extensiva de bovinos, onde o desempenho zootécnico, em termos de produtividade, é baixo. Apesar dessa realidade, a pecuária é cada vez mais presente na estratégia das explorações familiares da região (SALES et al., 2008), encontrando-se em franca expansão e sendo economicamente viável independentemente de incentivos fiscais ou creditícios (VALENTIN, 2003).

Costa e Inhervin (2006) relatam que as várzeas expostas na época da seca têm sido usadas como propriedade comum pelos criadores, mas atualmente, no Município do Careiro da Várzea, a maioria das propriedades já possui cercas nos limites das propriedades e algumas divisões internas das pastagens. Entretanto, essa pecuária, razoavelmente bem adaptada às peculiaridades das

várzeas (VALENTIN, 2003), mantém um caráter predominantemente extensivo, com uso de alta carga animal e lotação contínua.

O manejo tradicional empregado nessas propriedades provoca impacto negativo na produção de forragem, na medida em que mantém a pastagem muito baixa. A produção de forragem bruta é primeiramente determinada pela quantidade de luz interceptada pela pastagem e é uma função da quantidade de folhas na pastagem sendo expressa como o índice de área foliar (HODGSON, 1990). Portanto, a taxa de crescimento da pastagem aumenta com o crescimento da biomassa, considerando que também se eleva a capacidade fotossintética pelo incremento do índice de área foliar e da interceptação da radiação incidente (HARRIS, 1978). De forma semelhante, afeta também os processos envolvidos na dinâmica das comunidades de plantas nas pastagens.

Assim, considerando que a interferência do homem na produção animal a partir do uso de pastagens deve garantir a perenidade do sistema adotado, seja ele baseado no uso de pastagens naturais ou cultivadas, e assegurar um compromisso entre a oferta de quantidade e qualidade de forragem compatível com a produção animal pretendida e permitida pelo meio (NABINGER, 1997), realizou-se um ensaio com o objetivo de avaliar efeito do diferimento sobre a produção de forragem e a composição botânica de uma pastagem de várzea alta.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em uma propriedade particular situada no Município do Careiro da Várzea, na região

central do Estado do Amazonas. No local, dois piquetes de pastagem nativa, ocupando uma área total de 5 hectares, foram vedados, com o pastejo sendo diferido por 64 dias.

Com relação à pastagem, os parâmetros avaliados foram: disponibilidade inicial de forragem, taxa de acúmulo de matéria seca e composição botânica da pastagem.

A disponibilidade de forragem foi avaliada, antes e após o diferimento, pelo método da dupla amostragem, mensurando-se 50 amostras de 0,25 m² por piquete. Destas, 15 foram cortadas, secas em estufa até peso constante para determinação da matéria seca e separadas manualmente para determinação da

composição botânica. A taxa de acúmulo de forragem foi estimada pela diferença entre a matéria seca nos períodos inicial e final. As médias foram comparadas pelo teste "t" de Student.

Foram avaliadas também as características químicas do solo por meio da análise laboratorial de dez amostras coletadas na profundidade de 0 cm a 20 cm.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises químicas do solo, apresentados na Tabela 1, permitem caracterizá-lo como eutrófico, com níveis adequados de fertilidade para a exploração com pastagens de alta produtividade.

Tabela 1. Características químicas do solo sob pastagem de quatro piquetes manejados sob pastejo rotativo e um piquete sob pastejo contínuo. Careiro da Várzea, AM.

Piquete	pH H ₂ O	MO g/kg	P	K	Na	Ca	Mg	H+Al	SB	t	T	V %
			mg/dm ³			cmol _c /dm ³						
1	6,04	19,98	59	63,1	52,0	9,02	2,69	2,02	12,1	12,1	14,1	86,0
2	6,47	19,68	48	65,6	85,0	9,12	3,04	1,35	12,7	12,7	14,0	90,6

Os valores observados são semelhantes àqueles verificados por Alfaia e Falcão (1988) também nos solos de várzea alta do Município do Careiro da Várzea, com exceção dos níveis de fósforo, para o qual os autores encontraram um valor de 125 mg/dm³.

Na Tabela 2, são apresentadas as espécies de ocorrência nas pastagens avaliadas. Foram observadas 34 espécies, sendo que 24 destas foram consideradas como invasoras.

Com relação à matéria seca, o diferimento da pastagem, por 64 dias,

permitiu elevar a biomassa dos iniciais 1.780 kg ha⁻¹ para 5.399 kg ha⁻¹, apresentando uma taxa de acúmulo média de 56,5 kg ha dia⁻¹. A biomassa instantânea é semelhante àquela observada por Perin et al. (2008) em pastagens de várzea na mesma região. Entretanto, as taxas de crescimento estimadas pelos mesmos autores foram muito superiores, com média de 125,3 kg ha⁻¹ dia⁻¹. Essa diferença pode ser explicada em função do resíduo mantido pelos referidos autores, o qual continha o dobro da biomassa estimada no início do diferimento aqui aplicado.

Tabela 2. Espécies observadas em área de pastagem de várzea alta no Município do Careiro da Várzea, AM.

Espécies	Família
<i>Acalypha arvensis</i> *	Euphorbiaceae
<i>Aeschynomene sensitiva</i> *	Fabacea
<i>Brachiaria purpurascens</i>	Poacea
<i>Brachiaria</i> sp.	Poacea
<i>Caperonia</i> sp.*	Euphorbiaceae
<i>Centrosema brasilianum</i>	Fabacea
<i>Croton lobatus</i> *	Euphorbiaceae
<i>Croton trinitatis</i> *	Euphorbiaceae
<i>Desmodium adscendens</i>	Fabacea
<i>Desmodium incanum</i>	Fabacea
<i>Digitaria ciliaris</i>	Poacea
<i>Digitaria nuda</i>	Poacea
<i>Diodia kuntzei</i> *	Rubiaceae
<i>Galactia</i> sp.	Fabacea
<i>Heliotropium indicum</i> *	Boraginaceae
<i>Homolepis atunensis</i> *	Poacea
<i>Hyptis platanifolia</i> *	Lamiaceae
<i>Ipomoea</i> sp.*	Convolvulaceae
<i>Justicia comata</i> *	Acanthaceae
<i>Melothria pendula</i> *	Cucurbitaceae
<i>Mimosa polystachya</i> *	Fabacea
<i>Panicum laxum</i>	Poacea
<i>Paspalum conjugatum</i>	Poacea
<i>Physalis angulata</i> *	Solanaceae
<i>Piriqueta cistoides</i> *	Turneraceae
<i>Scleria melaleuca</i> *	Cyperaceae
<i>Scoparia dulcis</i> *	Scrophulariaceae
<i>Senna obtusifolia</i> *	Fabacea
<i>Senna occidentalis</i> *	Fabacea
<i>Sida rhombifolia</i> *	Malvaceae
<i>Sida setosa</i> *	Malvaceae
<i>Solanum americanum</i> *	Solanaceae
<i>Sphagneticola trilobata</i> *	Asteraceae
<i>Torulinium odoratum</i> *	Cyperaceae

*Espécies consideradas invasoras das pastagens.

Por outro lado, apesar do diferimento restaurar a produtividade da pastagem, não afetou a sua composição botânica, conforme se pode observar na Tabela 3. O pequeno período de diferimento empregado foi insuficiente para promover mudanças na composição botânica da pastagem, entretanto, mesmo os da situação inicial da pastagem, denotam pequena infestação por plantas invasoras.

Tabela 3. Porcentagens de gramíneas, leguminosas e invasoras na matéria seca de um campo nativo de várzea, antes e após o diferimento da pastagem.

Época	Gramíneas	Leguminosas % da MS	Invasoras
Antes	96,7 ± 1,6	2,9 ± 1,4	0,23 ± 0,5
Após	96,4 ± 1,1	3,1 ± 1,0	0,86 ± 0,4

Conclusões

- O solo de várzea avaliado possui características químicas adequadas para a exploração com pastagens de alta produtividade.
- O diferimento de 64 dias permite restaurar a produtividade da pastagem de várzea alta.
- A produção de forragem e a qualidade desta são adequadas para exploração com sistemas pecuários intensivos.
- Pequenos períodos de diferimento não são suficientes para promover mudanças na composição botânica da pastagem.

Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Ocidental e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam), pela oportunidade para realização do trabalho.

Referências

ALFAIA, S. S.; FALCÃO, N. de P. Estudo da dinâmica de nutrientes em solo de várzea da Ilha do Careiro no Estado do Amazonas. In: REUNIAO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 18., 1988, Guarapari. **Manejo da fertilidade dos solos de tabuleiros costeiros: resumos.** Vitória: Secretaria de Estado da Agricultura: EMCAPA: EMATER-ES: SBCS, 1988.

COSTA, F. de A.; INHERVIN, T. **A agropecuária na economia da várzea da Amazônia: os desafios do desenvolvimento sustentável.** Manaus: Ibama/PróVárzea, 2006. 202 p.

HARRIS, W. Defoliation as determinant of the growth, persistence and composition of pasture. In: WILSON, J. R. (Ed.). **Plant relations in pastures.** Melbourne: CSIRO, 1978. p. 67-85.

HODGSON, J. **Grazing Management – science into practice.** London, UK: Longman Handbooks in Agriculture, 1990. 203 p.

LIMA FILHO, A. B.; MELO, L. A. S. **Diagnóstico da pecuária bovina do Estado do Amazonas.** Manaus: EMBRAPA-CPAA, 1990. 58 p. (EMBRAPA-CPAA, Documentos, 3).

PERIN, R.; LINHARES, G. M.; MUNIZ, S. R. Potencial produtivo da pecuária de corte em áreas de várzea no Estado do Amazonas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35º, 2008, Gramado. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2008. v. 33. p. 1-6.

NABINGER, C. Princípios da exploração intensiva de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 13., Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 15-95.

PIRES, J. M. **Tipos de vegetação na Amazônia**. Belém, PA: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1973. p. 179-202. (Publicações Avulsas; 20).

SALES, J. P. et al. A pecuária nos sistemas de produção familiar na microrregião do Alto Solimões, Amazônia. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 3, n. 1, p. 20-27, 2008.

VALENTIN, J. A bovinocultura na Amazônia – perspectivas e novas tecnologias. Trabalho apresentado no Terceiro Seminário de desenvolvimento Agropecuário na Amazônia Ocidental. Federação da Agricultura do Estado do Amazonas, Manaus, 2003.

Seção V – Piscicultura

Determinação da Biomassa Econômica para Tambaqui (*Colossoma macropomum*) em Gaiola

Alcimara Chames Bezerra
Cheila de Lima Boijink
Luis Antônio Kioshi Aoki Inoue
William Sandro Cunha Miranda
Edivânia Carvalho
Patrizia Teixeira
Irani da Silva de Morais

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estimar a biomassa econômica para tambaqui em gaiola de pequeno volume (1 m³). O experimento foi montado com quatro lotações: 10, 20, 30 e 40 peixes/m³, três repetições, totalizando doze gaiolas. Os peixes foram alimentados diariamente durante 150 dias até saciedade aparente com ração comercial com 34% de proteína bruta. Foram realizadas biometrias mensais até o crescimento dos tambaquis estabilizarem-se e, ao final do período experimental, foram avaliados: ganho de peso e comprimento total, parâmetros estes que auxiliaram na determinação da biomassa de juvenis de tambaqui em criação intensiva de gaiola de pequeno volume. As análises de água foram semanais para avaliar as possíveis alterações no ambiente. Também foi avaliada a carga parasitária de monogenoides nas brânquias dos tambaquis no final do período do experimento. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (Anova), seguida pelo teste de comparação de médias Tukey (P<0,05), quando necessário. O ganho de peso e comprimento corporal máximo foi aos 120 dias, sendo significativamente maior nas gaiolas com 10, 20 e 30 peixes/m³. Porém, o número de parasitas foi significativamente maior na densidade 30 peixes/m³. Os parâmetros de qualidade da água permaneceram adequados ao equilíbrio orgânico dos peixes no ambiente de criação estudado. A mortalidade não foi significativa. Pode-se concluir que para tambaqui as densidades de estocagem de 10 e 20 peixes/m³ apresentam melhores resultados de desempenho em gaiolas de pequeno volume.

Termos para indexação: densidade de estocagem, piscicultura, ganho de peso.

Introdução

O cultivo de peixes, bem como de outros organismos aquáticos, vem crescendo rapidamente nos últimos anos, transformando-se em indústria que movimenta milhões de dólares em diversos países. Para Castagnolli (1992), a piscicultura é a maneira mais econômica de se produzir alimento nobre e de alto valor nutritivo, através do aproveitamento de diversos resíduos agropecuários. Além disso, o Brasil apresenta um dos maiores potenciais do mundo para essa atividade: recursos hídricos ilimitados; grande extensão territorial, com três quartos da sua área na zona tropical; energia solar abundante e gratuita durante todo o ano; grande número de espécies nativas excelentes para o cultivo, que devem proporcionar ótima rentabilidade aos investimentos aplicados, além de possuir mão de obra barata e em quantidade suficiente.

Um dos sistemas de criação intensiva de peixes mais difundidos em todo o mundo é o cultivo em tanque-rede ou gaiolas. É um sistema que apresenta vantagens e desvantagens. Como vantagens citam-se: menor variação dos parâmetros físico-químicos da água durante a criação; maior facilidade de retirada dos peixes para venda (despesca); menor investimento inicial (60% – 70% menor que viveiros convencionais); possibilidade do uso ótimo da água com o máximo de economia; facilidade de movimentação e relocação dos peixes; intensificação da produção; otimização da utilização da ração melhorando a conversão alimentar; facilidade de observação dos peixes melhorando o manejo; redução do manuseio dos peixes facilitando o controle da reprodução; diminuição dos custos com tratamentos de doenças;

possibilidade de criação de diferentes espécies no mesmo ambiente, permitindo o remanejamento total de toda a criação para outro local, se necessário.

Como desvantagens se pode citar: necessidade de fluxo constante de água através das redes, suficiente para manter bom nível de oxigênio; dependência total de rações comerciais completas de qualidade superior; risco de rompimento da tela da gaiola e perda de toda a produção; possibilidade de alteração do curso das correntes, aumentando o assoreamento dos reservatórios; e a possibilidade de introdução de doenças ou peixes no ambiente, prejudicando a população natural. Existe um bom volume de informações a respeito desse aspecto da piscicultura em tanques-rede nos trabalhos de Schmittou (1969), Castagnolli e Torrieri Jr. (1980), Beveridge (1987), Borghetti e Canzi (1993) e Bozano e Ferraz de Lima (1994).

A tecnologia de piscicultura em tanques-rede vem sendo amplamente difundida na Amazônia Brasileira principalmente pela abundância e disponibilidade de ambientes propícios, tais como lagos e rios. Essa tecnologia já foi testada na região e se mostra promissora por utilizar altas taxas de estocagem, gerando grande produtividade por área (CHAGAS et al., 2003). No desenvolvimento de uma tecnologia de produção para determinada espécie de peixe, um dos primeiros passos é a verificação da densidade de estocagem adequada para a região, que visa a definir níveis ótimos de produtividade por área (BRANDÃO et al., 2004). Jobling (1994) relata que a densidade de estocagem tem efeito na sobrevivência e no crescimento, sendo possível causa do fracasso na produção final de peixes. Normalmente, peixes criados em baixas densidades de

estocagem apresentam boa taxa de crescimento e alta porcentagem de sobrevivência, porém a produção por área é baixa (GOMES et al., 2000), caracterizando baixo aproveitamento da área disponível. Por sua vez, peixes mantidos em altas densidades normalmente apresentam menor crescimento (EL-SAYED, 2002), ficam estressados (IGUCHI et al., 2003) e estão sujeitos ao aparecimento de interações sociais que levam à produção de um lote de tamanho heterogêneo (CAVERO et al., 2003).

A otimização do uso do espaço físico, do crescimento e conversão alimentar dos peixes e da biomassa estocada por unidade de área são ferramentas importantes na maximização dos lucros em uma piscicultura comercial (KUBITZA et al., 1999). Portanto, é de fundamental importância determinar a biomassa econômica que corresponde a uma biomassa entre a capacidade de suporte e a biomassa crítica. A biomassa crítica é o momento em que o crescimento diário do cultivo atinge um valor máximo, ou seja, o máximo ganho de peso possível por peixe (g/dia). A partir do ponto de biomassa crítica, o crescimento dos peixes começa a ser cada vez mais reduzido até que o sistema atinja sua capacidade de suporte e os peixes parem de crescer.

A biomassa econômica representa o valor de biomassa que resulta em maior lucro acumulado durante o cultivo e o ponto onde a despesa deve ser realizada. De acordo com Sipaúba-Tavares (2000), para se obter produção máxima de peixes, também é importante o estudo das características físicas, químicas e biológicas da água dos tanques de cultivo. Vale dizer, a água de boa qualidade reflete positivamente na biomassa vivente. O inverso, no entanto, acarreta danos à criação e até mesmo ao meio ambiente.

Outro aspecto a ser observado é o estado de saúde dos animais, pois, dentre as doenças parasitárias, as mais comumente relatadas ao cultivo de tambaqui, que é a espécie mais produzida na região Norte, são causadas por monogenoides, acantocéfalos, *Myxobolus* sp., copéodos, braquiúros e fungos (MALTA et al., 2001). Criações de tambaqui em tanques-rede têm mostrado maior intensidade parasitária dos monogenoides, sendo eles o grupo que causa maior severidade em termos de doenças em peixes (VARELLA et al., 2003).

O tambaqui tem sido o carro-chefe, representando mais de 90% da produção de 7 mil toneladas/ano (BERNADINHO, 2006). No desenvolvimento de pacote de produção para uma espécie de peixe, o primeiro passo é a determinação da densidade de estocagem ideal, a qual visa determinar os níveis ótimos de produtividade por área (JOBBLING, 1994).

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui com peso médio 150,2 g \pm 32,7 g e comprimento médio 20,5 cm \pm 5,2 cm adquiridos na Estação de Balbina, localizada no Município de Presidente Figueiredo, AM, foram levados ao Pesque-Pague San Diego, localizado no Km 35 da AM-010, na cidade de Manaus. Os animais foram divididos em 12 gaiolas de 1 m³ nas densidades de: 10, 20, 30 e 40 peixes por gaiola, com 3 repetições. Os animais foram alimentados diariamente até saciedade aparente, com ração comercial extrusada com 34% de PB. Os peixes foram alimentados 2 vezes por dia durante 150 dias, entre os meses de agosto a dezembro.

Semanalmente os parâmetros físico-químicos da água foram avaliados. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de um pHmetro da marca YSI Enviromental (Modelo 100), as medidas de temperatura e oxigênio dissolvido foram realizadas com eletrodo de um monitor YSI 550-A. As concentrações de alcalinidade e dureza foram determinadas pelo método de titulação das amostras, e a amônia total, pelo método de endofenol.

No início e a cada biometria mensal, os animais foram pesados e medidos. No final do período experimental, três peixes de cada gaiola, totalizando nove peixes de cada tratamento, foram sacrificados por perfuração da fontanela craniana. As brânquias foram removidas, e fixadas em

formol (5%) para contagem de monogonoides em cada arco branquial com auxílio de microscópio estereoscópico.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água das gaiolas, analisados durante todo o período experimental, permaneceram adequados ao equilíbrio orgânico dos peixes (Tabela 1). Os resultados obtidos neste estudo mostraram que as densidades de estocagem utilizadas no período de 150 dias não alteraram as variáveis hidrológicas analisadas que permaneceram dentro dos padrões adequados para o bom desenvolvimento do tambaqui cultivado em gaiola (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

Tabela 1. Média dos parâmetros de qualidade da água antes e após banhos terapêuticos com eugenol para tambaqui.

	Temp. (°C)	pH	Oxigênio (mg/L)	Dureza (mg CaCO ₃ /L)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	Amônia (mg/L)
Inicial	29,8	8,07	8,80	2,2	3,3	0,05
Período experimental	29,0	6,14	6,63	2,3	2,7	0,30

Nas biometrias pode-se observar que o crescimento estabilizou em 120 dias de experimento (Figura 1) e o peso e comprimento dos animais foi maior nas densidades de 10, 20 e 30 peixes/m³. A sobrevivência das densidades de 10, 20, 30, 40 peixes/m³ foram de 99%. A sobrevivência média observada neste trabalho foi semelhante à obtida para o tambaqui nos sistemas de recria em tanque-rede (80%) e tanque (94%) (SOUZA et al., 1998; BRANDÃO et al., 2004).

No entanto, o número de monogonoides foi significativamente maior na densidade de 30 peixes/m³ (Figura 2).

De acordo com Jobling (1994), altas densidades de estocagem geram problemas de espaço e afetam a taxa de crescimento, assim como aumentam o número de parasitas, em função do estresse causado pela condição de criação.

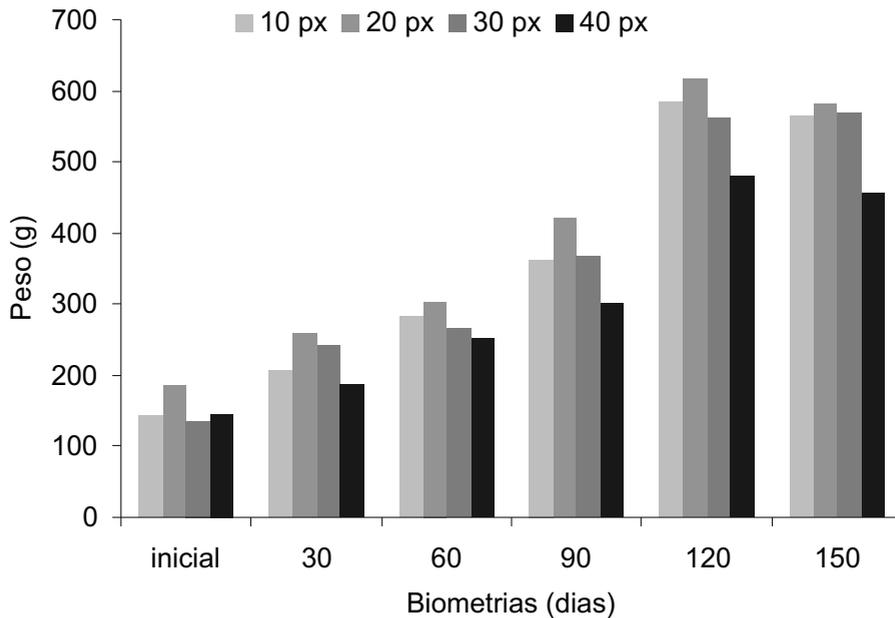


Figura 1. Peso de juvenis de tambaqui estocados com diferentes densidades de estocagem em gaiolas de pequeno volume.

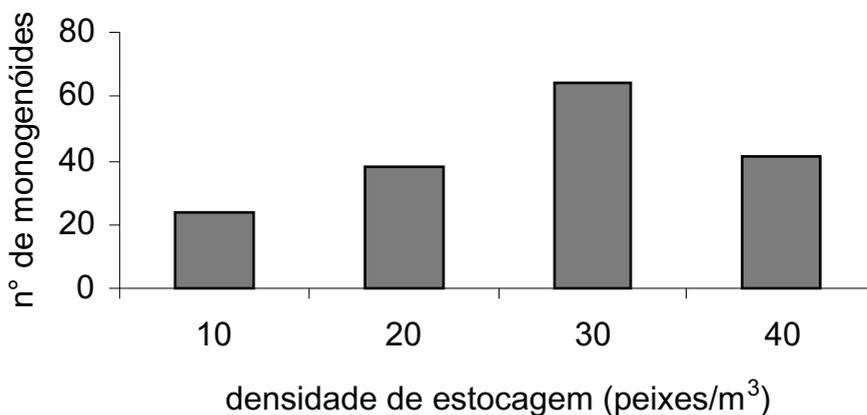


Figura 2. Contagem de monogenoides encontrados em brânquias de tambaquis estocados em diferentes densidades nas gaiolas de pequeno volume.

Diferente dos resultados obtidos neste estudo, Merola & Souza (1988) mostraram que tambaquis mantidos em tanque-rede de pequeno volume em diferentes densidades de estocagem não tiveram influência sobre o desempenho dos animais.

Conclusões

Nas condições em que foi realizado este experimento pode-se concluir que, para tambaqui, as densidades de estocagem de 10 e 20 peixes/m³ apresentam melhores resultados de desempenho em gaiolas de pequeno volume e menor incidência de monogenoides.

Agradecimentos

Agradecemos à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pela disponibilidade do laboratório e suporte para realização deste trabalho; à Fapeam por ter concedido a bolsa; ao operário rural, Sr. José Pereira, e aos bolsistas, Franmir Brandão e Carla, pela ajuda nas análises e manejo dos peixes; aos pesquisadores, da área de piscicultura, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho

Referências

- BERNARDINO, G. Piscicultura atinge 7,1 mil ton ano. **Jornal do Comércio**, Manaus, AM, 14 dez 2006.
- BEVERIDGE, M.C.M. **Cage aquaculture**. Surrey, England: Fishing News Books, 1987.
- BORGHETTI, J.R.; CANZI, C. The effect of water temperature and feeding rate on the growth rate of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) raised in cages. **Aquaculture**, v.114, p.93-101, 1993.
- BOZANO, G.L.N.; J.A. FERRAZ DE LIMA. **Avaliação do crescimento de pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887, em gaiolas com diferentes espaços de confinamento**. In: J.E.P. CYRINO; J.C. DE MOURA, editores. Anais do Simpósio Brasileiro de Aquicultura 8 e Encontro Brasileiro de Patologia de Organismos Aquáticos 3, Resumos: 4. FEALQ, Piracicaba, SP. 1994.
- BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS E. C.; ARAÚJO L. D. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.39, n.4, p.357-362, 2004.
- CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.
- CASTAGNOLLI, N.; TORRIERI-JUNIOR, O. Confinamento de peixes em tanques-rede. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 32, n. 11, p. 1513-1517, nov. 1980.
- CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; ITUASSÚ, D.R.; GANDRA, A.L.; CRESCÊNCIO, R. 2003a. Stocking density effect growth homogeneity juvenile pirarucu in confined environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38: 103-107.
- CHAGAS, E.C.; LOURENÇO, J.N.P.; GOMES, L.C.; VAL, A.L. **Desempenho e estado de saúde de tambaquis cultivados em tanques-rede sob diferentes densidades de estocagem**. In: URBINATI, E.C.; CYRINO, J.E.P. (Eds.). XII Simpósio Brasileiro de Aquicultura. Aquabio, Jaboticabal, SP. p. 83-93. 2003.
- EL-SAYED, A. Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. **Aquaculture Research**, v.33, p.621-626, 2002.
- GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J.A. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. **Aquaculture**, v.183, p.73-81, 2000.
- IGUCHI, K.; OGAWA, K.; NAGAE, M.; ITO, F. The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*). **Aquaculture**, v.202, p.515-523, 2003.

- JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. London: Chapman & Hall, 1994. 294p.
- KUBITZA, F. **Qualidade da água na produção de peixes**. 3. ed. Jundiá: ...,1999. 97 p.
- 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 Amazonica**, v.31, n.1, p.133-143, 2001.
- MEROLA ,N.,SOUZA ,H. Cage culture of the Amazon fish tambaqui, *Colossoma macropomum*, at two stocking densities. **Aquaculture**, 71, 15-20. 1988.
- SCHMITTOU, H.R. **The culture of channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) in cages suspended in ponds**. 226–244p. In: Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern Association Of Game And Fish Commissioners 23. Auburn University, AL, USA. 1969.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Ecologia geral de viveiros e tanques de criação. In: Workshop Sobre a Qualidade da Água Na Aqüicultura, 1996, Pirassununga, SP. **Anais...** Pirassununga: CEPTA, 2000. 92 p.
- SOUZA, R.A.L.; MELO, J.S.C.; PEREIRA, J.A.; PERET, A.C. Determinação da densidade de estocagem de alevinos de tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 (Pisces; Characidae) no Estado do Pará – Brasil. **Boletim Técnico do CEPTA**, v.11, p.39-48, 1998.
- VARELLA, A.M.B.; PEIRO, S.N.; MALTA, J.C.O.; LOURENÇO, J.N.P. **Monitoramento da parasitofauna de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Osteichthyes: Characidae) cultivado em tanques-rede em um lago de várzea da Amazônia, Brasil**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2003, Goiânia. Anais. Jaboticabal: Aquabio, 2003. v.1, p.95-106. Editado por E.C. URBINATI, J.E.P. CYRINO.

Potencial do Óleo Essencial de Alfavaca-Cravo (*Ocimum gratissimum*) no Controle de Monogenoides em Tambaqui (*Colossoma macropomum*)¹

William Sandro da Cunha Miranda
Cheila de Lima Boijink
Edivânia Carvalho
Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue
Francisco Célio Maia Chaves

Resumo

Este trabalho avaliou o uso do óleo de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) no controle de monogenoides, parasito de brânquias de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Peixes naturalmente parasitados foram submetidos a banhos terapêuticos com diferentes concentrações de óleo de alfavaca (0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L e 15 mg/L) durante 15 minutos de exposição ao produto. Após os banhos terapêuticos, os animais foram colocados em caixas d'água de fibra de vidro com capacidade para 150 L, sem o produto, para que os parasitos mortos se desprendessem. Uma semana após os banhos, 15 peixes de cada tratamento foram sacrificados para retirada das brânquias, que foram fixadas em formol (5%) para contagem de monogenoides. O mesmo procedimento foi repetido após 14 dias do banho. Uma semana após a exposição, a intensidade de parasitos teve redução significativa somente nos grupos tratados com 10 mg de óleo de alfavaca/L, apresentando eficácia de 93,75%. Durante exposição às concentrações de 10 mg/L e 15 mg/L, os animais se apresentaram anestesiados, retornando à condição normal logo após a colocação em água sem o produto. Assim, é possível concluir que o tambaqui é tolerante a banhos terapêuticos com óleo de alfavaca, que pode ser utilizado como produto alternativo eficaz no controle de monogenoides. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar as respostas fisiológicas dos peixes.

Termos para indexação: piscicultura, produtos naturais, parasita, peixes, brânquias.

¹Plano de Trabalho.

Introdução

A intensificação de organismos aquáticos nos sistemas de produção tem revelado obstáculos que afetam diretamente a produtividade e o crescimento da atividade, estando à área de Sanidade como um dos principais entraves e que proporciona a base para o estudo e desenvolvimento de novas tecnologias. Altas densidades, manejo inadequado, deficiências nutricionais e variações nas características físico-químicas das condições ambientais adequadas e baixa resistência do organismo cultivado são propícios à proliferação de patógenos, muitas vezes oportunistas, culminando com mortalidades, perdas econômicas com consequências na produtividade (MARTINS et al., 2001).

No Amazonas, as espécies mais cultivadas e que apresentam maior interesse econômico para a piscicultura são o tambaqui (*C. macropomum*), a matrinxã (*Brycon amazonicus*) e o pirarucu (*Arapaima gigas*). Entretanto, o tambaqui tem sido o carro-chefe, representando mais de 90% da produção de 7 mil t/ano (BERNARDINO, 2006), por melhor se enquadrar nas características necessárias para aceitação no mercado amazonense e por apresentar maior disponibilidade de alevinos aos piscicultores. A produção nacional de tambaqui está na faixa das 20 mil t/ano, representando 12,2% dos peixes cultivados no País (CRESCÊNCIO, 2005). Atualmente uma das questões que mais preocupam os técnicos e produtores rurais no Amazonas é a ocorrência de doenças. Muitas enfermidades requerem práticas de manejo preventivas. Porém nem sempre são tomados esses cuidados, o que pode representar sério risco econômico aos produtores rurais, pois os prejuízos causados pelas doenças em peixes podem atingir níveis irreversíveis.

Entre as doenças parasitárias, as mais comumente relatadas para o tambaqui são causadas por monogenoídeos, acantocéfalos, *Myxobolus* sp., copépodos, braquiúros e fungos (MALTA et al., 2001). Criações de tambaqui em tanques-rede têm mostrado maior intensidade parasitária dos monogenoídeos, sendo eles o grupo que causa maior severidade em termos de doenças em peixes (VARELLA et al., 2003).

Os monogenoídeos caracterizam-se, principalmente, pela presença de um aparelho de fixação localizado geralmente na parte posterior do corpo, o haptor. Essa estrutura é formada por uma série de ganchos, barras e âncoras, que são introduzidos nas brânquias dos peixes para fixação. Provoca uma série de reações, podendo culminar em hipersecreção de muco, o que poderia levar os animais à morte por asfixia ou provocar lesões que facilitam a penetração de agentes secundários – fungos e bactérias (THATCHER e NETO, 1994).

Tratamento via banhos com vários químicos terapêuticos e inseticidas tem sido conduzido com diversas espécies de peixes, utilizando-se paration metílico, mebendazol, formalina, permanganato de potássio, cloreto de sódio, ácido acético e peróxido de hidrogênio (KABATA, 1985; THATCHER, 1991; PAVANELLI et al., 2002; ARAÚJO, 2005). Alguns dos produtos usualmente aplicados são tóxicos aos peixes e ao meio ambiente.

Atualmente pesquisadores têm sugerido produtos orgânicos como alternativa de tratamento na agropecuária. A "sabedoria popular", muitas vezes, tem indicado que determinadas plantas podem ser utilizadas na fitoterapia. Várias pesquisas têm realmente atestado a ação dessas plantas, que ao

mesmo tempo demonstram reações tóxicas no organismo hospedeiro. A relação entre ação da planta, dosificação com ação significativa e efeito tóxico deve ser muito bem investigada, para que os conhecimentos adquiridos possam ser passados de maneira clara no momento da utilização prática do fitoterápico (CHAGAS, 2004).

A alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) pode ser promissora, pois apresenta o eugenol em sua composição. Utilizado como anestésico, é rapidamente metabolizado e excretado (WAGNER et al. 2002; PESSOA et al., 2002), também é utilizado como antimicótico e anti-helmíntico, além de apresentar propriedades antibactericidas (KARAPMAR e AKTUG 1987; PESSOA et al., 2002; HUSSAIN et al., 2000), sendo que para peixes, até o momento, só foi testado como anestésico.

Os produtos alternativos no controle de parasitas podem ser amplamente utilizados e proporcionarão a redução de resíduos nos produtos animais comercializados e no meio ambiente, que são motivo de preocupação para sociedade. Essa alternativa pode contribuir com informações para o desenvolvimento da piscicultura de forma sustentável.

Portanto, para que a atividade aquícola possa ser competitiva e sustentável, é necessário que os problemas relacionados à ocorrência de doenças parasitárias sejam resolvidos, principalmente para peixes de alto valor econômico, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), que é a espécie mais cultivada na região Norte do Brasil (IBAMA, 2006). Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso do óleo de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) no controle de monogenoides, parasito

das brânquias de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui (peso médio $16,3g \pm 3,9$) adquiridos na Estação de Balbina, localizada no Município de Presidente Figueiredo, AM, foram trazidos para o Setor de Piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental para adaptação até o início do experimento, aproximadamente 45 dias. Os animais foram alimentados até saciedade aparente, com ração comercial extrusada com 34% de PB. Antes do experimento, a alimentação foi suspensa por 24 horas. Foram retiradas às brânquias de 15 peixes para verificar a presença de monogenoides antes do início do experimento.

Para os banhos terapêuticos, os animais foram colocados em caixas de 150 L com aeração constante, 50 animais por tratamento, com 3 repetições.

Os parâmetros físico-químicos das unidades experimentais foram avaliados antes da preparação dos tratamentos e durante 15 minutos de exposição ao óleo de alfavaca e ao final de 7 e 14 dias após banhos. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de um pHmetro da marca YSI Environmental (Modelo 100), as medidas de temperatura e oxigênio dissolvido foram realizadas com eletrodo de um monitor YSI 550-A. As concentrações de alcalinidade e dureza foram determinadas pelo método de titulação das amostras, e a amônia total, pelo método de endofenol. Ao longo do experimento, os peixes foram observados para detecção de eventuais alterações de comportamento ou surgimento de lesões externas. O óleo essencial foi obtido de matrizes de 1,5 anos de idade, cultivadas no setor de Plantas Medicinais da Embrapa Amazônia

Ocidental. Utilizou-se aparelho tipo Clevenger para extração do óleo. O teor de eugenol no óleo foi de 89,0%, determinado por cromatografia gasosa.

Após 7 e 14 dias dos banhos terapêuticos, 15 animais foram capturados e sacrificados por perfuração da fontanela craniana, as brânquias foram removidas e fixadas em formol (5%) para contagem de monogenoides em cada arco branquial com auxílio de microscópio estereoscópico.

De posse dos resultados, foram estabelecidos o índice de intensidade média de parasitos (n° total de parasitos / n° de peixes) e a prevalência (n° de hospedeiros infectados / n° total de peixes x 100), segundo recomendações de Bush et al. (1997). O percentual de eficácia foi determinado pelo n° de parasitos do grupo inicial menos o n° de parasitos após o tratamento, dividido pelo n° de parasitos do grupo inicial x 100 (MARTINS et al., 2001).

Tabela 1. Média dos parâmetros de qualidade da água antes e após banhos terapêuticos com eugenol para tambaqui.

	Temp. (°C)	pH	Oxigênio (mg/L)	Dureza (mg CaCO ₃ /L)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	Amônia (mg/L)
Inicial	27,3	4,7	7,0	5,8	9,3	1,4
Durante banhos	27,2	4,6	6,8	7,5	12,5	1,3
7 dias após	25,7	5,5	4,7	6,6	12,3	1,1
14 dias após	25,6	5,5	4,6	8,2	10,3	1,0

Quanto ao comportamento dos tambaquis, estes ficaram anestesiados durante o banho com óleo de alfavaca e retornaram à condição normal logo após a colocação nas caixas com água sem o produto. Esse comportamento provavelmente foi em função do eugenol, que vem sendo utilizado como anestésico na aquicultura, pois é rapidamente

Os resultados foram submetidos à Anova, e as médias foram comparadas pelo teste de Dunnet, comparando o grupo controle com os tratados, e teste t para comparar o número de parasitos logo após o tratamento e 7 dias depois. O programa estatístico para processamento dos dados foi o Statistica 6.0.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água, antes e no final no período experimental onde foram estocados os juvenis após os banhos terapêuticos, permaneceram adequados ao equilíbrio orgânico dos peixes (Tabela 1).

Os resultados demonstram que não houve alterações durante o período experimental, permanecendo dentro dos padrões adequados (SIPAÚBA-TAVARES, 1995), comprovando a não interferência nos resultados observados.

metabolizado e excretado (INOUE, et al., 2005; ROUBACH, et al., 2005; DERIGGI, et al., 2006).

A prevalência de monogenoides nos juvenis de tambaqui, antes e durante o período experimental, foi de 100%, pois os peixes estavam naturalmente parasitados.

O banho terapêutico com óleo de alfavaca (Figura 1) que apresentou maior eficácia no controle de monogenoídeos foi o de concentrações 10 mg/L e 15 mg/L. Essas concentrações resultaram em redução significativa de aproxi-

madamente 93,75% e 100% no número de parasitas, respectivamente, em relação ao grupo controle, sem óleo de alfavaca. Nos banhos com 5 mg/L de óleo de alfavaca, não houve diferença em relação ao grupo controle.

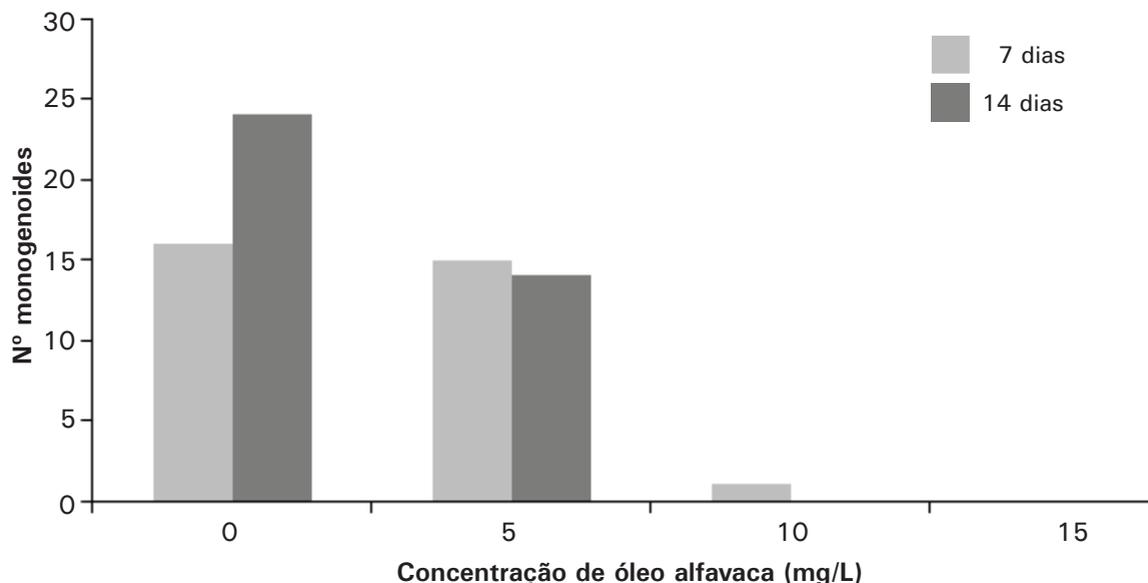


Figura 1. Intensidade de monogenoídeos de brânquias coletados 7 e 14 dias após a exposição de juvenis de tambaqui submetidos a banhos terapêuticos e diferentes concentrações de óleo de alfavaca.

Esses dados corroboram o observado por Miranda et al. (2009), ao trabalharem com diferentes concentrações de eugenol. No entanto, as concentrações de eugenol utilizadas pelos pesquisadores demonstraram 81% de eficácia como anti-helmíntico. Outros anti-helmínticos, como albendazol e praziquantel, demonstraram aumento considerável no número de parasitos após o tratamento (ONAKA et al., 2003). Aumento esse atribuído ao estresse, ou seja às alterações fisiológicas causadas pelo tratamento. Qualquer que seja a origem do estresse ocorrem alterações do equilíbrio orgânico que colocam a saúde em risco (WEDEMEYER, 1997), pois a elevação dos níveis plasmáticos de cortisol deprime os mecanismos de defesa dos peixes (PICKERING e

POTTINGER, 1985; MAULE et al., 1989), resultando em aumento da suscetibilidade às doenças (BARTON & IWAMA, 1991).

Martins et al. (2001) também observaram que banhos com mebendazol apresentam eficácia significativa no pacu (*Piaractus mesopotamicus*), porém foram observadas alterações no número de linfócitos e trombócitos após o tratamento.

O Brasil tem um enorme potencial com relação a plantas medicinais, uma vez que as plantas da região amazônica são ricas em propriedades terapêuticas. 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

despertam uma visão nova na prevenção e no tratamento de enfermidades em peixes, pois oferecem alternativa para aproveitamento dos produtos da floresta de maneira econômica e, se bem explorada, sustentável. Sendo assim, outras investigações serão realizadas para viabilizar a utilização do óleo de alfavaca como anti-helmíntico na aquicultura.

Conclusões

Os dados indicam que o tambaqui é tolerante a banhos terapêuticos com óleo de alfavaca, que pode ser utilizado como produto alternativo eficaz no controle de monogenoides. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar as respostas fisiológicas dos peixes.

Agradecimento

À Fapeam, pelo auxílio financeiro, e à Embrapa Amazônia Ocidental, pela estrutura e pelo apoio técnico.

Referências

ARAÚJO-LIMA, C.; GOMES, L. Tambaqui *Colossoma macropomum*. In: - **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 1 ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2005, pp. 175-202.

BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Ann. Rev. Fish Dis.**, 1: 3-26, 1991.

BERNARDINO, G. Piscicultura atinge 7,1 mil ton ano. **Jornal do Comércio**, Manaus/AM 14 dez 2006.

BUSH, A.O.; K.D. LAFFERTY; J.M. LOTZ; A.W. SHOSTAK. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **Journal of Parasitology**, Lancaster, v.83, p. 575-583, 1997.

CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, suplemento 1, p. 156-160, 2004.

CRESCÊNCIO, R. Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação. In: **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 1 ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2005. pp. 23-33.

DERIGGI, G.; INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. **Acta Scientiarum** (UEM), v. 28, p. 269-274, 2006.

HUSSAIN, M.M.A.; WADA, S.; HATAI, K.; YAMAMOTO, A. Antimycotic activity of eugenol against selected water molds. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.12, p.224-229, 2000.

IBAMA. Ibama divulga estatísticas de 2004. **Panorama da Aquicultura**, v. 92, 2006.

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

KABATA, Z. **Parasites and diseases of fish cultured in the tropics**. Ed. Taylor & Francis, Philadelphia, USA. 1985. 318p.

- KARAPMAR, M.; AKTUG, S.E. Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. **International Journal of Food Microbiology**, v. 4, p.161-166, 1987.
- MALTA, J.C.O.; GOMES, A.L.S.; ANDRADE, S.M.S.; VARELLA, A.M.B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neochinorhynchus buttenerae*, (*Eoacanthocephala: Neoechinorhynchidae*) em tambaquis jovens, *C. macropomum* cultivados na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v.31, n.1, p.133-143, 2001.
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea, Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes, Characidae) in Brazil. Efficacy and hematology. **Acta Parasitologica**, v.46, p.332-336, 2001.
- MAULE, A.G.; TRIPP, R.A.; KAATTARI, S.L.; SCHRECK, C.B. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **J. Endocrinol.**, v.120, p.135-42, 1989.
- MIRANDA, W. S. da C.; CARVALHO, E. da S.; BOIJINK, C. Avaliação da atividade anti-helmíntica do eugenol em tambaqui (*Colossoma macropomum*) infectados com monogenoídeos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 61., 2009, Manaus. **Anais / resumos...** Manaus: SBPC, 2009.
- ONAKA, E.M.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R. Eficácia do albendazol e praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasita de Pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. banhos terapêuticos. **Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo**, v. 29, n. 2, p. 101-107, 2003.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2 ed. Maringá: Eduem, 2002. 305p.
- PESSOA L.M.; S.M. MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; LUCIANO, J.H.S. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 59–63, 2002.
- PICKERING A.D.; POTTINGER T.G. Cortisol can increase the susceptibility of brown trout, *Salmo trutta* L. to disease without reducing the white blood cell count. **J. Fish Biol.** 27: 611-619, 1985.
- ROEDER, R. **Promoção da agricultura em regiões semi-áridas do Nordeste (Piauí) brasileiro: Pesquisa sobre a pecuária no planalto da chapada**. Teresina. DNOCS – 1ª DR, Eschborn: GTZ, 1988. 125p.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A.L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Oxford, UK, v. 36, n. 11, p. 1056-1061, 2005.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H. **Limnologia Aplicada à Aqüicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 70 p. 1995.

THATCHER, V.E. Amazon Fish Parasites. **Amazoniana**, v.11, n.3-4, p.1-568, 1991.

THATCHER, V.E.; NETO, J.B. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.16, n.3, p.111-128, 1994.

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

WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility of rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. **Aquaculture**, v. 211, p. 353-366, 2002.

WEDEMEYER, G. A. Physiology of fish in intensive culture systems. Chapman & Hall. 2: 10-59, 1997.

Respostas Metabólicas do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) a Banhos Anestésicos com Benzocaína¹

Shirley de Sousa Ribeiro
Cheila de Lima Boijink
Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as respostas metabólicas do tambaqui (*Colossoma macropomum*) a banhos anestésicos com benzocaína. Os peixes foram estocados em 12 gaiolas flutuantes e 4 tratamentos foram testados, sendo 2 concentrações de benzocaína, assim divididos: T1 – Controle; T2 – 0 ppm; T3 – 15 ppm; T4 – 60 ppm, com três repetições cada. Após os banhos foram determinados os valores médios do hematócrito, hemoglobina, glicose, do volume corpuscular médio (VCM), da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM); e média das células vermelhas do sangue (RBC), para avaliação de possível estresse produzido pelo anestésico. Os resultados demonstraram que a glicose plasmática apresentou elevações significativas nos tratamentos T1, T2 e T3 de forma crescente em respostas aos estímulos aplicados no estudo. Percebe-se que a benzocaína não diminuiu o estresse do tambaqui, sendo, inclusive, verificado estresse adicional pelo seu uso no tempo de exposição empregado neste trabalho.

Termos para indexação: peixe, anestésico, piscicultura, estresse, respostas metabólicas.

¹Plano de Trabalho.

Introdução

A piscicultura é uma atividade que vem crescendo com grande potencial nos últimos anos, e, dentre o cultivo de várias espécies nativas, o tambaqui (*C. macropomum*), peixe da Bacia Amazônica, é a espécie com excelente potencial para cultivo, por apresentar bom crescimento, hábito gregário, resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido e excelente utilização de alimentos (SAINT-PAUL, 1986). Entretanto, contrário as suas excelentes características, seu manejo tem se apresentado complicado devido a sua agitação. Tal manuseio gera alto nível de estresse, resultando em consequências indesejáveis, como ferimentos na superfície do corpo, perda de escamas, propiciando a manifestação de patógenos, doenças infecciosas e/ou posterior morte (INOUE et al., 2004).

Como meio para facilitar o manejo e amenizar danos causados aos peixes, é comum a utilização de anestésicos, como a tricafina metano sulfonato (MS 222), a quinaldina e o 2-fenoxietanol. Porém, esses anestésicos são de difícil obtenção e têm custo elevado (ROUBACH & GOMES, 2001).

Assim, a benzocaína (etil 4-amino benzoato), por atender aos critérios anteriores, sendo de fácil manipulação e sem aparentes riscos de intoxicação, vem sendo bastante utilizada para a imobilização de peixes, para tornar as práticas de manejo do dia a dia da piscicultura melhor e com mais segurança.

O presente trabalho analisou as respostas metabólicas do tambaqui (*C. macropomum*) a banhos anestésicos com benzocaína, através das análises de glicose, hemoglobina, média das células vermelhas do sangue (RBC), do volume

corpuscular médio (VCM), da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hematócrito.

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui da mesma idade foram obtidos na estação de piscicultura da usina hidrelétrica de Balbina, Município de Presidente Figueiredo, AM, e trazidos às instalações da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada em Manaus, AM. Os peixes foram estocados em viveiro escavado e alimentados durante 4 meses até atingir aproximadamente 100 g. Depois os peixes foram levados para gaiolas flutuantes, montadas em açude de operação de pesque-pague na Rodovia AM-10, Km 35. Doze gaiolas flutuantes de 1 m³ foram distribuídos ao acaso para estocagem de 10 peixes/gaiola, que foram utilizados no experimento, para quatro tratamentos com três repetições cada: Controle, T1, T2 e T3. Controle – os peixes foram somente amostrados nessas unidades. T1 – os tambaquis foram transferidos, utilizando-se puçá, para três caixas de isopor com capacidade para 20 litros de água cada, não contendo anestésico, ali permanecendo por 15 minutos e depois retornados aos tanques de origem. T2 e T3 tiveram manuseio similar ao aplicado ao T1, porém utilizou-se benzocaína nas caixas de isopor em concentrações de 15 mg/L e 60 mg/L, respectivamente. Três peixes de cada gaiola com 10 peixes foram amostrados logo após a imposição dos estímulos referentes aos tratamentos (0h) e depois de um período de recuperação de 24h. Amostras de sangue dos animais foram coletadas para análise de hematócrito, hemoglobina, RBC e separação do plasma para dosagem de glicose. Os peixes eram alimentados pela manhã, e a qualidade água do açude monitorada duas vezes por semana. Os

peixes ficaram em um período de aclimação para garantir condição basal dos animais, até o início do experimento de exposição do tambaqui ao anestésico benzocaína.

Para as análises hematológicas, o sangue foi coletado por punção caudal com seringas previamente heparinizadas e, então, centrifugado a 12.000 rpm durante três minutos, para a obtenção do plasma. A análise plasmática constou das concentrações de glicose. No sangue total foram determinados os valores médios de hematócrito, hemoglobina, média das células vermelhas do sangue (RBC), o volume corpuscular médio (VCM), da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM).

A análise de glicose foi obtida pelo método Glicose Oxidase (TRINDER, 1969), que tem por princípio catalisar a oxidação da glicose. A glicose reage com o oxigênio e com a água, liberando ácido glucônico e peróxido de hidrogênio. O peróxido reage com 4- aminoantipirina e fenol sob a ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento que forma uma antipirilquinonímia vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose na amostra. A leitura do material foi feita na "Microplate Reader" (Molecular Devices) com filtro de 525nm.

Para o hematócrito, em capilar de vidro preenchido com sangue e sedimentados de micro-hematócrito a 21.000 x g por 3 min. Os valores foram calculados a partir de um cartão de leitura padronizado, e os valores foram expressos em %.

A hemoglobina foi determinada misturando-se 10 mL de sangue em 2mL de solução de Drabkin (KCN, KH₂PO₄, K₃[Fe(CN)₆] em água destilada). Leitura

óptica em eletrofotômetro em 540 nm. Para o cálculo de hemoglobina total foi utilizada a fórmula: HB total g% = O.D.540 x 1,6114 / 11 x FD, onde FD = fator de diluição.

Para determinação do RBC foi pego uma alíquota de 10 µL de sangue misturada a 2 mL de solução de citrato formol, agitada e colocado 10 µL desta mistura em Câmara de Neubauer (LIMA et al., 1969). Para o Volume Globular Médio utilizou-se a fórmula (VCM) = Htc. 10/Eri e para a Concentração de Hemoglobina Glo-bular Média (CHCM) = Hb . 100 / Hct.

As variáveis hematológicas foram submetidas à análise de variância unifatorial para cada tempo independentemente, e àquelas que apresentaram diferenças significantes ($p < 0,05$) foram submetidas ao teste de contraste de médias de HSD para amostras desiguais.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água (Tabela 1) não apresentaram diferença significativa durante todo o período experimental, os valores se apresentaram dentro do tolerado pela espécie.

De todas as variáveis sanguíneas analisadas no experimento referentes ao tempo 0h e depois de um período de recuperação de 24h, somente a glicose plasmática apresentou elevações significativas em respostas aos estímulos aplicados no estudo, cuja finalidade era simular a prática de manejo de banhos anestésicos com benzocaína. A glicose plasmática aumentou nos tratamentos T1, T2 e T3 de forma crescente (Tabela2).

Tabela 1. Qualidade da água das gaiolas onde foram mantidos os animais experimentados.

Dia	T° C	O.D. (mg/L)	pH
27/1/2009	29.5	6.09	5.98
29/1/2009	28.9	6.81	6.22
2/2/2009	30.1	5.88	6.20
5/2/2009	29.7	6.74	6.38

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de tambaqui (*C. macropomum*) submetidos as diferentes concentrações de benzocaína, no tempo 0 e 24 horas após a exposição.

Tratamento	Glicose 0	Glicose 24	Hb 0	Hb 24	RBC 0	RBC 24
Controle	72,57 ± 12,90 ^a	12,00 ± 16,97 ^a	8,73 ± 0,70 ^a	7,80 ± 0,53 ^a	2,88 ± 0,21 ^a	1,81 ± 0,68 ^a
T1-0 ppm	113,36 ± 27,30 ^{ab}	124,56 ± 25,97 ^{ab}	7,92 ± 2,23 ^a	8,34 ± 0,63 ^a	2,61 ± 0,45 ^a	1,89 ± 0,11 ^a
T2-15 ppm	125,36 ± 41,92 ^b	112,90 ± 14,58 ^b	7,64 ± 0,67 ^a	8,57 ± 0,49 ^a	2,70 ± 0,16 ^a	1,91 ± 0,12 ^a
T3-60 ppm	168,68 ± 19,36 ^c	130,07 ± 23,72 ^c	7,71 ± 0,81 ^a	8,69 ± 0,74 ^a	2,85 ± 0,23 ^a	1,93 ± 0,05 ^a

Tratamento	VCM 0	VCM 24	CHCM 0	CHCM 24	Hemat. 0	Hemat. 24
Controle	105,91 ± 6,01 ^a	184,43 ± 11,52 ^a	28,84 ± 3,28 ^a	23,46 ± 2,46 ^a	30,50 ± 3,18 ^{ab}	33,38 ± 2,36 ^{ab}
T1-0 ppm	105,55 ± 16,88 ^a	151,39 ± 68,23 ^a	30,46 ± 13,95 ^a	24,97 ± 2,44 ^a	27,39 ± 5,37 ^a	33,43 ± 1,72 ^a
T2-15 ppm	114,09 ± 6,77 ^a	176,33 ± 14,24 ^a	24,94 ± 3,26 ^a	25,70 ± 3,31 ^a	30,83 ± 2,62 ^{ab}	33,71 ± 3,59 ^{ab}
T3-60 ppm	117,75 ± 5,80 ^a	143,34 ± 64,42 ^a	23,06 ± 2,29 ^a	26,51 ± 2,98 ^a	33,61 ± 3,59 ^b	32,42 ± 2,33 ^b

Letras diferentes na vertical indicam diferenças significantes pelo teste de HSD para amostras desiguais.

Observa-se que a benzocaína não diminuiu o estresse do tambaqui nas concentrações testadas, sendo inclusive verificado estresse adicional pelo seu uso no tempo de exposição do peixe neste trabalho. Pode-se observar com mais detalhes na Figura 1 que a glicose aumentou logo após o banho com benzocaína.

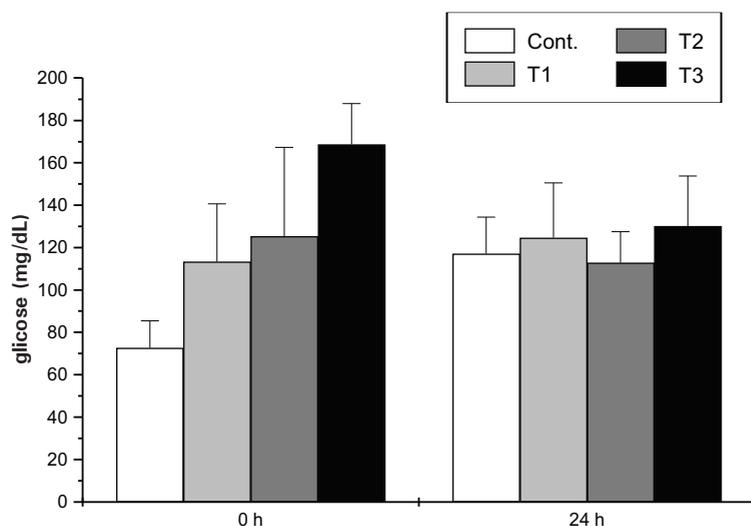


Figura 1. Glicose plasmática do tambaqui submetido a banhos anestésicos com benzocaína. Cont – peixes somente amostrados nas gaiolas de aclimação. T1 – peixes foram transferidos para caixas com 20 L de água por 15 minutos. T2 e T3 – sofreram os mesmos estímulos, porém com benzocaínas nas caixas em concentrações de 15 mg/L e 60 mg/L, respectivamente.

Conclusões

Nas condições em que foi realizado o experimento nas concentrações de 0 mg/L, 15 mg/L e 60 mg/L de benzocaína, o estresse do tambaqui não diminuiu, verificando-se inclusive estresse adicional pelo tempo de exposição empregado neste trabalho.

Agradecimentos

À Fapeam, pelo auxílio financeiro, e à Embrapa Amazônia Ocidental, pela estrutura e pelo apoio técnico.

Referências

INOUE, L. A. K. A.; HACKBARH, A.; MORAES, G. Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã (*Brycon cephalus*) (Günter, 1869). **Biodiversidade Pampeana**, v. 2, n.2, 2004, p.10-15.

INOUE, L.A.K.A., SANTOS-NETO, C., MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v.33, n.5, 2003, p.943-947.

LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J. **Métodos de laboratório em clínica médica**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 4ª Edição. 1969. 653 pp.

ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panor Aquicult.**, v. II, n. 66, p. 37-40, 2001.

SAINT-PAUL, U. Pontential for aquaculture of South American Freshwater Fishes: a review. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 54, p. 205-240, 1986.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase withi the alternative oxygen acceptor. **Ann. Clin. Biochem.**, v.6, p. 24-25, 1969.

Respostas Sanguíneas e Plasmáticas do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) a Banhos Anestésicos de Eugenol

Patrícia Teixeira Ribeiro
Mariana Amaral Câmara Dias
Ana Maria Dias da Silva
Elisabeth Gusmão Affonso
Cheila de Lima Boijink
Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue

Resumo

O tambaqui vem conquistando a atenção de muitos piscicultores da Amazônia Ocidental. Essa espécie é bastante apreciada também pelos consumidores de outros estados brasileiros. No entanto, esse animal é sensível às diversas práticas de manejo do dia a dia da piscicultura, podendo ocorrer a morte de animais. Uma das alternativas possíveis de reduzir o estresse é o uso de anestésicos como o eugenol. Esse produto natural pode amenizar esses danos, sendo ainda de extrema importância, visto que é de custo acessível e sem risco aparente de intoxicação aos peixes e operadores. Dessa forma, este trabalho avaliou respostas sanguíneas e plasmáticas do tambaqui durante a realização de banhos anestésicos simulados, nas doses de 0 mg/L, 15 mg/L e 60 mg/L durante 15 minutos. Uma parcela dos peixes não foi manuseada nem anestesiada, representando o grupo controle. Amostras de sangue dos animais foram coletadas para análise de hematócrito e separação do plasma para dosagem de glicose, amônia plasmática.

Termos para indexação: piscicultura, manejo, anestésicos.

Introdução

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é o peixe mais cultivado na Amazônia Ocidental (GOULDING, 1980). No entanto, esse animal é sensível às práticas de manejo do dia a dia da piscicultura. O estresse, quando em intensidade excessiva, pode resultar em consequências desastrosas, como a proliferação de patógenos e doenças infecciosas, bem como a morte de animais.

Para amenizar esses danos e facilitar o manejo dos peixes, é comum o uso de anestésicos como a tricafina metano sulfonato (MS 222), a quinaldina, a benzocaína e o phenoxyethanol (INOUE et al., 2004). Porém, alguns efeitos colaterais são observados, tais como perda de muco, irritação nas brânquias e olhos e, também, alguns incômodos aos trabalhadores, como a necessidade do uso de luvas (INOUE et al., 2002).

Nesse sentido, o eugenol é um produto de extrema importância, por ser um produto natural, de custo acessível e sem aparente risco de intoxicação (INOUE et al., 2003). Esse produto é amplamente utilizado, principalmente nas áreas da odontologia e medicina como antisséptico e analgésico (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM, 2002). Isso evidencia ainda baixo risco de intoxicação aos humanos, de modo que a ingestão acidental de peixes expostos ao eugenol não representaria riscos evidentes para a saúde pública. Dessa forma, este trabalho avaliou respostas sanguíneas e plasmáticas do tambaqui durante a realização de banhos anestésicos simulados, de forma parecida aos conduzidos no campo.

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui de aproximadamente 100 gm foram estocados em 12 gaiolas flutuantes de 1 m³, montadas em açude de uma propriedade particular, Pesque-Pague San Diego, no Km 35 da AM-010, em densidade de 12 peixes por gaiola durante 10 meses. Os peixes foram alimentados diariamente com ração comercial até um dia antes do experimento. Os tanques foram distribuídos ao acaso para quatro tratamentos com três repetições cada: Controle, T1, T2 e T3. Controle – Os peixes foram somente amostrados nessas unidades. T1 – Os tambaquis foram respectivamente transferidos, utilizando-se puçá, para três caixas de isopor com 20 litros de água cada, não contendo eugenol, permanecendo aí por 15 minutos e depois retornados aos tanques de origem. T2 e T3 tiveram manuseio similar ao aplicado em T1, porém utilizou-se eugenol nas caixas de isopor em concentrações de 15 mg/L e 60 mg/L, respectivamente. Três peixes de cada gaiola com 12 peixes foram amostrados logo após a imposição dos estímulos referentes aos tratamentos (0h) e depois de um período de recuperação (24h). Amostras de sangue dos animais foram coletadas para análises de hematócrito e separação do plasma para dosagem de glicose (TRINDER, 1969) e amônia (GENTZKOW e MANSEN, 1942). Os peixes remanescentes permaneceram, ainda, em observação por mais um mês nas gaiolas, quando foram então retirados e contados novamente.

Resultados e Discussão

Não foi observada mortalidade de peixes durante todo o presente trabalho. Os valores sanguíneos de hematócrito apresentaram aumento significativo

somente em T3, 0 h após os estímulos experimentais. Vinte e quatro horas depois, os valores de hematócrito em T3 apresentaram-se semelhantes aos observados no grupo Cont (Figura 2).

Os valores de glicose e amônia do plasma apresentaram elevações em resposta ao manuseio imposto aos peixes em T2. Com relação ao eugenol, o tambaqui

apresentou resposta glicêmica e da amônia plasmática de maneira adicional, ou seja, devido ao anestésico, no tratamento T3 0h após estímulos. Vinte e quatro horas depois da imposição dos estímulos experimentais, os valores plasmáticos de glicose e amônia apresentaram-se semelhantes entre todos os tratamentos: Cont., T1, T2 e T3 (Figuras 1 e 3).

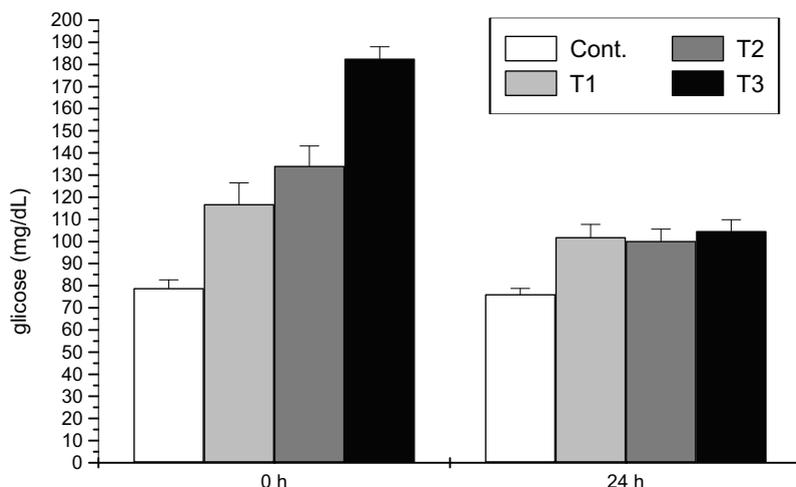


Figura 1. Valores de glicose plasmática em tambaqui submetido a banhos anestésicos com eugenol. Cont. – Peixes somente amostrados; T1 – Peixes transferidos de gaiola de aclimação para caixas com 20 L de água por 15 minutos; T2 – Mesmo manejo do tratamento anterior com exceção de que a caixa com 20 L de água continha eugenol em concentração de 15 mg/L; T3 – Idem a T1 e T2, porém com eugenol em concentração de 60 mg/L.

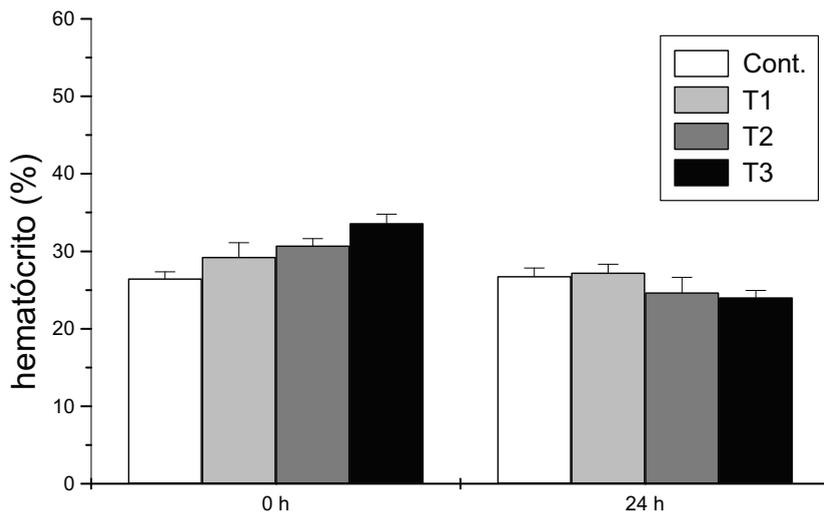


Figura 2. Valores de hematócrito em tambaqui submetido a banhos anestésicos com eugenol. Cont. – Peixes somente amostrados; T1 – Peixes transferidos de gaiola de aclimação para caixas com 20 L de água por 15 min; T2 – Mesmo manejo do tratamento anterior com exceção de que a caixa com 20 L de água continha eugenol em concentração de 15 mg/L; T3 – Idem a T1 e T2 porém com eugenol em concentração de 60 mg/L.

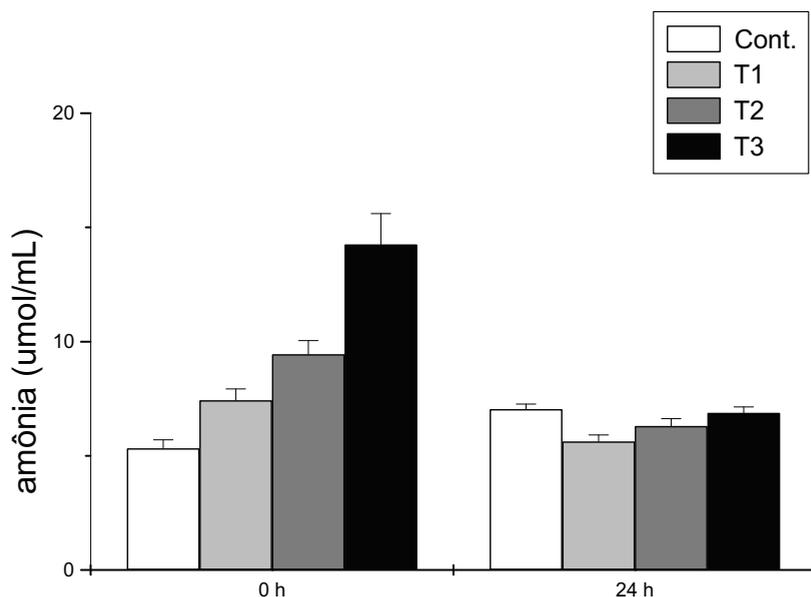


Figura 3. Valores de amônia plasmática em tambaqui submetido a banhos anestésicos com eugenol. Cont. – Peixes somente amostrados, T1 – Peixes transferidos de gaiola de aclimação para caixas com 20 L de água por 15 min, T2 – Mesmo manejo do tratamento anterior com exceção de que a caixa com 20 L de água continha eugenol em concentração de 15 mg/L, T3 – Idem a T1 e T2 porém com eugenol em concentração de 60 mg/L.

Conclusões

Não foi observada morte de peixes durante o experimento nem no mês subsequente. O tambaqui mostrou-se bastante responsivo aos estímulos aplicados durante o experimento, com aumentos claros do hematócrito, glicose plasmática e amônia plasmática, de acordo com o aumento da concentração do eugenol nos banhos anestésicos nas exposições de 15 minutos. Porém, 24h após os estímulos experimentais, todos os grupos de peixes apresentavam valores sanguíneos e plasmáticos semelhantes aos observados no grupo controle, que não sofreu imposição de estímulos adversos. Portanto, o eugenol mostrou-se interessante como anestésico para o tambaqui, porém o anestésico em exposições de 15 minutos foi estressante

aos animais. Possivelmente banhos anestésicos para tambaquis juvenis devam ser realizados em tempos inferiores.

Referências

GENTZKOW, C.J., MANSEN, J.M. Na accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **Journal of Biological Chemistry**, v.143, p. 531-544, 1942.

GOULDING, M. **The fishes and the forest: explorations in Amazonian natural history**. University of California Press, Berkley, 1980, 200 p.

INOUE, L.A.K.A., HACKBARH, A., MORAES, G. Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **Biodiversidade Pampeana**, v. 2, n.2, 2004, p.10-15.

INOUE, L.A.K.A., SANTOS-NETO, C., MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther,1869). **Ciência Rural**, v.33, n.5, 2003, p.943-947.

INOUE, L.A.K.A.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Benzocaína como anestésico de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Boletim Técnico do Cepta**, 2002. 15: 23-30.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. **Clove oil**. Capturado em 23 mai, 2002. Online. Disponível na Internet <http://ntp-server.niehs.nih.gov/>

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase withi the alternative oxygen acceptor. **Ann. Clin. Biochem.**, v.6, p. 24-25, 1969.

Uso do Neguvon no Controle de Monogenoides Durante o Transporte de Juvenis de Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Edivania Carvalho
Roger Crescêncio
William Sandro
Alcimara Bezerra
Cristiane Chagas

Resumo

O neguvon é um químico que vem sendo utilizado na piscicultura, no controle de monogenoides, porém sem protocolo de utilização definido. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de diferentes concentrações de neguvon, durante 2 horas de transporte, para controle de monogenoides em juvenis de tambaqui. Foram testadas cinco concentrações de neguvon (0 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L e 10 mg/L). Os peixes foram transportados em sacos plásticos com capacidade de 60 L, preenchidos com 20 L de água e completados com oxigênio. Cada tratamento foi testado em triplicata, sendo utilizados trinta peixes por saco. Os peixes transportados apresentaram infestação inicial média de 0,5 monogenéticos por peixe. Após o transporte, cinco peixes de cada repetição foram sacrificados, suas brânquias foram retiradas para avaliar a eficácia do banho terapêutico, através da contagem do número de parasitos. As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas por regressão linear. Pode-se afirmar que o incremento nas concentrações de neguvon influenciou significativamente na redução dos parasitos. Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, pode-se concluir que, durante o transporte de 2 horas, a melhor concentração de neguvon foi a de 8 mg/L após sete dias de tratamento para o controle de monogenoides.

Termos para indexação: *Colossoma macropomum*, parasitas, quimioterápico, banho terapêutico, tratamento.

Introdução

A demanda por pescado, cada vez mais crescente, tem aumentado o esforço de pesca sobre as espécies de maior valor comercial, contribuindo desta forma para o desequilíbrio dos estoques naturais (MERONA e BITTENCOURT, 1988; BITTENCOURT, 1991). Dentro desse contexto, surge a piscicultura como alternativa para a produção de pescado, contribuindo para a diminuição do esforço de pesca e o aumento do rendimento econômico nos diferentes níveis de investimento. Uma das espécies de peixes nativas com excelentes resultados em cultivo é o tambaqui, *Colossoma macropomum*, que apresenta bom crescimento, resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido e excelente utilização de alimentos (SAINT-PAUL, 1986; VAL et al., 1998) e pode alcançar 3 kg de peso em 12 meses de criação em sistemas de viveiro/barragem (MELO et al., 2001).

Devido a uma intensificação no cultivo de tambaquis na região amazônica, torna-se necessário um acompanhamento rigoroso e um cuidado maior com a prevenção de doenças, visto que existe uma fauna que utiliza o peixe que vive em equilíbrio com o hospedeiro como substrato.

Entre as doenças parasitárias em tambaquis cultivados, as lesões mais severas são causadas por monogenoides. As espécies de monogenoide descritas na literatura como parasitas de tambaqui são: *Anacanthorius spatulatus*, *Linguadactyloides brinckman* e *Notozotecium janauchaensis* (VARELLA et al., 2003).

Os monogenoides (classe Monogenoidea, filo Plathelminthes) são, em sua maioria, ectoparasitos de peixes

marinhos e de água doce. Os helmintos monogenoides podem ser encontrados em diversos órgãos dos peixes, como brânquias, nadadeiras, cloacas, ureteres. Algumas espécies de monogênias apresentam alto potencial patogênico, tornando-se um grande problema, pois podem causar atrofiamento e inflamação dos filamentos branquiais, o que pode impedir as trocas gasosas e iônicas (PAVANELLI et al., 2002).

Os protocolos de tratamento comumente empregados no controle de parasitas de peixes consistem na realização de banhos terapêuticos. Tratamento via banhos com vários químicos terapêuticos e inseticidas tem sido conduzidos com várias espécies de peixes, utilizando paration metílico, formalina, permanganato de potássio, cloreto de sódio, ácido acético, peróxido de hidrogênio, sal e malation (KABATA, 1985; THATCHER, 1991; PAVANELLI, 2002; ARAÚJO et al., 2004). Recentemente, outras drogas têm recebido destaque no tratamento de doenças causadas por monogenoides, como neguvon (Triclorfon) mebendazol, bitionol e praziquantel, tanto administradas via banhos quanto via oral (SCHMAHL e TARASCHEWSKI, 1987; KIM e CHOI, 1998; MARTINS et al., 2001). Pesquisas que tornem a atividade aquícola competitiva e sustentável são necessárias para que os problemas relacionados à ocorrência de doenças parasitárias sejam resolvidos, principalmente para peixes de alto valor econômico, como o tambaqui, que é a espécie mais cultivada na região Norte do Brasil (IBAMA, 2008). Portanto, um protocolo de tratamento durante o transporte viria a ser uma tecnologia de fácil utilização e de grande aceitação por parte de produtores de alevinos e criadores de peixe.

No Brasil são poucos os estudos realizados com o objetivo de testar a eficácia e o combate às doenças de peixes. Isto é particularmente verdadeiro no que se refere ao tratamento de peixes de criação intensiva (PAVANELLI, 1998). Portanto, o objetivo deste trabalho foi definir um protocolo de tratamento terapêutico com a utilização do neguvon durante o transporte, para controle de monogenoides em juvenis de tambaqui.

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui pesando em média $16,66 \text{ g} \pm 7,93 \text{ g}$ e medindo $9,90 \text{ cm} \pm 3,02 \text{ cm}$ foram adquiridos no campo experimental da Embrapa Amazônia Ocidental. Os peixes foram alimentados com ração comercial para tambaqui (34% PB) até saciedade aparente, durante sua permanência nos tanques escavados.

Antes do transporte experimental, a alimentação foi suspensa por 24 horas. Em cada um dos 15 sacos foram transportados 30 peixes. Os sacos plásticos de 60 L foram preenchidos com 20 L de água, completados com oxigênio e lacrados com liga de borracha. Em cada saco foram adicionados 120 g de sal (6 g/L). O transporte foi realizado com duração de 2 horas. Foram testadas cinco concentrações (0 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L e 10 mg/L) de neguvon durante o transporte, sendo cada tratamento testado em triplicata.

Antes do transporte foram amostrados 15 peixes para a verificação do número inicial de parasitos por peixe. Imediatamente após o transporte, cinco peixes de cada unidade experimental foram sacrificados e tiveram as brânquias retiradas para avaliar a eficácia do banho terapêutico com neguvon. A avaliação parasitológica foi conduzida removendo

as brânquias e fixando-as em formol (5%) para posterior contagem do número de monogenoides em cada arco branquial com auxílio de microscópio estereoscópico.

Os 15 peixes restantes de cada saco foram distribuídos em 12 tanques com capacidade de 2 mil litros, com renovação constante de água, para verificar a sobrevivência uma semana após o transporte. Durante essa semana, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciação aparente.

Os parâmetros de qualidade da água foram avaliados após o transporte. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de um pHmetro da marca YSI *Environmental* (Modelo 100), as medidas de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) foram obtidas com auxílio de um monitor da marca YSI 550-A. As concentrações de alcalinidade (mg CaCO_3/L) e dureza (mg CaCO_3/L) foram determinadas pelo método de titulação das amostras, e a amônia total (mg/L) pelo método de endofenol.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados encontrados foram avaliados por meio de uma regressão linear.

Resultados e Discussão

A avaliação dos parâmetros de qualidade da água na criação de peixes é fundamental, pois água com baixa qualidade pode ser fator estressante para os peixes que ali se encontram (PAVANELLI et al., 2002). Os parâmetros de qualidade da água, logo após o transporte, bem como o das caixas, onde foram estocados os juvenis durante uma semana após o tratamento, permaneceram adequados ao

equilíbrio orgânico dos peixes (Tabela 1). Os valores da qualidade da água após transporte também estão de acordo com o encontrado por Gomes et al. (2003) em transporte de juvenis de tambaqui.

Quanto ao comportamento dos tambaquis, durante a exposição ao neguvon no transporte de duas horas, não houve alteração. A infestação dos tambaquis antes do transporte foi de 0,5 a 0,9 parasitos por peixe. A administração do neguvon com duração de duas horas apresentou maior efetividade no controle de monogenoides na concentração de 8 mg/L (Figura 1), embora não tenham sido encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$). Essa concentra-

ção resultou em redução significativa de aproximadamente 100% no número de parasitas em relação ao grupo inicial. Resultados semelhantes ocorreram na pesquisa realizada por Tojo et al. (1992) quando utilizaram banho terapêutico com mebendazol, mostrando ser eficaz também contra *Gyrodactylus* sp. em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). É importante ressaltar que houve redução de parasito em todos os tratamentos, inclusive no controle. A utilização do sal, sem neguvon, atuou na diminuição dos parasitos (Figura 1), porém não se sabe se o sal teve efeito vermífico ou redutor de estresse, permitindo maior resistência dos peixes contra os parasitas.

Tabela 1. Média dos parâmetros de qualidade da água após transporte de 2 horas com neguvon e 7 dias após o tratamento de juvenis de tambaqui.

	Temp. (°C)	pH	Oxigênio (mg/L)	Dureza (mg CaCO ₃ /L)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	Amônia (mg/L)
Após transporte	25,99 ± 0,37	5,46 ± 0,04	16,37 ± 2,82	1,72 ± 0,60	0,16 ± 0,04	0,28 ± 0,04
7 dias DT	25,26 ± 0,61	4,76 ± 0,55	7,14 ± 0,13	0,31 ± 0,08	0,27 ± 0,07	0,59 ± 0,09

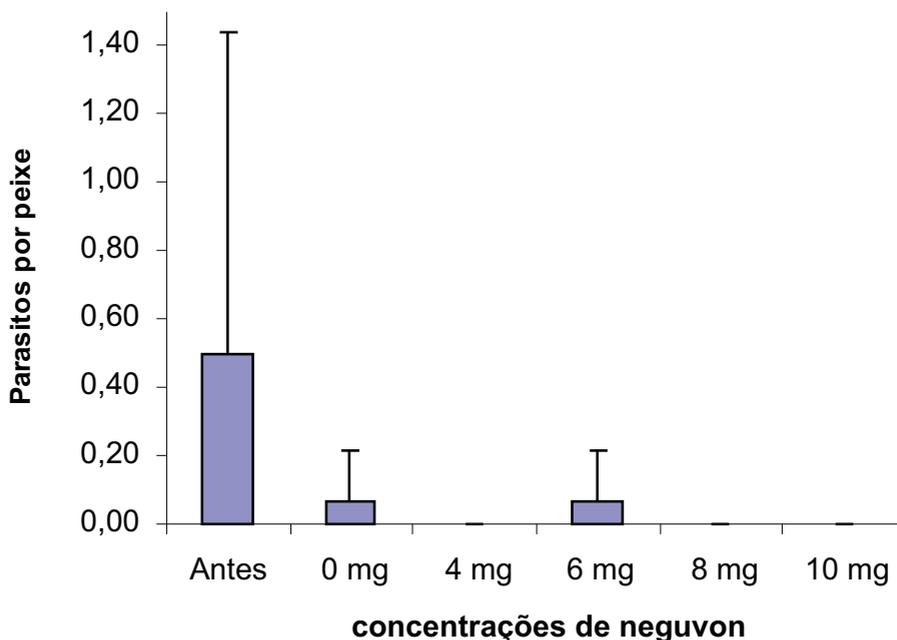


Figura 1. Número de monogenoides após o transporte de 2 horas, submetido a diferentes concentrações de neguvon.

Observou-se que a concentração de 8 mg/L de neguvon apresentou melhor sobrevivência (100%) em relação às demais, embora não tenham sido diferentes estatisticamente. Ocorreu mortalidade após tratamento de animais transportados durante duas horas nas demais concentrações de neguvon (Figura 2).

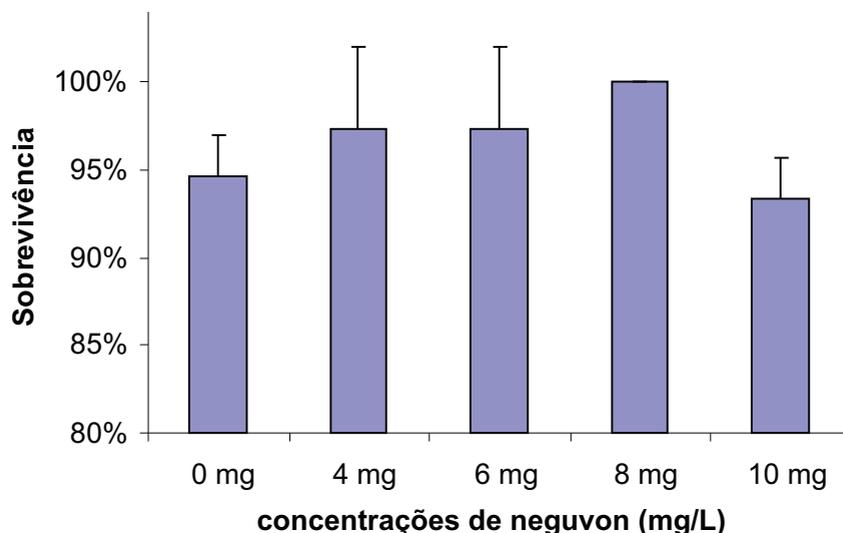


Figura 2. Sobrevivência de juvenis de tambaqui após o transporte de 2 horas e 7 dias após o tratamento, submetidos a diferentes concentrações de neguvon.

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos no presente trabalho, entretanto isso pode ser devido ao ótimo estado de saúde do lote inicial de peixes utilizados e ao baixo nível de parasitas quando comparado com outros lotes já estudados. Experimentos anteriores feitos na Embrapa Amazônia Ocidental já haviam mostrado diferenças significativas em diferentes dosagens de neguvon em água de transporte com a mesma duração deste experimento. Nessa ocasião as melhores concentrações ficaram acima de 5 mg/L até 15 mg/L de neguvon. O presente trabalho veio para refinar essas dosagens. Embora a estatística não corrobore, entende-se que a concentração de 8 mg

O neguvon tem sido empregado no controle de parasitos nos peixes, em concentrações até 300 mg/L, em banhos de curta duração (ALEXANDRINO, 1997). Trabalhos com tambaqui mostram que a espécie apresenta boa tolerância ao mebendazol de até 600 mg/L (CHAGAS et al. 2006).

foi a melhor. O fármaco neguvon é extremamente barato e sua utilização nessa dosagem pode custar no mercado de Manaus cerca de R\$ 0,02 para tratar cerca de 1.000 alevinos, o que torna essa tecnologia de grande valor para prevenção de parasitismos no cultivo do tambaqui. Entretanto, mais trabalhos devem ser desenvolvidos para o aprimoramento da metodologia de tratamento em transporte com neguvon.

Considerações finais

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, tanto para sobrevivência como para o número de parasitas.

Nas condições em que o experimento foi conduzido, a melhor concentração de nequvon no transporte de 2 horas é 8 mg/L, tanto para sobrevivência quanto para número de parasitas.

Outros protocolos devem ser testados para melhorar a eficiência do produto, utilizando diferentes tempos de duração de transporte.

Agradecimentos

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pela disponibilidade do laboratório e suporte para realização deste trabalho.

À Fapeam, por ter concedido a bolsa de Iniciação Científica.

À técnica do laboratório (Aqualab) Irani Moraes, ao Sr. José Pereira e a todos os outros bolsistas, pela ajuda nas análises e no manejo dos peixes.

Aos pesquisadores da piscicultura, pela grande ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Referências

ALEXANDRINO, Agar Costa, RAIA Jr., Roberto Bellizia. **Patologia dos peixes**. São Paulo, 46p., p.31. 1997.

ARAÚJO, L.D; CHAGAS, E.C; GOMES, L.C; BRANDÃO, F.R. Efeito de banhos terapêuticos com formalina sobre indicadores de estresse em tambaqui. **Revista Brasileira de Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 217-221, 2004.

BITTENCOURT, M.M. Exploração dos recursos pesqueiros na Amazônia Central: Situação do conhecimento atual. In: VAL, A.L.; FIGLIUOLO, R.; FILDEBERG, E. (Eds). **Bases Científicas para Estratégia de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia**. Manaus, INPA. v.01, p. 321-336, 1991.

CHAGAS, E.C.; ARAÚJO, L.D., SILVA, A.L.F., GOMES, L.C., BRANDÃO, F.R. Respostas fisiológicas de tambaqui exposto a banhos terapêuticos com mebendazol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.4, 713-716p. 2006.

GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 283-290, fev. 2003.

HOUSTON, A. H.; DOBRIC, N.; KAHURANANGA, R. The nature of hematological response in fish. **Fish Physiol. Biochem.**, 15 (4): 339-347, 1996.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Estatística da pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Ibama, 174 p. 2008.

KABATA, Z. **Parasites and diseases of fish cultured in the tropics**. London: Taylor & Francis,. 318 p. 1985.

KIM, K.H.; CHOI, E.S. Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea) on the gills of cultured rockfish (*Sebastes schlegelii*) with oral administration of mebendazole and bithionol. **Aquaculture**, v.167, p. 115-121, 1998.

- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M.; MORAES, F.R.; FUJIMOTO, R.Y. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatu*s (Monogenea, Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes, Characidae) in Brazil. Efficacy and hematology. **Acta Parasitológica**, v. 46, p. 332-336, 2001.
- MELO, L.A.S.; IZEL, A.C.U.; RODRIGUES, F.M. **Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas**. Embrapa Amazônia Ocidental, 25p. 2001.
- MERONA, M.; BITTENCOURT, M.M. A pesca na Amazônia através dos desembarques no mercado de Manaus: resultados preliminares. **Memória**. Sociedade de Ciências naturais laSalle, Tomo XL VIII. Suplemento. p. 433-453, 1988.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2ª ed. Maringá: Eduem (Editora da Universidade Estadual de Maringá): Universidade Estadual de Maringá, Brasil, 305p, 2002.
- PAVANELLI, G. C., EIRAS, JORGE C., TAKEMOTO, RICARDO M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Nupelia, 268p, 1998.
- SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of south American Freshwater fisher: a review. **Aquaculture**, v. 54, p. 205-240, 1986.
- SCHMAHL G.; TARASCHEWSKI H. Treatment of fish parasites: 2. Effects of praziquantel, niclosamide, levamisole-HCl, and metrifonate on Monogenea (*Gyrodactylus aculeati*, *Diplozoon paradoxum*). **Parasitology Research**, v. 73, n. 4, p. 341-351, 1987.
- THATCHER, V.E. amazon fish parasites. **Amazoniana**, v.11, p. 263-572, 1991.
- TOJO, J.; SANTAMARINA, M.T.; UBEIRA, F.M.; ESTEVEZ, J.; SANMARTIN, M.L. Anthelmintic activity of benzimidazoles against *Gyrodactylus* sp infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Dis. Aquat. Org.**, 12: 185-189. 1992.
- VAL, A. L.; SILVA, M. N. P.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. Hypoxia adaptation in fish of the Amazon: a never-ending task. **South African Journal of Zoology**, Pretoria, v. 33, p. 107-114, 1998.
- VARELLA, A.M.B.; PEIRO, S.N.; MALTA, J.C.O.; LOURENÇO, J.N.P. Monitoramento da parasitofauna de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Osteichthyes: Characidae) cultivado em tanques-rede em um lago de várzea na Amazônia, Brasil. In: URBINATI, E.C.; CYRINO, J.E.P. (Eds.). **Anais do XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura**. Jaboticabal, Aquabio. v. 2, p. 95-106, 2003.

Seção VI – Solos

Monitoramento dos Atributos Químicos e Físicos de Áreas de Diferentes Idades de Reflorestamento na Província Petrolífera de Urucu, Coari, AM

Adriana Costa Gil de Souza
Gilvan Coimbra Martins

Resumo

O conhecimento das características físicas e químicas do solo pode ser uma importante ferramenta para o monitoramento de áreas degradadas em processo de recuperação. Tal regeneração é um desafio que tem motivado vários grupos de pesquisadores de diferentes áreas a fazerem monitoramento e intervenção no processo. O presente estudo objetivou monitorar os atributos físicos e químicos de áreas de diferentes idades de reflorestamento na Província Petrolífera de Urucu, Coari, AM. Foram amostradas áreas com 0, 9 e 14 anos de reflorestamento. Concomitantemente em cada local foi amostrada uma área de floresta primária a fim de se obter valores originais do solo. Foram coletadas amostras deformadas (0 cm-10 cm) e indeformadas (0 cm-5 cm) com cinco repetições. O diâmetro médio geométrico dos agregados da floresta foi estatisticamente superior às demais áreas estudadas, com média de 0,65 mm. A menor densidade do solo foi verificada na floresta (0,8 Mg m⁻³). A porosidade total de todas as áreas é composta em sua grande maioria de microporos, sendo ambos superiores na floresta. Os solos da floresta são extremamente ácidos, com níveis baixos de nutrientes e elevada saturação por alumínio. O subsolo reflorestado na Província Petrolífera de Urucu apresenta lenta recuperação das propriedades físicas avaliadas.

Termos para indexação: prospecção, clareira, densidade do solo, estabilidade de agregados.

Introdução

Na Província Petrolífera de Urucu, sob a concessão da Petrobrás, ocorrem desmatamentos para a prospecção de gás natural e de petróleo e, principalmente, há retirada de grandes quantidades de terra para construção de estradas que propiciam a manutenção aos gasodutos e infraestrutura na realização dos trabalhos.

Com a remoção da floresta, há significativa diminuição do conteúdo de carbono do solo (MOREIRA e COSTA, 2004) e alteração da qualidade e quantidade de matéria orgânica (MALAVOLTA, 1987), com conseqüente diminuição da atividade da biomassa microbiana, principal responsável pela ciclagem de nutrientes, e que exerce influência na liberação e na imobilização destes (JENKINSON e LADD, 1981). Ainda, essas áreas, após a exploração, apresentam intenso processo erosivo devido à ausência de cobertura vegetal (LEAL FILHO et al., 2000) e ao afloramento de camada adensada ou compactada por causa do manejo (MARTINS et al., 2006).

A fim de restabelecer o sistema nessas áreas, é realizado o reflorestamento com espécies nativas da região, sendo que este, baseado no plantio de mudas, por si só, não garante o retorno rápido de uma cobertura vegetal próxima da original. Logo, torna-se necessária a adoção de medidas que imprimam aos horizontes subsuperficiais expostos na superfície características físicas e químicas suficientes para garantir o estabelecimento e o desenvolvimento da vegetação (MACEDO et al., 2008).

Essa recuperação é um desafio que tem motivado vários grupos de pesquisadores de diferentes áreas a fazerem monitoramento e intervenção no processo, no qual um dos grandes desafios é tornar o subsolo exposto na superfície das clareiras em solo com qualidade suficiente para o desenvolvimento de uma cobertura vegetal (TEIXEIRA et al., 2004).

O presente trabalho foi desenvolvido em substituição ao projeto "Sistema alternativo para agricultura familiar na Amazônia com base no manejo da capoeira sem uso do fogo", devido à não instalação do experimento em área previamente proposta.

Em vista disso e pelo fato de as alterações ocorridas no solo e na vegetação no decorrer do tempo serem indicadores da eficiência da regeneração de área alteradas, está sendo realizado o monitoramento dos atributos físicos e químicos em áreas com diferentes idades de reflorestamento na Província Petrolífera de Urucu.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na Província Petrolífera de Urucu, situada nas coordenadas geográficas 4°53'S e 65°11'W, Município de Coari, AM. O clima é tropical úmido, tipo Afi pela classificação de Köppen, apresentando precipitação média anual de 2.250 mm. A temperatura média anual da região é de aproximadamente 26 °C (VIEIRA e SANTOS, 1987).

Foram amostradas áreas de diferentes idades de reflorestamento e agrupadas da seguinte forma: JAZ 56 e RUC 08 (0 ano), CI 11 e CI 21 (9 anos) e LUC 29 e RUC 31 (14 anos). Em cada local selecionado foi amostrada uma área de floresta

primária adjacente a fim de se obter valores de referência dos parâmetros originais do solo da região.

Foram coletadas amostras deformadas em torrões (0 cm-10 cm) e indeformadas em cilindros metálicos (0 cm-5 cm) com cinco repetições.

As amostras foram analisadas no Laboratório de Análise de Solos e Planta (LASP) da Embrapa Amazônia Ocidental.

Foram realizadas análises químicas completas, a saber: pH, P, K, Ca, Mg, Al, H, C e MO, conforme Embrapa (1997).

A granulometria foi determinada após agitação mecânica e dispersão química com NaOH 0,1 N e a argila dispersa em água por dispersão mecânica e água destilada, em que a fração areia foi separada em peneira de malha de 0,053 mm e obtida por pesagem; e a argila, obtida por pipetagem. O índice de floculação será calculado por meio da expressão: $IF (\%) = [(At - ADA)/At] * 100$ (EMBRAPA, 1997).

A estabilidade de agregados, expressa pelo Diâmetro Médio Geométrico (DMG), foi avaliada por peneiramento via úmida, em dispositivo oscilatório vertical dentro de recipientes com água, conforme Yoder (1936), Kemper & Chepil (1965) e Embrapa (1997).

Por meio das amostras indeformadas determinou-se a curva de retenção em mesa de tensão até o pF 1,8, a densidade do solo, o volume total de poros pelo volume de água da amostra saturada (EMBRAPA, 1997) e a macroporosidade e microporosidade (GROHMANN, 1960; OLIVEIRA, 1968).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (Anova), com posterior aplicação do teste de Tukey ($p < 0,05$), para a comparação de médias. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa R.

Resultados e Discussão

O DMG dos agregados da floresta foi estatisticamente superior ao das demais áreas estudadas, com média de 0,65 mm (Tabela 1). Esse valor pode ser atribuído ao maior aporte de matéria orgânica e seu papel na formação e estabilização de agregados. Por outro lado, não houve diferença significativa entre as clareiras, sendo observada menor média no tratamento de 14 anos (0,20 mm), tal fato pode estar relacionado à textura franco-arenosa (elevado teor de areia), que confere menor ligação dos componentes orgânicos com os constituintes coloidais minerais.

Tabela 1. Diâmetro médio geométrico (DMG) e agregados > 2 mm em áreas com diferentes idades de reflorestamento e sob floresta primária na Província Petrolífera de Urucu, Coari, AM.

Tratamento	DMG (mm)	> 2 mm %
0 anos	0,22 b	7,64 b
9 anos	0,29 b	15,40 b
14 anos	0,20 b	7,25 b
Floresta	0,65 a	32,04 a

⁽¹⁾ Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ns = não-significativo pelo mesmo teste.

A menor Densidade do solo (Ds) foi verificada na floresta ($0,8 \text{ Mg m}^{-3}$) (Tabela 2), enquanto os tratamentos de 0 e 14 anos exibiram os maiores valores ($1,3 \text{ Mg m}^{-3}$). Esses valores elevados nas áreas reflorestadas são resultados de diferentes práticas de manejo e principalmente de diferentes profundidades de escavação nessas áreas de empréstimo, que expõem em superfície os horizontes B e C que apresentam compacidade natural.

A porosidade total de todas as áreas é composta, em sua grande maioria, de microporos, sendo superiores na floresta. Os valores de macroporosidade não foram significativos nas áreas estudadas.

Os solos da floresta são extremamente ácidos e apresentam baixos níveis de nutrientes e elevada saturação por alumínio ($m > 90\%$). Em contraste, o teor de C é mais elevado em relação às áreas reflorestadas ($14,90 \text{ g kg}^{-1}$), devido

ao maior aporte de matéria orgânica (Tabela 3).

A JAZ 56 (0 ano de reflorestamento) apresentou pH (H_2O) praticamente neutro (6,6) e teores elevados de Ca ($5,88 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), sendo o nutriente de maior contribuição para o aumento da soma de bases e da capacidade de troca de cátions, com consequente aumento da saturação de bases (eutrófico). Apesar de igual idade de reflorestamento, o RUC 08 apresentou pobreza de nutrientes e elevados teores de Al trocável, demonstrando menor eficiência da calagem e da adubação. As demais áreas, independentemente da idade do reflorestamento, apresentam distrofismo ($V < 50\%$) e elevada saturação por alumínio; no entanto, possuem teores de matéria orgânica e de Fe mais elevados que as áreas recém-reflorestadas. Os teores de P foram maiores no LUC 29 e no RUC 31, indicando que a reciclagem desse nutriente está mais intensa no reflorestamento com 14 anos (Tabela 4).

Tabela 2. Densidade do solo, macroporosidade, microporosidade e porosidade total em áreas com diferentes idades de reflorestamento e sob floresta primária na Província Petrolífera de Urucu, Coari, AM.

Local	Densidade do solo g cm^{-3}	Microporosidade	Macroporosidade	Porosidade Total
0 anos				
RUC 08 (0 ano)	1,25 a	32 c	20 ab	52 b
JAZ 56 (0 ano)	1,44 a	26 c	19 ab	45 b
Floresta RUC 08	0,98 b	40 b	22 a	62 a
Floresta JAZ 56	0,85 b	52 a	15 b	67 a
9 anos				
CI 21 (9 anos)	1,24 a	33 b	20 ab	53 c
CI 11 (9 anos)	1,14 ab	38 b	18 ab	56 bc
Floresta CI 21	1,01 b	38 b	23 a	61 b
Floresta CI 11	0,68 c	59 a	15 b	74 a
14 anos				
RUC 31 (9 anos)	1,40 a	25 c	21 c	46 c
LUC 29 (9 anos)	1,21 b	28 bc	25 bc	53 b
Floresta RUC 31	0,90 c	34 a	31 a	65 a
Floresta LUC 29	0,94 c	33 ab	31 ab	64 a

⁽¹⁾ Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Composição granulométrica do solo de áreas com diferentes idades de reflorestamento e sob floresta primária na Província Petrolífera de Urucu, Coari, AM.

Local	Composição granulométrica				Textura
	Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	
	-----%-----				
RUC 08 (0 anos)	2	33	30	35	Franco-argilosa
JAZ 56 (0 anos)	21	20	29	30	Franco-argilosa
Floresta RUC 08	32	20	29	19	Franca
Floresta JAZ 56	3	31	37	29	Franco-argilosa
CI 21 (9 anos)	3	22	56	19	Franco-siltosa
CI 11 (9 anos)	2	19	37	42	Argilosa
Floresta CI 21	0	16	70	14	Franco-siltosa
Floresta CI 11	1	34	37	28	Franco-argilosa
RUC 31 (14 anos)	12	46	25	17	Franco-arenosa
LUC 29 (14 anos)	28	31	23	18	Franco-arenosa
Floresta RUC 31	27	44	18	11	Franco-arenosa
Floresta LUC 29	33	36	20	11	Franco-arenosa

Conclusões

- O subsolo reflorestado na Província Petrolífera de Urucu apresenta lenta recuperação das propriedades físicas avaliadas.
- A JAZ 56 foi a única área estudada que apresentou caráter eutrófico.
- Os elevados teores de Al trocável e a pobreza em nutrientes no RUC 08 indicam menor eficiência da calagem e adubação.
- Os locais com reflorestamento mais antigo apresentam maiores teores de matéria orgânica e de Fe.
- Os maiores teores de P no LUC 29 e no RUC 31 indicam que a reciclagem de nutrientes está mais intensa no reflorestamento com 14 anos.

Agradecimentos

À Fapeam, pela concessão de bolsa.

À Embrapa Amazônia Ocidental, pela logística cedida.

Ao meu orientador, Gilvan Coimbra Martins, pela oportunidade e pelos ensinamentos.

Tabela 4. Características químicas do solo em áreas com diferentes idades de reflorestamento e sob floresta primária na Província Petrolífera de Uruçu, Coari, AM.

Local	pH H ₂ O	MO g/kg	P		K	Ca		Mg	Al		t	CTC		V %	m	Fe mg/dm ₃
			mg/dm ₃	cmol _c /dm ₃		cmol _c /dm ₃	cmol _c /dm ₃		%	%						
0 ano de Reflorestamento																
JAZ 56	6,62	6,11	0,96	31,20	5,88	0,22	0,86	7,05	7,85	78,53	12,47	70,60				
RUC 08	5,28	4,36	0,50	26,00	1,35	0,15	2,84	4,43	5,39	29,39	59,15	75,40				
Floresta JAZ 56	3,86	26,79	1,00	33,40	0,05	0,08	5,11	5,34	8,99	2,52	95,76	453,80				
Floresta RUC 08	3,82	32,23	1,00	31,40	0,06	0,13	3,44	3,72	7,14	3,87	92,61	666,20				
9 anos de Reflorestamento																
CI 11	4,73	15,17	0,88	16,40	0,14	0,23	5,32	5,75	7,10	5,92	92,58	156,60				
CI 21	4,21	30,09	0,60	17,67	0,06	0,05	3,61	3,77	9,48	1,73	95,65	509,67				
Floresta CI 11	4,28	28,18	1,00	30,20	0,06	0,10	3,75	4,00	6,41	3,85	93,86	928,00				
Floresta CI 21	4,08	18,21	1,40	24,80	0,06	0,09	1,90	2,12	3,84	6,40	89,57	40,40				
14 anos de Reflorestamento																
LUC 29	4,37	13,97	1,36	17,20	0,13	0,09	2,43	2,70	4,31	6,15	90,17	239,80				
RUC 31	4,61	6,69	1,26	14,80	0,10	0,07	2,64	2,86	3,89	5,83	92,06	236,60				
Floresta LUC 29	3,98	23,59	1,60	24,20	0,07	0,12	2,37	2,63	4,70	6,24	89,85	499,40				
Floresta RUC 31	3,85	24,23	1,40	19,00	0,06	0,09	2,62	2,82	5,16	4,61	92,69	431,40				

Referências

EMBRAPA. **Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solo**. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

GROHMANN, F. Técnica para o estudo da estabilidade de agregados do solo. **Bragantia**, Campinas, v. 19, n. 22, p. 329-343, 1960.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Dekker, 1981. v. 5.

LEAL FILHO, N. et al. Efeito da cobertura de matéria orgânica sobre o estabelecimento e desenvolvimento de espécies originadas do banco de sementes em áreas em recuperação na floresta amazônica brasileira. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS, 5., 2002, Belo Horizonte. Água e biodiversidade: trabalhos voluntários. Belo Horizonte: SOBRADE, 2002. p. 502-504.

MACEDO, R. S. et al. Caracterização química e física da camada superficial do solo em clareiras com diferentes idades de revegetação na Província Petrolífera de Urucu, Coari-AM. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 17., 2008, Rio de Janeiro. **Manejo e conservação do solo e da água no contexto das mudanças ambientais**. Rio de Janeiro: SBCS: Embrapa Solos: Embrapa Agrobiologia, 2008. 1 CD-ROM. (Embrapa Solos. Documentos, 101).

MALAVOLTA, E. Fertilidade dos solos da Amazônia. In: VIEIRA, L. S.; SANTOS, P. C. T. C. (Ed.). **Amazônia: seus solos e outros recursos naturais**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1987. p. 374-416.

MARTINS, G. C.; SWAMI, S. N.; MACEDO, R. S. Resistência a penetração como indicador da qualidade física do solo na Província Petrolífera de Urucu-Coari-AM. Trabalho apresentado no II Workshop de avaliação técnica e científica - Rede CT-Petro, 2006, Manaus.

MOREIRA, A.; COSTA, D. G. Dinâmica da matéria orgânica na recuperação de clareiras da floresta amazônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 1013-1019, 2004.

OLIVEIRA, L. B. de. Determinação da macro e microporosidade pela "mesa de tensão" em amostras de solos com estrutura indeformada. **Pesq. Agropec. Bras.**, 3:197-200, 1968.

TEIXEIRA, W. G. et al. Indicadores físicos da qualidade do solo no monitoramento da recuperação de clareiras da Província Petrolífera de Urucu, Amazonas. Trabalho apresentado no I Workshop Técnico Científico da Rede CTPetro Amazônia, 2004, Manaus. 2004.

VIEIRA, L. S.; SANTOS, P. C. T. C. **Amazônia: seus solos e outros recursos naturais**. São Paulo: Ceres, 1987. 416 p.

YODER, R. E. A direct method of aggregate analysis of soil and study of the physical nature of erosion losses. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 28, n. 1, p. 337-351, 1936.



Amazônia Ocidental

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

