

ISSN 0102-9568

Bioikos

Volume 24 | Número 2
Julho - Dezembro • 2010



PUC
CAMPINAS
PONTÍFICA UNIVERSIDADE CATÓLICA

BIOIKOS

Revista semestral da Faculdade de Ciências Biológicas do Centro de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Fundada em 1987, publica trabalhos científicos originais, artigos de revisão e comunicações científicas relacionados às diversas áreas da Biologia, em especial Ambiental, Biologia Molecular e Educação, da comunidade nacional e internacional.

BIOIKOS is a biannual journal of the Biological Sciences School of the Life Sciences Center, Pontifícia Universidade Católica de Campinas. It was founded in 1987 and publishes from Brazil and around the world original scientific studies, review articles and scientific communications related to many areas of Biology, mainly Environmental, Molecular Biology and Education.

COLABORAÇÕES / CONTRIBUTIONS

Os manuscritos (um original e três cópias) devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV e seguir as "Instruções aos Autores", publicadas no final de cada fascículo.

All manuscripts (the original and three copies) should be sent to the Núcleo de Editoração SBI/CCV and should comply with the "Instructions for Authors", published at the end of each issue.

ASSINATURAS / SUBSCRIPTIONS

Pedidos de assinatura ou permuta devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br

Anual: Pessoas físicas: R\$40,00 Institucional: R\$100,00

Aceita-se permuta

Subscription or exchange orders should be addressed to the Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br

Annual: Individual rate: R\$40,00 Institutional rate: R\$100,00

Exchange is accepted

CORRESPONDÊNCIA / CORRESPONDENCE

Toda a correspondência deve ser enviada à Bioikos no endereço abaixo:

All correspondence should be sent to Bioikos at the address below:

Núcleo de Editoração SBI/CCV

Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama 13060-904, Campinas, SP, Brasil.

Fone +55-19-3343-6876/6859 Fax +55-19-3343-6875

E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br

Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/ccv>

INDEXAÇÃO / INDEXING

Aquatic Sciences & Fisheries Abstracts (ASFA), CAB Abstracts and Global Health, Periódica

LISTA QUALIS

B-4

Editora / Editor

Luciane Kern Junqueira (PUC-Campinas)

Editores Associados / Associate Editors

Ambiental

Kayna Agostini (Unimep - Piracicaba)

Luiza Ishikawa Ferreira (PUC-Campinas)

Rafael Dias Loyola (UFG - Goiânia)

Biologia Molecular

Daniele Ribeiro Araújo (Universidade Federal do ABC - Santo André)

Edmilson Ricardo Gonçalves (PUC-Campinas)

José Meciano Filho (PUC-Campinas)

Leonardo Fernandes Fraceto (Unicamp - Campinas)

Educação

Eduardo Galembeck (Unicamp - Campinas)

Leda Rodrigues de Assis Favetta (Unimep - Piracicaba)

Simone Sendin Guimarães (UFG - Goiânia)

Editora Executiva / Executive Editor

Maria Cristina Matoso (SBI-PUC-Campinas)

Conselho Editorial / Editorial Board

Adauto Ivo Milanez (Instituto de Botânica - São Paulo)

Ana Lúcia Vendel (UFPA - João Pessoa)

Carminda da Cruz-Landim (Unesp - Rio Claro)

Célia Leite Sant'Anna (Instituto de Botânica - São Paulo)

Edmundo Ferraz Nonato (USP - São Paulo)

Eunice da Costa Machado (UFPR - Pontal do Paraná)

Giovana Radomille Tofoli (Universidade São Francisco - Bragança Paulista)

José Roberto Miranda (Embrapa - Campinas)

Olga Yano (Instituto de Botânica - São Paulo)

Paula Maria Gênova de Castro (Instituto de Pesca - São Paulo)

Paulo de Tarso da Cunha Chaves (UFPR - Curitiba)

Vadim Viviani (UFSCar - Sorocaba)

Virginia Sanches Uieda (Unesp - Botucatu)

Wesley Rodrigues Silva (Unicamp - Campinas)

Normalização e Indexação / Standardization and Indexing

Maria Cristina Matoso

O Conselho Editorial não se responsabiliza por conceitos emitidos em artigos assinados.

The Board of Editors does not assume responsibility for those opinions expressed in signed articles.

A eventual citação de produtos e marcas comerciais não expressa recomendação do seu uso pela Instituição.

The possible citation of products and brands does not express recommendation of the Institution for their use.

Copyright ©Bioikos

É permitida a reprodução parcial desde que citada a fonte. A reprodução total depende da autorização da Revista.

Partial reproduction is permitted if the source is cited. Total reproduction depends on the authorization of Bioikos.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas e Informação – SBI-PUC-Campinas

Bioikos. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Faculdade de Ciências Biológicas. – Campinas, SP, v.1 n.1 (jan./jun.1987-)

v.24 n.2 jul./dez. 2010

Semestral

Resumo em Português e Inglês

ISSN 0102-9568

1. Biologia – Periódicos. I. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Faculdade de Ciências Biológicas.

CDD 574



Artigos | Articles

- 73 Aspectos poblacionales de *Pseudocorynopoma doriai* en dos arroyos de la alta cuenca del Río Samborombón, provincia de Buenos Aires, Argentina
Population aspects of Pseudocorynopoma doriai in two streams in the high basin of the Samborombón River, Buenos Aires province, Argentina
• Ricardo Alberto Ferriz, Guillermo Roberto López, Eduardo Marcelo Fernández, Cristina Amélia Bentos
- 83 Itens alimentares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivadas em um estuário tropical, no Nordeste do Brasil
Food items of Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivated in a tropical estuary in Northeast, Brazil
• Alinne Dué, Manoel Messias da Silva Costa, Euripedes Alves Silva Filho, Élica Amara Cecília Guedes
- 95 *Implications of consumption and ecological knowledge on the management of marine turtles the n Northern coast of São Paulo, Brazil*
Implicações do consumo e percepção ecológica para o manejo de tartarugas marinhas no litoral norte de São Paulo
• Ludmila de Melo Alves Damásio, Adriana Rosa Carvalho
- 105 *The impact of flower head endophages on the seed set of a native population of Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson (Asteraceae)
O impacto de endófagos de capítulos sobre a produção de sementes de uma população nativa de *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson (Asteraceae)
• Mário Almeida-Neto, Umberto Kubota, Marina Reiter Braun, Thomas Michael Lewinsohn
- 113 Resistência de variedades de couve a *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae)
Resistance of cabbage to Brevicoryne brassicae (L.) (Hemiptera: Aphididae)
• César Pagotto Stein, Édson Possidônio Teixeira
- 119 Caracterização e atividade farmacológica do diclofenaco-zinco (II) e do complexo de inclusão diclofenaco-zinco (II)-hidroxipropil- β -ciclodextrina
Characterization and pharmacological activity of zinc (II)-diclofenac and zinc(II)-diclofenac-hydroxypropylbeta-cyclodextrin inclusion complex
• Viviane Aparecida Guilherme, Silvia Mansur Scagliusi, Eneida de Paula, Maria Cristina de Almeida, Daniele Ribeiro De Araujo
- 129 Índices
Indexes
- 131 Instruções aos autores
Instructions for Authors



ARTIGO | ARTICLE

Aspectos poblacionales de *Pseudocorynopoma doriai* en dos arroyos de la alta cuenca del Río Samborombón, provincia de Buenos Aires, Argentina

Population aspects of Pseudocorynopoma doriai in two streams in the high basin of the Samborombón River, Buenos Aires province, Argentina

Ricardo Alberto Ferriz¹
Guillermo Roberto López¹
Eduardo Marcelo Fernández¹
Cristina Amélia Bentos¹

RESUMEN

En este estudio se analizaron algunos aspectos de la estructura poblacional de *Pseudocorynopoma doriai*: patrones de abundancia, factor de condición, sexo y relación entre la longitud y el peso. Las muestras se colectaron mensualmente a partir de mayo de 2004 a abril de 2005 mediante pequeñas redes de arrastre, en los arroyos Manantiales y El Portugués. Los mayores valores de biomasa para el arroyo Manantiales correspondieron al mes de agosto y desde diciembre a enero; los mayores valores de biomasa para el arroyo El Portugués correspondieron a los meses de mayo y marzo. No se observó una marcada diferencia en los valores de K, a excepción del mes de mayo en las hembras del arroyo El Portugués. La proporción sexual fue diferente de 1:1 con mayor número de hembras, observándose una dominancia casi total de los ejemplares indiferenciados sexualmente para diciembre y enero, lo cual corresponde a la entrada de una nueva cohorte. Esta especie presenta crecimiento levemente alométrico, excepto para las hembras de Manantiales, que fue isométrico. Las diferencias observadas para el factor alométrico entre machos y hembras se debe al dimorfismo sexual

¹ Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia. Av. Ángel Gallardo, 470, C1405DJR, Buenos Aires, República Argentina. Correspondencia para/Correspondence to: R.A. FERRIZ. E-mail: <rferriz@macn.gov.ar>.

² Facultad de Ciencias Veterinarias, Área de Medicina, Producción y Tecnología de Fauna Acuática y Terrestre. Buenos Aires, República Argentina.

presente en este glandulocaudino; las hembras capturadas fueron de mayor tamaño que los machos.

Palabras clave: Peces. *Pseudocorynopoma doriai*. Aspectos poblacionales. Alta cuenca de Samborombón.

ABSTRACT

This study analyzed the following aspects of the Pseudocorynopoma doriai population structure: abundance patterns, condition factor, sex and ratio between weight and length. Samples were taken on a monthly basis from May 2004 to April 2005 using small trawling nets, in the Manantiales and El Portugués rivers. For the Manantiales, the largest biomass values were observed during August and then between December and January; the largest biomass values for the El Portugués River corresponded to May and March. There were no significant differences in K values, except during May, in females from the El Portugués river. The sex ratio was not 1:1, there being more females. During December and January there was a predominance of sexually undifferentiated individuals, which corresponds to the arrival of a new cohort. This species presents a slight allometric growth, except for the females in the Manantiales, whose growth was isometric. The differences observed between males and females in terms of the allometric factor are due to the sexual dimorphism present in this subfamily of glandulocaudinae. Captured females were larger than the males.

Key words: Fish. *Pseudocorynopoma doriai*. Population aspects. High basin of the Samborombón River.

INTRODUCCIÓN

El orden Characiformes es uno de los grupos más diversos de peces neotropicales, el cual presenta una gran variedad de formas, comportamientos y adaptaciones al medio (Lowe-McConnell, 1987), siendo la familia Characidae la que posee mayor número de especies (Géry, 1977). La subfamilia Glandulocaudinae está representada por más de 50 especies reunidas en 19 géneros; su distribución comprende desde el sur de Costa Rica hasta Ecuador en cursos de aguas con vertiente al océano Pacífico y hasta el norte de la provincia de Buenos Aires, en la República Argentina, en cursos de agua que desaguan al océano Atlántico (Ringuelet et al., 1996; Weitzman, 2003).

Pseudocorynopoma doriai Perugia, 1891, se distribuye desde el sur de Brasil hasta el norte de la Pampasia, en la cuenca del río Salado, y en la cuenca parano-platense (Ringuelet et al., 1967; Almirón et al., 1992; López et al., 2001; López et al., 2003; Weitzman, 2003; Menni, 2004; López et al., 2005).

Este glandulocaudino presenta la distribución más austral. Es un pequeño pez considerado estratega oportunista (Menni & Almirón, 1994) que se alimenta en la superficie (Graciolli et al., 2003) y que cuenta con un marcado dimorfismo sexual. Los machos presentan una glándula caudal con células activas que segregan feromonas durante el cortejo, lo que facilita la inseminación (Nelson, 1964; Azevedo, 2004).

Pseudocorynopoma doriai, al igual que otros glandulocaudinos, es una especie de importancia ornamental, conocida por los acuaristas desde hace más de 90 años, debido a su fácil cría y su particular cortejo (Axelrod & Schultz 1990; Weitzman, 2003). Son exportados desde Argentina, Brasil, Paraguay, Trinidad y Venezuela (Gómez et al., 1993/1994; Weitzman, 2003) a diferentes partes del mundo. Además se lo captura para ser utilizado como carnada viva en la pesca deportiva (Liotta, 2000).

Una práctica común en la biología pesquera es analizar la condición general de los peces para poder comparar los distintos stocks poblacionales de

una o varias especies (Baigún et al., 2009). El factor de condición es empleado como indicador del bienestar general de los peces, y suele estar correlacionado positivamente con la fecundidad, la reproducción, la tasa de crecimiento, etc. (Bolger & Connolly, 1989). Por otra parte, algunos estudios indican que la disminución de este factor se asocia con los cambios cualitativos de la composición de los tejidos, como la reducción de la grasa visceral (Sutton et al., 2000). La relación peso-longitud del pez es otro indicador del estado general de una población que puede ser utilizado, entre tantas otras, para explorar el impacto que pueden producir determinadas acciones antrópicas sobre las poblaciones ícticas (Liao et al., 1995). Menni et al. (1996) establecen que la tolerancia de las especies a las variables físicas y químicas del agua influyen sobre la distribución y abundancia de los peces en aguas argentinas.

Considerando la escasa información disponible sobre *Pseudocorynopoma doriai* en nuestro país, se decidió realizar un estudio mensual de las variaciones poblacionales durante un ciclo anual. Este trabajo tiene como objetivo contribuir con el conocimiento de la biología y el estatus poblacional de esta especie. El mismo se llevó a cabo en los arroyos Manantiales y El Portugués, afluentes del río Sam-

borombón. Se determinaron las características merísticas de los ejemplares capturados y, con estos datos, se obtuvo el factor de condición (k), la relación macho-hembra mensual y los índices de abundancia. Los valores determinados se correlacionaron posteriormente con los parámetros ambientales.

MATERIALES Y MÉTODOS

El programa de muestreo se realizó mensualmente desde el mes de mayo de 2004 hasta abril de 2005 en los arroyos Manantiales o Campos (35° 02' 34" W y 58° 19' 37" S) y El Portugués (35° 04' 16" W y 58° 26' 09" S), ambos pertenecientes a la alta cuenca del río Samborombón, partido de San Vicente, provincia de Buenos Aires (Figura 1).

Se establecieron dos estaciones de muestreo, una en el arroyo Manantiales y la otra en el arroyo El Portugués. En ambas se realizaron muestreos mensuales desde mayo de 2004 hasta abril de 2005, determinándose mensualmente en cada lugar de muestreo la profundidad y el ancho del cauce; se tomó la temperatura del agua y del aire, se determinó el pH con un peachímetro Luftman P300, la conductividad del agua mediante instrumental Horiba U 10 y la transparencia mediante disco de Secchi (Tabla 1).

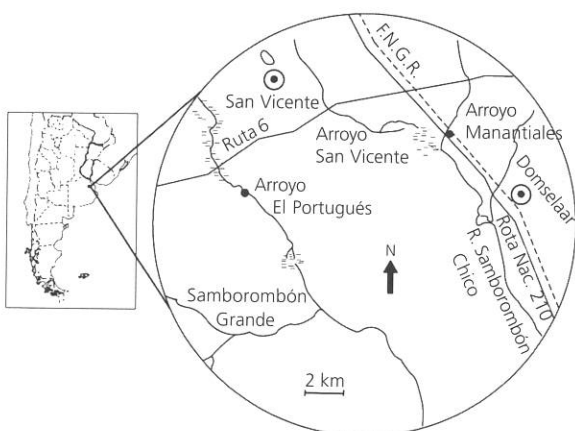


Figura 1. Ubicación de las estaciones de muestreo en los arroyos Manantiales y El Portugués, partido de San Vicente, provincia de Buenos Aires, República Argentina.

Tabla 1. Características físico-químicas de los arroyos Manantiales y El Portugués, de 10 muestras, la media de cada variable figura entre paréntesis.

	Manantiales		El Portugués	
Profundidad (cm)	0,35-0,88	(0,65)	0,17-0,55	(0,32)
Temperatura del aire	9,8-31,6	(21,05)	9,8-28,3	(22,07)
Temperatura del agua- superficie	8,6-27,4	(18,26)	4,1-26,4	(19,16)
Temperatura del agua- fondo	9,4-27,4	(18,15)	7,9-25,8	(19,25)
Secchi (cm)	9-47	(27,18)	6-17	(10,64)
pH	7,1-8,9	(8,02)	7,3-8,9	(8,32)
Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	188-798	(468,25)	246-1230	(662,78)

El arroyo Manantiales es un cuerpo de agua de primer orden. Las muestras se tomaron a 1,5 km de su desembocadura en el arroyo San Vicente, ambos tributarios del río Samborombón Chico. Las aguas en este lugar se caracterizan por presentar una baja turbidez; la velocidad del agua en épocas de creciente es de media a rápida, la composición del fondo es de limo y tosca. La vegetación en la ribera de este río se caracteriza por la presencia de árboles y arbustos que aportan materia orgánica alóctona.

El Portugués es un curso de agua de primer orden tributario del río Samborombón Grande, y las capturas fueron realizadas a 6km de sus nacientes. Las aguas se caracterizan por ser de color marrón y poco transparentes (por la gran cantidad de ácidos húmicos en dilución), la zona presenta un fuerte impacto debido a la actividad ganadera. La velocidad del agua depende de la época del año, siendo baja estival presentando charcos. A diferencia del arroyo Manantiales, la vegetación de la ribera del arroyo El Portugués carece de la presencia de árboles y arbustos, dominando casi exclusivamente las gramíneas y algunas otras plantas herbáceas.

Para las capturas se utilizó una red de arrastre de malla fina de 5mm de distancia entre nudos, 10 metros de largo y 1,8 metros de altura, y una red con marco metálico de 50x30cm de 2mm de distancia entre nudos. Esta última fue utilizada en las áreas vegetadas y poco profundas cercanas a la orilla. Para la determinación de numerosidad en cada una de las capturas se estandarizó el esfuerzo de pesca a 50m de arrastre

Los peces colectados fueron fijados in situ con una solución de formol al 8% y luego conservados en alcohol al 75%. De cada ejemplar se tomó el largo estándar (Lst) y el peso total (Pt), los ejemplares analizados se depositaron en la colección del MACN-Ict.

En forma mensual, a lo largo de un ciclo anual, se determinó el factor de condición (K), mediante la aplicación del índice de Fulton (Ricker, 1975), donde $K = Pt/Lst^3 \cdot 10^5$.

Se determinó la relación longitud estándar/peso para machos y hembras de ambos ambientes

estudiados a través de la expresión $\text{Log } P = a \cdot \text{Log } Lst + b$, donde P es peso en gramos y Lst la longitud estándar del pez en mm. Para la estimación de los coeficientes a y b se transformaron logarítmicamente los datos de peso y Lst (Ricker, 1973).

Los valores ambientales en cada uno de los arroyos se relacionaron con los valores de abundancia y factor de condición K mediante análisis factorial. Se compararon las poblaciones mediante la prueba de Mann-Whitney (Sokal & Rohlf, 1981).

RESULTADOS

Se capturaron 528 ejemplares de *Pseudocorynopoma doriai*, 199 en el arroyo Manantiales y 329 en El Portugués. Los mayores índices de abundancia numérica se registraron durante el período comprendido entre diciembre y marzo para el arroyo Manantiales; en El Portugués la mayor abundancia correspondió a los meses de mayo, enero y marzo. Los menores valores de abundancia se dieron de mayo a septiembre y en los meses de febrero y abril para ambos arroyos (Figura 2). En cuanto a la biomasa total para el arroyo Manantiales, correspondió al mes de agosto y desde diciembre a enero. Los mayores valores de biomasa para el arroyo El Portugués correspondieron a los meses de mayo y marzo. Los menores valores de biomasa se dieron en julio, septiembre y abril en el arroyo Manantiales, mientras que en El Portugués correspondieron a los meses de invierno y a febrero.

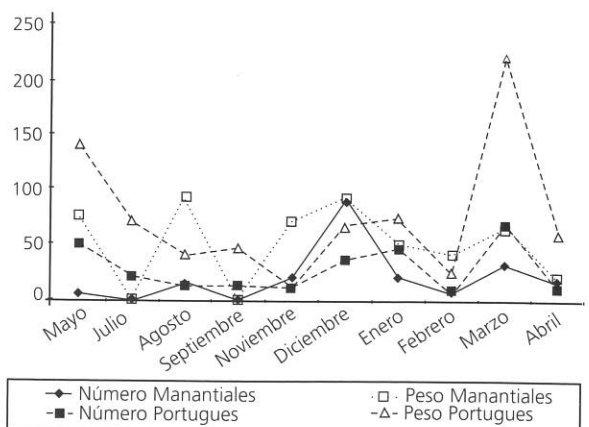


Figura 2. Número de ejemplares y peso (en gramos) de *Pseudocorynopoma doriai* capturados durante un ciclo anual en los arroyos Manantiales y El Portugués.

Los valores de K de las hembras variaron entre 13,63 y 20,29 en el arroyo El Portugués (Figura 3), correspondiendo los valores más bajos al mes de agosto, mientras que los más altos se registraron en el final del verano e inicio del otoño. En el arroyo Manantiales los valores fluctuaron entre 9,29 y 17,68, los más bajos se dieron en mayo y en noviembre y abril los más altos.

En los machos del arroyo El Portugués, los valores de K fluctuaron entre 15,01 y 20,12 (Figura 3). Los K más altos correspondieron a los meses de febrero, marzo y abril, observándose un aumento sostenido desde el inicio de la primavera hasta el fin del verano, con la excepción del mes de enero. En el arroyo Manantiales los valores fluctuaron entre 14,06 y 19,27; el valor más alto se registró en el mes de mayo y el más bajo en agosto.

La relación machos-hembras, para todo el período de estudio, demostró un predominio de las hembras, las cuales resultaron significativamente más numerosas que los machos, con una proporción de 1:2,4 para el arroyo Manantiales y 1:2,5 para El Portugués ($p < 0,05$) (Figura 4). Sin embargo en el arroyo El Portugués los machos fueron dominantes en los

meses de agosto y febrero, mientras que en el arroyo Manantiales las mayores capturas de machos se dieron en el mes de julio, con una relación machos-hembras del 1:1. Los individuos indiferenciados dominaron en las capturas de los meses de diciembre y enero en ambos ambientes estudiados.

Las rectas obtenidas para la relación $P = a \cdot Lst + b$ para machos y hembras de ambos arroyos (Figura 5) muestran una pendiente mayor para las hembras de los dos ambientes; las regresiones presentaron r cercanos a 1 excepto los machos del arroyo El Portugués (0,98). Se observa asimismo, en los dos arroyos, diferencias en las tallas de hembras y machos capturados, siendo mayores las primeras.

En el arroyo Manantiales el análisis factorial entre los valores de abundancia y el factor de condición K de los machos y de las hembras, por un lado, y las variables ambientales conductividad, temperatura del agua, profundidad, pH y turbidez (Secchi), por otro, arrojó los siguientes resultados: se encontró una correlación significativa ($\alpha = 0,05$) negativa entre el factor de condición K y la conductividad, tanto para los machos como para las hembras (Tabla 2). El coeficiente de correlación entre el

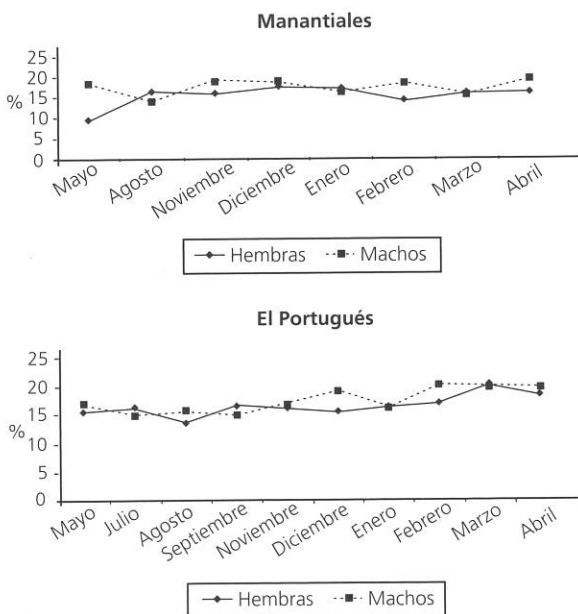


Figura 3. Valores mensuales del factor de condición K de machos y hembras de *Pseudocorynopoma doriai* durante un ciclo anual.

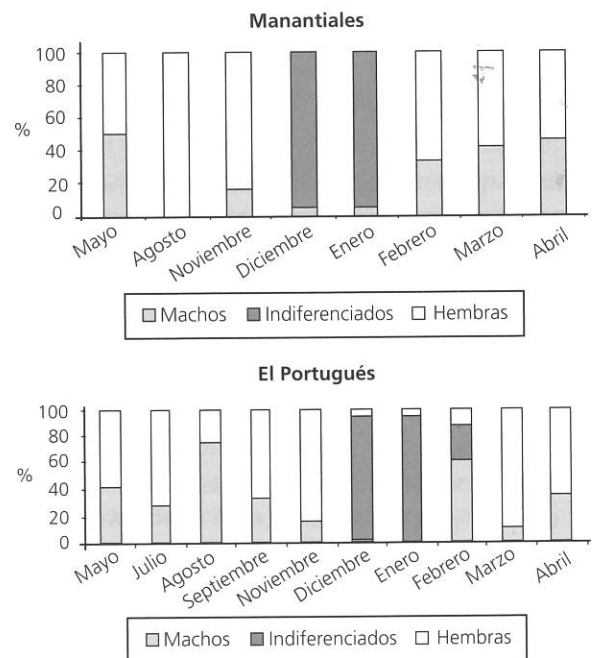


Figura 4. Proporción sexual de *Pseudocorynopoma doriai* por mes en los arroyos Manantiales y El Portugués.

K de los machos y la conductividad fue significativo: -0,69; el coeficiente de correlación entre el K de las hembras y la conductividad fue significativo: -0,82. También se encontró una correlación significativa y positiva entre la abundancia (N) y la profundidad, coeficiente de correlación: 0,75.

En el análisis factorial entre variables ambientales, abundancia y factor de condición K del arroyo El Portugués no se encontraron correlaciones significativas (Tabla 3).

La prueba de Mann-Whitney en la que se compararon las muestras de abundancia de

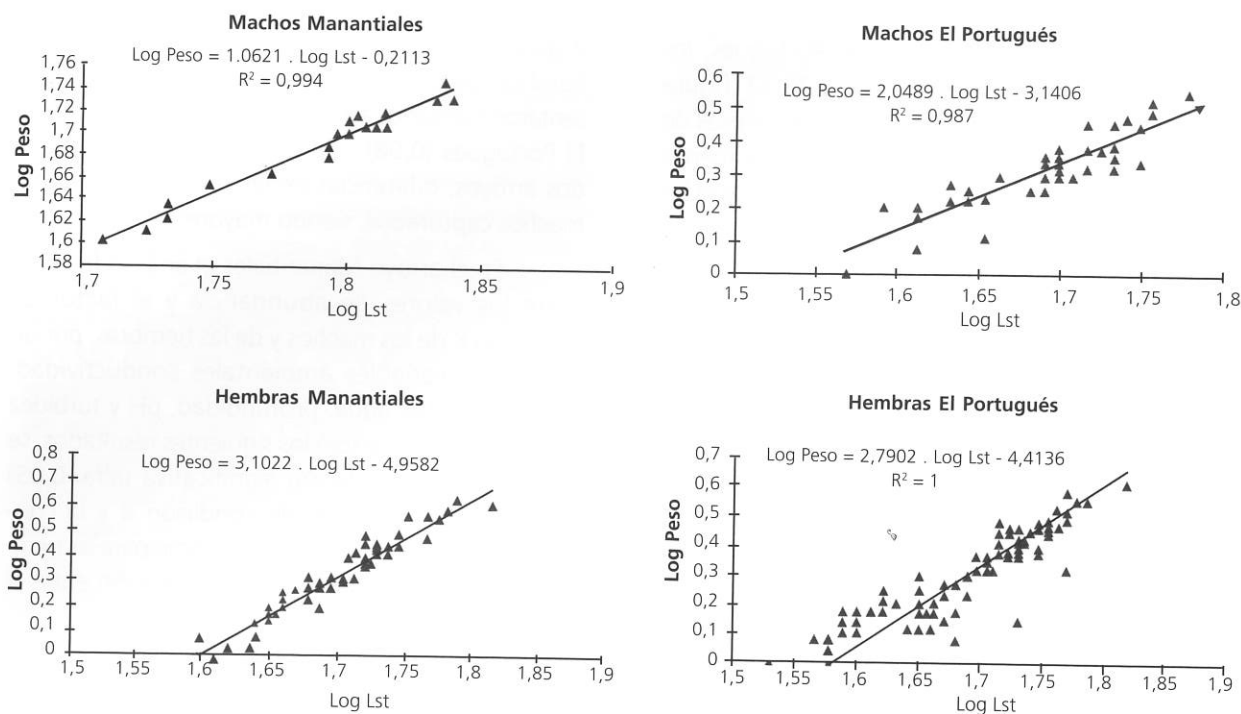


Figura 5. Relación largo/peso de machos y hembras de *Pseudocorynopoma doriai* de los arroyos Manantiales y El Portugués.

Tabla 2. Matriz de correlación entre factores ambientales, abundancia y factor K de machos y hembras en el arroyo Manantiales.

Manantiales	Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Temp.agua $^{\circ}\text{C}$	Profund.(m)	pH	Secchi (cm)
N total	-0,310	0,510	0,745	-0,063	0,463
K machos	-0,686	0,550	0,532	-0,494	-0,234
K hembras	-0,824	0,576	0,438	-0,355	-0,253

Correlaciones significativas (alfa: 0,05) en negrita.

Tabla 3. Matriz de correlación entre factores ambientales, abundancia y factor K de machos y hembras en el arroyo El Portugués. No se encontraron correlaciones significativas (alfa: 0,05).

El Portugués	Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Temp.agua $^{\circ}\text{C}$	Profund.(m)	pH	Secchi (cm)
N total	0,179	0,242	-0,208	-0,333	-0,486
K machos	-0,276	0,425	-0,069	-0,277	-0,144
K hembras	0,252	0,372	-0,064	0,233	-0,069

No se encontraron correlaciones significativas (alfa: 0,05).

Pseudocorynopoma doriai de ambos arroyos indicó que no se puede rechazar la hipótesis nula según la cual las muestras son diferentes, es decir no existe diferencia significativa entre las muestras de ambos arroyos; $p=0,325$; $\alpha=0,05$.

DISCUSIÓN

La proporción sexual registrada para *Pseudocorynopoma doriai* fue diferente de 1:1 con mayor número de hembras. La dominancia de hembras durante los meses de invierno y primavera podría estar en relación con la capacidad de los machos de inseminar a las hembras al inicio del período de maduración gonadal de éstas, y luego mantenerse segregados hasta el inicio del otoño, dado que las diferencias entre ambos sexos no son tan marcadas en mayo y abril (Burns et al., 1997). En ambos arroyos se observa una dominancia casi total de los ejemplares sexualmente indiferenciados para diciembre y enero. Braga et al. (2007) encontró el mismo patrón de dominio de inmaduros para otro glandulocaudino - *Mimogoniatas microlepis* - del sur de Brasil, lo cual demuestra para los ambientes aquí estudiados la entrada de una nueva cohorte en la población de *Pseudocorynopoma doriai*. En cambio Menni & Almirón (1994) determinaron en un ambiente léntico artificial de la pampasia una gran presencia de formas inmaduras de *Pseudocorynopoma doriai* para otoño e invierno, especie que clasifican como una estrategia oportunista, lo que implica su habilidad para una rápida colonización, una temprana maduración, una casi continua reproducción y camadas poco numerosas. La posterior falta de formas indiferenciadas en los ambientes estudiados, durante los meses de otoño e invierno, indicaría un movimiento aguas abajo de las formas juveniles para ocupar otros hábitats.

En ambos sexos se observa un progresivo aumento del K a fines de la primavera que coincide con la época de maduración de las hembras, mientras que el descenso en diciembre corresponde a la temporada posterior del desove de fines de primavera (Ferriz et al., 2005). No se observó una marcada

diferencia en los valores de K, a excepción del mes de mayo en las hembras del arroyo El Portugués, lo que podría indicar la relativa eficiencia del alimento; los valores relativamente más bajos de los meses fríos del año corresponden a un período con menos disponibilidad de alimento. La correlación negativa encontrada entre conductividad y K de machos y hembras corresponde a la época del año donde se ajusta mejor la conductividad al rango tolerado por esta especie (Menni et al., 1996). La correlación positiva entre abundancia y profundidad es un fenómeno bien documentado que indica además del incremento de la riqueza específica un aumento de la diversidad de hábitats (Marsh-Matthews & Matthews, 2000).

De acuerdo a los valores de la pendiente obtenidos se puede afirmar que esta especie presenta un crecimiento levemente alométrico, excepto para las hembras de Manantiales, que fue isométrico (3,10). Las diferencias observadas para el factor alométrico entre machos y hembras se debe al dimorfismo sexual presente en este glandulocaudino. Braga et al. (2007) *Mimogoniatas microlepis* determinaron la existencia de un crecimiento diferencial entre machos y hembras. Las hembras capturadas fueron más grandes que las indicadas por Almirón et al. (2000) y Gracioli et al. (2003) para la pampasia y sur de Brasil respectivamente; sin embargo, los primeros capturaron machos considerablemente más grandes (69 mm) que los registrados en los ambientes estudiados. Las diferencias de tamaño entre machos y hembras es una de las expresiones más comunes del dimorfismo sexual (Nikolsky, 1963); la ventaja adaptativa de hembras de mayor tamaño en especies ovulíparas radicaría en una mayor producción de huevos (Roff, 1983; Shine, 1990).

En el presente trabajo, y coincidiendo con los resultados de otros trabajos en arroyos de la pampasia (Almirón et al., 2000; Remes Lenicov et al., 2006) donde se caracteriza a *Pseudocorynopoma doriai* como una especie asociada a cauces poco modificados, indicadora de buena calidad ambiental, se detectó la presencia de una importante población de esta especie justamente en las nacientes de los arroyos estudiados, donde los cauces aún no han sido alterados. El análisis de los resultados obtenidos

indica que el área en estudio cumple una importante función en la biología trófica y reproductiva de esta especie, por lo que resulta necesario evaluar la conservación de estas nacientes, actualmente fuertemente sometidas a la explotación ganadera y a la pesca furtiva.

REFERÊNCIAS

- Almirón, A.E.; Gómez, S.E. & Toresani, N.I. (1992). Peces de agua dulce de la provincia de Buenos Aires. In: López, H.L. & Toni, E.P. (Coord.). *Situación ambiental de la provincia de Buenos Aires*, 2(12). Buenos Aires. p.1-29.
- Almirón, A.E.; García, M.L.; Menni, R.C.; Protogino, L.C. & Solari, L.C. (2000). Fish ecology of a seasonal lowland stream in temperate South America. *Marine & Freshwater Research*, 51:265-74.
- Axelrod, H.R. & Schultz, L.P. (1990). *Handbook of tropical aquarium fishes*. Neptune City, NJ: T.F.H. Publications.
- Azevedo, M.A. (2004). Análise comparada de caracteres reproductivos em três linhagens de characidae (Teleostei: Ostariophysi) com inseminação. Tesis Doctoral Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- Baigún, C.R.M.; Colautti, D.C. & Grosman, F. (2009). Assessment of condition in pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Atheriniformes: Atherinopsidae) populations: which indices work best. *Neotropical Ichthyology*, 7(3):439-46.
- Bolger, T. & P.L. Connolly. (1989). The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. *Journal Fish Biology*, 34:171-82.
- Braga, M.R.; Vitule, J.R.S. & Aranha, J.M.R. (2007). Estrutura populacional de *Mimagoniates microlepis* (Steindachner, 1876) (Characidae, Glandulocaudinae) em um riacho de Floresta Atlântica, Paraná (Brasil). *Acta Biologica Paranaense*, 36(1-2):67-81.
- Burns, J.R.; Weitzman, S.H. & Malabarba, L.R. (1997). Insemination in eight species of Cheirodontine fishes (Teleostei: Characidae: Cheirodontinae). *Copeia*, (2):433-8.
- Ferriz, R.A.; Fernández, E.M.; Bentos, C.A & López, G.R. (2005). Aspectos reproductivos de *Pseudocorynopoma doriai* (Pisces: Characidae) de la alta cuenca del Río Samborombón. Resúmenes: III Congreso Argentino de Limnología, Chascomús, Argentina. 31 de octubre - 2 de noviembre de 2005.
- Géry, J. (1977). *Characoids of the world*. Neptune City, NJ: T.F.H. Publications.
- Gómez, S.E.; Cassará, H. & Bordone, S. (1993/1994). Producción y comercialización de los peces ornamentales en la República Argentina. *Revista de Ictiología*, 2/3(1/2):13-20.
- Gracioli, G.; Azevedo, M.A. & Melo, F.A.G. (2003). Comparative study of the diet of glandulocaudinae and tetragonopterinae (Ostariophysi: Characidae) in a Small Stream in Southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna & Environment*, 38(2):95-103.
- Liao, H.; H.C. Pierce & D. Whal. (1995). Relative weight (Wr) as a field assessment tool: relationship with growth, prey biomass and environmental conditions. *Transactions of the American Fisheries Society*, 124:387-400.
- Liotta, J. 2000. Ictiofauna de arroyos del noroeste bonaerense. *Primeras Jornadas sobre Ecología y Manejo de Ecosistemas Acuáticos Pampeanos*, 2 y 3 de noviembre de 2000, Junín, Buenos Aires, Argentina.
- López, H.L.; Baigún, C.; Iwaszkiw, J.; Delfino, R. & Padin, O. (2001). *La cuenca del Salado: uso y posibilidades de sus recursos pesqueros*. La Plata: Universidad de La Plata. p.76.
- López, H.L.; Miquelarena, A.M. & Menni, R.C. (2003). Lista comentada de los peces continentales de la Argentina. *ProBiota, Serie Didáctica*, 5:1-85.
- López, H.L.; Miquelarena, A.M. & Ponte Gómez, J. (2005). Biodiversidad y distribución de la ictiofauna mesopotámica. *Insugeo, Temas de la Biodiversidad del Litoral fluvial argentino II, Miscel.* 14:311-54.
- Lowe-McConnell, R.H. (1987). *Ecological studies in tropical fish communities*. Cambridge: Cambridge University Press. p.382.
- Marsh-Matthews, E. & Matthews, W.J. (2000). Geographic, terrestrial and aquatic factors: which most influence the structure of stream fish assemblages in the midwestern United States? *Ecology of Freshwater Fish*, 9:9-21.
- Menni, R.C. (2004). Peces y ambientes en la Argentina continental. Monografía. *Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 5:1-316.
- Menni, R.C. & Almirón, A.E. (1994). Reproductive seasonality in fishes of manmade ponds in temperate South America. *Neotrópica*, 40(103-104):75-85.
- Menni, R.C.; Gómez, S.E. & López Armengol, F. (1996). Subtle relationships: freshwater fishes and water chemistry in Southern South America. *Hydrobiologia*, 328:173-97.
- Nelson, K. (1964). Behaviour and morphology in the glandulocaudine fishes (Ostariophysi, Characidae). *University of California Publication in Zoology*, 75:59-152.
- Nikolsky, G.V. (1963). *The ecology of fishes*. London: Academic Press.

- Remes Lenicov, M.; Colautti, D.C. & López, H.L. (2006). Ictiofauna de un ambiente lótico suburbano: el Arroyo Rodríguez (Buenos Aires, Argentina). *Biología Acuática*, 22:223-30.
- Ricker, W.E. (1973). Linear regressions in fishery research. *Journal Fisheries Research Board of Canada*, 30:409-34.
- Ricker, W.E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 191:1-382.
- Ringuelet, R.A.; Aramburu, R.H. & Aramburu, A.A. (1967). *Los peces argentinos de agua dulce*. La Plata: Comisión Científica de la Provincia de Buenos Aires.
- Roff, D.A. (1983). An allocation model of growth and reproduction in fish. *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences*, 40:1395-404.
- Shine, R. (1990). Proximate determinants of sexual differences in adult body size. *American Naturalist*, 135:278-83.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1981). *Biometry*. New York: W.H. Freeman. p.859.
- Sutton, N.S.G.; Bult, T.P. & Haedrich, R.L. (2000). Relationships among fat weight, body weight, water weight, and condition factors in wild Atlantic salmon parr. *Transactions of the American Fisheries Society*, 129:527-38.
- Weitzman, S.H. (2003). Subfamily Glandulocaudinae (Characins, tetras). In: Reis, R.E.; Kullander, S.O. & Ferraris, C.J. Jr. (Ed.). *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Porto Alegre, Brazil: Edipucrs. p.222-30.

Recibido el: 30/10/09

Versión Final re-apresentada el: 12/3/2010

Aprobado el: 10/4/2010



ARTIGO | ARTICLE

Itens alimentares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivadas em um estuário tropical, no Nordeste do Brasil

Food items of Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivated in a tropical estuary in Northeast Brazil

Alinne Dué¹

Manoel Messias da Silva Costa¹

Euripedes Alves Silva Filho²

Élica Amara Cecília Guedes¹

RESUMO

O estudo sobre a alimentação das ostras possibilita revelar aspectos de sua biologia e permite reconhecer alterações antrópicas no ecossistema. Esse trabalho analisou e identificou itens alimentares do conteúdo estomacal de *Crassostrea rhizophora* (Guilding, 1828), obtidas em região de cultivo em um estuário tropical, no Nordeste do Brasil. Foram coletados mensalmente, entre maio e novembro de 2005, durante o período de baixa-mar, um total de 210 exemplares. Em laboratório retirou-se o trato gastrointestinal para análise quanti-qualitativa. De acordo com o grau de repleção, os tubos digestivos foram classificados em "cheio", "quase cheio", "quase vazio" e "vazio". Houve maior incidência de indivíduos do estágio "cheio" (57%), indicando a existência de boa disponibilidade de alimento. A análise do conteúdo estomacal demonstrou uma ocorrência de 97 itens alimentares pertencentes aos grupos: Cyanobacteria, Xanthophyta, Bacillariophyta, Dinophyta, Euglenophyta, Chlorophyta, Protozoa, Rotifera, Annelida, Arthropoda, Mollusca, além de outros organismos (fragmentos de fitoplâncton, zooplâncton e fanerógamos) e sedimentos (grãos-de-areia). Bacillariophyta foi o grupo dominante (63%) seguido de Chlorophyta (12%). Esse estudo mostrou que *C. rhizophorae* tende a ingerir quaisquer partículas microscópicas trazidas em suspensão na água sem seleção de valor nutritivo.

Palavras-chave: Conteúdo estomacal. Mollusca. Ostra. Plâncton.

¹ Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Setor de Botânica, Laboratório de Ficologia, Praça Afrânio Jorge, s/n., Centro, Prado, 57000-000, Maceió, AL, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: A. DUÉ. E-mail: <alinne_due@hotmail.com>.

² Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Mestrado em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos. Maceió, AL, Brasil.

ABSTRACT

The study of the feeding habits of oysters enables us to show aspects of their biology and to recognize anthropogenic changes in the ecosystem. This study analyzed and identified food items in the stomach contents of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), obtained in a region of cultivation in a tropical estuary in Northeast Brazil. A total of 210 specimens were collected on a monthly basis between May and November 2005, during low tide. The gastrointestinal tract was removed in the laboratory for quantitative and qualitative analysis. Depending on the degree of repletion, the digestive tubes were classified as "full", "almost full", "almost empty" and "empty". There was a higher incidence of individuals in the "full" stage (57%), indicating the existence of good availability of food. The analysis of stomach contents showed the presence of 97 food items belonging to the groups: Cyanobacteria, Xanthophyta, Bacillariophyta, Dinophyta, Euglenophyta, Chlorophyta, Protozoa, Rotifera, Annelida, Arthropoda, Mollusca, as well as other organisms (fragments of Phytoplankton, Zooplankton and Phanerogamae) and sediments (grains of sand). Bacillariophyta was the dominant group (63%) followed by Chlorophyta (12%). This study showed that *C. rhizophorae* tends to ingest any microscopic particles carried in suspension in the water irrespective of nutritional value.

Key words: Stomach contents. Mollusca. Oyster. Plankton.

INTRODUÇÃO

Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828), conhecida como ostra do mangue, é uma espécie gonocórica, de tamanho médio, que alcança 100mm de altura, apresentando concha grossa, de forma variável, geralmente larga e de tonalidade clara a escura, com valva superior plana e menor que a inferior (Villarroel et al., 2003; Christo, 2006). Essa espécie é típica de zonas tropicais e ocorre principalmente fixada às raízes aéreas de mangue vermelho, *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae) ou sobre zonas entremarés e costões rochosos (Nascimento, 1983). Distribui-se do Caribe ao Atlântico sulamericano até o Brasil (Villarroel et al., 2003; Christo, 2006). É uma das espécies mais citadas e exploradas comercialmente devido ao seu valor alimentício e ao uso da concha como matéria-prima na fabricação de produtos industriais e medicinais (Christo, 2006).

Partículas em suspensão na água são ingeridas como alimento e provêm de um fluxo de água, que passa através da cavidade do manto, pelas

brânquias ciliadas alargadas e pregueadas que funcionam como um filtro, concentrando partículas orgânicas, microalgas e organismos planctônicos (Pearse et al., 1987; Ward, 1996).

O conhecimento da alimentação constitui o elemento essencial para a compreensão de características específicas decorrentes tanto das condições ambientais quanto do hábito alimentar (Zavala-Camin, 1996), pois revela aspectos sobre a sua biologia e ainda pode ajudar no reconhecimento de alterações antrópicas no ecossistema (Crocì & Suffredini, 2003). Entretanto, ainda são poucos os estudos sobre a composição da dieta e sobre os hábitos alimentares dessas espécies, destacando-se os trabalhos de Savage (1925), Sparck (1928), Le Roux (1956), Jmeliova & Sanz (1969), Paulmier (1972), Azevedo (1980), Costa (1985), Ward et al. (1994), Ward (1996), Espinosa et al. (2007), Kach & Ward (2008) e Mafra et al. (2009a,b).

Considerando que há poucos trabalhos sobre o conteúdo estomacal de *C. rhizophorae*, esse estudo teve como objetivo identificar os itens alimentares dessa espécie de ostra em ambientes de cultivo, contribuindo assim para o conhecimento acerca da sua biologia alimentar e ecologia.

MATERIAL E MÉTODOS

O sistema estuarino-lagunar do Roteiro, constitui uma Área de Preservação Permanente e está associado à desembocadura do Rio São Miguel, situando-se ao sul da cidade de Maceió, litoral centro do Estado de Alagoas (35° 53' a 36° 02' W e 9° 47' a 9° 53' S), envolvendo os municípios de Barra de São Miguel (ao Norte) e do Roteiro (ao Sul) sendo considerada a maior área contínua de manguezais de Alagoas. Cobre cerca de 8km², com largura máxima de 1,375km e mínima de 300m, com comprimento em linha reta de 10,575km de extensão. Na laguna, os fluxos marinho e lagunar são influenciados pelo canal que passa entre as ilhas de mangues, condições estas que permitem a ocorrência de ostras da espécie *C. rhizophorae* (Silva, 2001).

O clima, segundo a classificação de Köppen, é do tipo As' tropical chuvoso de monção, apresentando verão seco e inverno chuvoso. A irregularidade na distribuição anual das chuvas varia entre 1000mm e 1600mm, decrescendo a montante do vale. A salinidade varia entre 12‰ a 24‰ e a temperatura da água de 26 a 32°C. O trimestre mais seco corresponde aos meses de outubro, novembro e dezembro. A precipitação concentra-se no outono e inverno, mas ocorre também proporção bem menor durante o verão e a primavera (Silva, 2001).

As coletas foram realizadas mensalmente de maio a novembro de 2005. Foram coletados ao acaso trinta exemplares de *C. rhizophorae*, sempre durante a baixa-mar, período onde as espécies ficavam expostas a luminosidade, no cultivo do tipo "mesa" localizado na Laguna do Roteiro (9° 50' 04,8"S e 35° 57' 20,7"W).

Paralelamente às coletas de *C. rhizophorae* foram feitos arrastos superficiais horizontais durante o período de 10 minutos, com rede de nylon com abertura de 45µm para as coletas simultâneas do plâncton adjacente.

Em laboratório os exemplares foram lavados com água doce e limpos com escova com cerdas de nylon para retirada de epibiontes. Foram mensuradas as seguintes variáveis biométricas em cada indivíduo: (1) comprimento total da concha (mm); (2) largura

da concha (mm); (3) altura da concha (mm), utilizando-se um paquímetro de precisão de 0,01mm, de acordo com Galtsoff (1964). O peso das ostras (carne e concha) foi obtido, com uma balança digital de três dígitos.

Com auxílio de bisturi, os estômagos foram extraídos e cortados longitudinalmente e seus conteúdos removidos com jatos de água e depositados em uma placa-de-petri com formol a 4% neutralizado com tetraborato de sódio (bórax). Foi verificado visualmente o grau de repleção dos conteúdos estomacais, sendo classificados, de acordo com o seu tamanho, em "cheio", "quase-cheio", "quase-vazio" e "vazio". Para as análises quali-quantitativas do conteúdo estomacal, foram examinadas alíquotas de 1mL, procedendo-se a análise direta em microscópio óptico binocular, visando à identificação dos organismos.

A identificação do material biológico foi baseada em trabalhos de Mizuno (1968), Stemberger (1979), Round *et al.* (1990), Silva-Cunha & Eskinazi-Leça (1990), Parra & Bicudo (1995), Moreno *et al.* (1996) e Dussart & Defaye (2001).

Após a identificação, foram realizadas contagens dos organismos e calculada a abundância relativa de cada táxon, utilizando a fórmula: $A = N \times 100/n$ onde, $N = n^\circ$ de espécies na lâmina; $n = n^\circ$ total de espécies, sendo estabelecidos os seguintes critérios: dominante - ocorrência maior do que 50%; abundante - ocorrência entre 50 e 30%; pouco abundante - ocorrência entre 30 e 10%; rara - menor de 10% (Lobo & Leighton, 1986). Para tanto, os itens alimentares foram agrupados em categorias taxonômicas ou ecológicas mais amplas.

A frequência de ocorrência foi calculada a partir do número de vezes em que cada item alimentar ocorreu nas lâminas analisadas, de acordo com a metodologia de Mateucci & Colma (1982), por intermédio da fórmula: $F = P \times 100/p$ onde, $P = n^\circ$ de lâminas contendo a espécie; $p = n^\circ$ total de lâminas examinadas, sendo estabelecidos os seguintes critérios: muito frequente - ocorrência em mais de 70% das lâminas; frequente - ocorrência entre 70% e 40% das lâminas; pouco frequente - ocorrência entre 40% e 20% e esporádica menos de 20%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura de *C. rhizophorae* variou entre 37,5mm a 90mm, o comprimento de 13,2mm a 66,8mm e massa de 5,7g a 38,6g, sendo encontrados indivíduos maiores no período seco.

O estágio mais frequente foi o “cheio” (57%) e os estágios “quase-cheio” e “vazio” apresentaram respectivamente, 19% e 24%. A análise do conteúdo estomacal demonstrou a ocorrência de 97 itens alimentares pertencentes aos seguintes grupos: Cyanobacteria, Xanthophyta, Bacillariophyta, Dinophyta, Euglenophyta, Chlorophyta, Protozoa, Rotifera, Annelida, Arthropoda, Mollusca, outros organismos (fragmentos de fitoplâncton, zooplâncton e fanerógamos) e sedimentos (grãos-de-areia). Foi considerado dominante o grupo Bacillariophyta com 63% seguido de Chlorophyta com 12% (Figura 1).

Sobre a média da abundância relativa nenhum organismo foi classificado como “dominante” e “abundante”. Foram classificados como “pouco abundantes” *Nitzschia longissima* (Brébisson in Kützing) Grunow, *Nitzschia acicularis* (Kützing) W. Smith, *Coscinodiscus centralis* Ehrenberg, *Onychonema filiformis* (Ehrenberg) Roy & Bisset, *Tintinnidium incertum* (Brandt, 1906), *Coscinodiscus oculus-iridis* Ehrenberg, *Asterionellopsis glacialis* (Castracane) Round e *Cyclotella meneghiniana* Kützing. Os demais organismos mostraram pouca influência na alimentação dessas ostras, por estarem presentes em apenas 10% das amostras (Anexo).

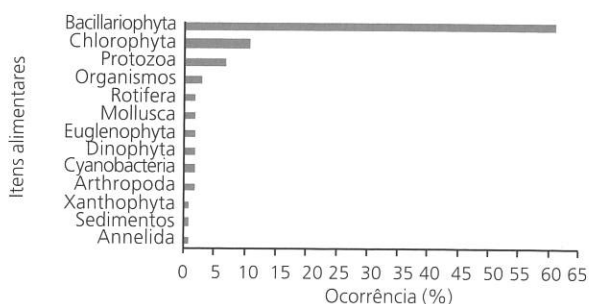


Figura 1. Ocorrência dos itens alimentares (%) encontrados nos estômagos de 210 exemplares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) da laguna do Roteiro (AL), entre maio e novembro de 2005.

Quanto à abundância relativa dos principais itens alimentares, a predominância foi do fitoplâncton com 79,2% (novembro), zooplâncton (33,9% outubro) e matéria orgânica (fragmentos de fitoplâncton, zooplâncton e fanerógamos e grãos de areia) com 18,5% (junho) (Figura 2).

As análises quali-quantitativas dos conteúdos estomacais de *C. rhizophorae* revelaram a ocorrência de diversos organismos. Destacou-se o fitoplâncton, que está estreitamente relacionado com a produção de biomassa deste molusco. Este item atingiu valores elevados, notadamente, Bacillariophyta, alcançando altos percentuais durante todo o período de estudo.

A variação temporal média dos alimentos ingeridos mostrou que as ostras apresentaram um pico de alimentação, principalmente nos meses de setembro e novembro, predominando, no bolo alimentar, as diatomáceas (Bacillariophyta) (Figura 3). Este resultado é similar ao reportado por Azevedo (1980), ao analisar o conteúdo estomacal de *C. rhizophorae* da região de Itamaracá, Estado de Pernambuco.

As diatomáceas constituem um importante componente fitoplanctônico nos ecossistemas aquáticos de modo geral e a dominância dessas microalgas é decorrente principalmente de sua alta taxa de crescimento em relação aos demais grupos, como também devido a sua natureza eurialina e sua preferência por ambientes eutróficos (Egge & Aksnes, 1992).

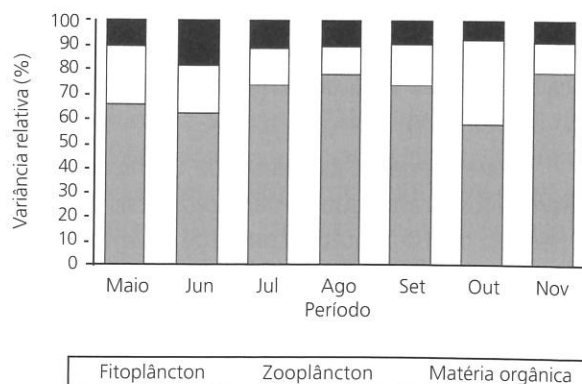


Figura 2. Abundância relativa dos itens alimentares (%) encontrados nos estômagos de 210 exemplares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) na laguna do Roteiro (AL), entre maio e novembro de 2005.

Em virtude de ter ocorrido uma variedade de formas microbentônicas, planctônicas, detritos inorgânicos, resto de vegetais e animais, observou-se que não houve uma seleção em termos de valor nutritivo, conforme relatam Yonge (1966) e Azevedo (1980).

Le Roux (1956), estudando o conteúdo estomacal da ostra portuguesa, da Bacia de Arcachon França, relata que os itens foram ingeridos em função de seus tamanhos e formas, havendo certa seletividade contra os organismos com expansões ou espinhos. Porém, estudando ostra europeia *Ostrea edulis* Linnaeus, 1758, Paulmier (1972) observou por várias vezes que o bolo alimentar era quase inteiramente constituído de *Biddulphia sienensis* Greville, uma diatomácea munida de estruturas proeminentes, além de nauplius de cirripédios e copépodos com estruturas fortemente espinhosas.

Estudos sobre alimentação de ostra por vídeo-endoscopia realizados no Canadá mostraram que, além de filtrarem partículas por tamanho, revelaram uma seletividade relacionada às substâncias liberadas pelas microalgas (Cognie et al., 2003; Espinosa, 2007; Kach & Ward, 2008; Mafra et al., 2009a,b). Ao oferecerem dietas compostas por microcápsulas com combinações de diferentes microalgas estes autores perceberam que as que continham diatomáceas e dinoflagelados, eram rejeitadas em pseudofezes, já as microcápsulas que continham Chlorophyta eram ingeridas em maior quantidade. Esses mesmos autores acreditavam que as diato-

máceas poderiam conter metabólitos que causavam efeito inibitório sobre a alimentação da ostra, porém, esses metabólitos ainda não são totalmente conhecidos.

Pela análise do conteúdo estomacal, verificou-se que *C. rhizophorae* é pouco seletiva na sua alimentação, fato este já observado por Savage (1925), ao estudar o alimento das ostras dos bancos em Suffolk (Inglaterra). Ranson (1951), afirma que a alimentação das ostras varia com a fauna e flora microscópica das zonas sobre as quais elas vivem. No comportamento alimentar de *C. rhizophorae* da laguna do Roteiro, houve uma variação de formas planctônicas e inclusive de elementos que não constituem o plâncton.

Estudos paralelos realizados sobre o fitoplâncton na laguna do Roteiro revelam que a frequência da microflora foi dominante em todos os meses do ano, principalmente por *C. centralis*, que foi o item alimentar mais frequente. Vários gêneros planctônicos foram detectados no estômago das ostras, entretanto, algumas espécies são indigeríveis, tais como *Coscinodiscus* sp., que apresentam carapaça formada por sílica e devido a isso são quase que imediatamente expulsas através do ânus (Costa, 1985).

A espécie estudada no presente trabalho mostrou um tipo de alimentação bastante semelhante ao do gastrópode *Australorbis glabratus* Say (1818), uma vez que estes moluscos também têm preferência por microalgas Bacillariophyta (Filho & Mômoli, 1963).

Quanto à frequência de ocorrência dos alimentos, os itens considerados "muito frequentes" foram: fragmentos de fitoplâncton, *C. centralis* (76,2%), *N. longissima* (76,2%) e *Pseudo-nitzschia* sp. (71,4%) (Figura 4).

Em geral, a elevada participação do fitoplâncton na dieta de *C. rhizophorae* constatada nesse estudo, coincide com o encontrado por Jmeliova & Sanz (1969), Paulmier (1972) e Azevedo (1980), onde as diatomáceas foram os itens que predominaram, diferentemente do encontrado por Cognie et al. (2003); Espinosa (2007); Kach & Ward (2008); Mafra et al. (2009a,b) em trabalhos realizados por vídeo-endoscopia.

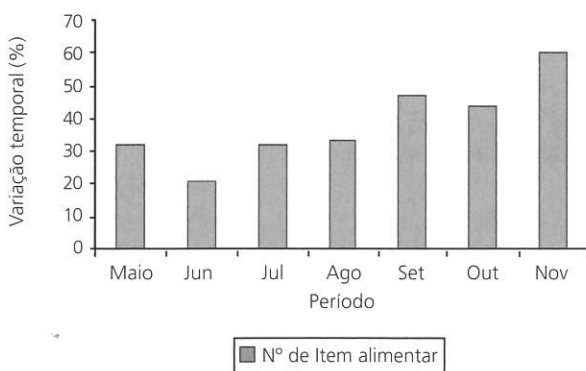


Figura 3. Variação temporal média (%) de alimentos ingeridos por *Crassostrea rhizophorae* (Guilting 1828), na laguna do Roteiro (AL), entre maio e novembro de 2005.

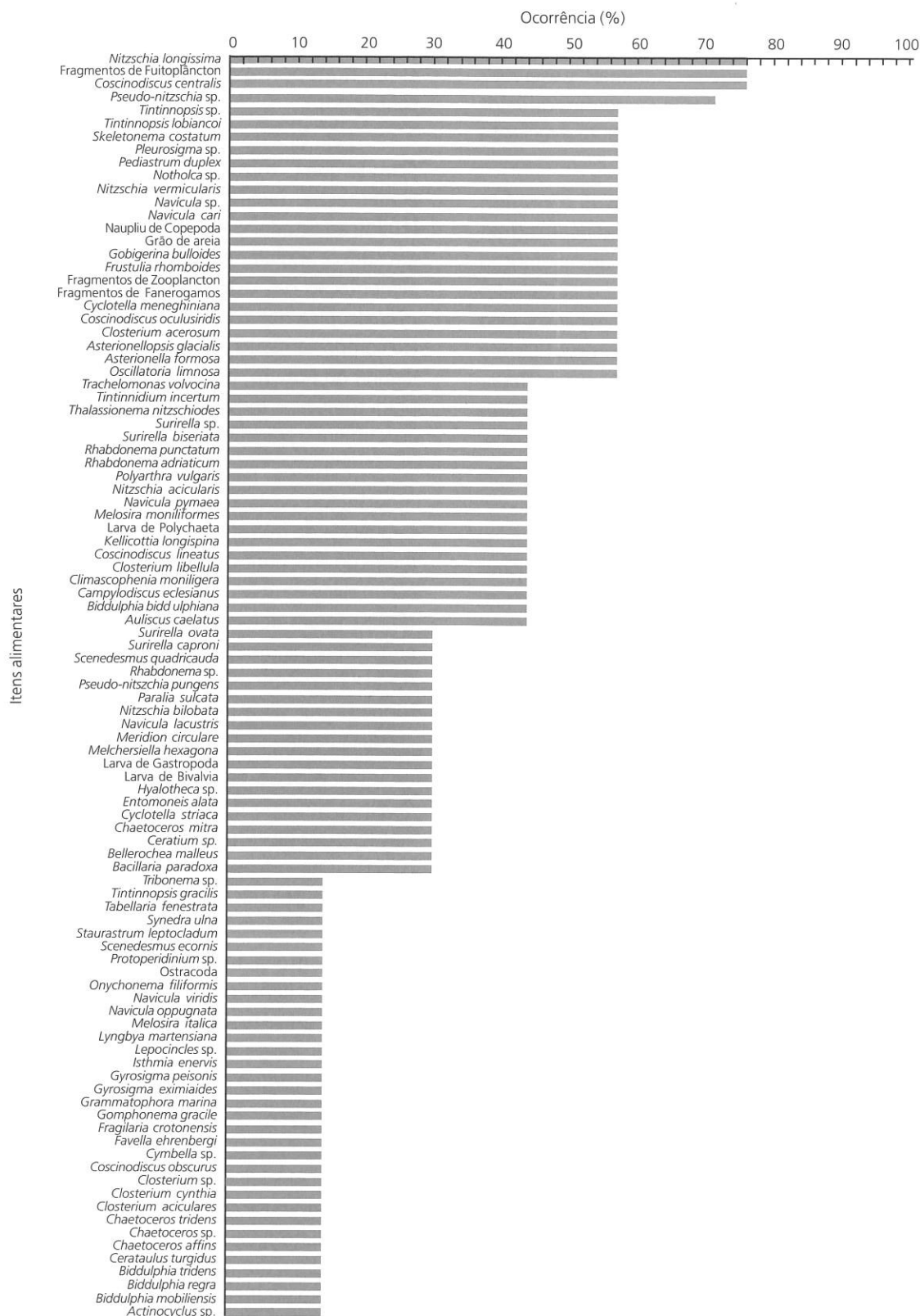


Figura 4. Frequência de ocorrência (%) dos itens alimentares ingeridos por *Crassostrea rhizophorae* (Goulding, 1828) da laguna do Roteiro (AL), entre maio e novembro de 2005.

CONCLUSÃO

A análise do conteúdo estomacal de *C. rhizophorae* em cultivo revelou que estas ostras possuem um hábito alimentar onívoro, apesar da elevada participação do fitoplâncton na dieta. A composição dos organismos encontrados no estômago das ostras apresentou-se constante no período estudado, sendo Bacillariophyta considerado o item alimentar predominante na nutrição desta espécie.

AGRADECIMENTOS

Ao oceanógrafo Fábio Colin (*in memoriam*), pela disposição em compartilhar suas experiências e aos Laboratórios de Ficologia e de Genética e Microbiologia da Universidade Federal de Alagoas, pelo apoio logístico.

REFERÊNCIAS

- Azevedo, H.G. (1980). Estudo ecológico da região de Itamaracá, Brasil. XI. Regime alimentar da ostra *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828 (Pelecypoda, Filobranchia, Ostreidae). *Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco*, 15:343-55.
- Christo, S.W. (2006). *Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero Crassostrea Sacco, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná-Brasil): um subsídio ao cultivo*. Doutorado em Zoologia, Universidade Federal do Paraná.
- Cognie, B.; Barillé, L.; Massé, G. & Beninger, P.G. (2003). Selection and processing of large suspended algae in the oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Ecology Progress Series*, 250:145-52.
- Costa, P.F. (1985). Biologia e tecnologia para o cultivo. In: Manual de maricultura. Rio de Janeiro: Ministérios da Marinha.
- Croci, L. & Suffredini, E. (2003). Microbiological risk associated with seafood consumption. *Ann Ist Super Sanita*, 39(1):35-45.
- Dussart, B.H. & Defaye, D. (2001). *Introduction to the Copepoda*. Publishers: Leiden: Backhuys
- Edge, J.K. & Aksnes, D.L. (1992). Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. *Marine Ecology Progress Series*, 83:281-89.
- Espinosa, E.P.; Barillé, L. & Allam, B. (2007). Use of encapsulated live microalgae to investigate pre-ingestive selection in the oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 343(1):118-26.
- Filho, H.M. & Mômoli, D.M.M. (1963). Diatomáceas no trato digestivo do *Australorbis glabratus* (Say, 1818). *Boletim da Universidade Federal do Paraná: Botânica*, 9:1-7.
- Galtsoff, P.S. (1964). The american oyster *crassostrea virginica*. *Fishery Bulletin*, 64:1-457.
- Jmeliova, N.N. & Sanz, J. (1969). Respiración y algunas particularidades de la alimentación del ostión *Crassostrea rhizophorae* Guilding. *Serie Oceanológica*, 3:1-20.
- Kach, D.J. & Ward, J.E. (2008). The role of marine aggregates in the ingestion of picoplanktonsize particles by suspension-feeding mollusks. *Marine Biology*, 153(5):797-805.
- Le Roux, S. (1956). Phytoplankton et contenus stomacaux d'huitres portugaises (*Gryphaea angulata* Lamarck) dans le basin d'Arcachon. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 20(2):163-70.
- Lobo, E. & Leighton, G. 1986. Estruturas comunitarias de las fitocenosis planctonicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile. *Biologia Marina*, 22:1-29.
- Mafra, L.L.J.; Bricelj, V.M.; Ouellette, C.; Léger, C. & Bates, S.S. (2009a). Mechanisms contributing to low domoic acid uptake by oysters feeding on *Pseudo-nitzschia* cells. I. Filtration and pseudofeces production. *Aquatic Biology*, 6:201-12.
- Mafra, L.L. J.; Bricelj, V.M. & Ward, J.E. (2009b). Mechanisms contributing to low domoic acid uptake by oysters feeding on *Pseudo-nitzschia* cells. II. Selective rejection. *Aquatic Biology*, 6:213-26.
- Mateucci, S. & Colma, A. (1982). La metodologia para el estudio de la vegetacion. Colección de monografias científicas. *Serie Biología*, 22:1-168.
- Mizuno, T. (1968). *Illustration of freshwater plancton of Japan*. Osaka: Hoikusha.
- Moreno, J.L.; Licea S., & Santoyo, H. (1996). *Diatomeas del Golfo de California*. La Paz, Mexico: Universidad Autonoma de Baja California Sur.
- Nascimento, I.A. (1983). Cultivo de ostras no Brasil: problemas e perspectivas. *Ciência e Cultura*, 35:871-76.
- Parra, O.O. & Bicudo, C.E.M. (1995). *Introducción a la biología y sistemática de las algas continentales*. Barcelona: Editora Omega.
- Paulmier, G. (1972). Seston-Phytoplankton et microphytobenthos en riviere d'Auray: Leur rôle dans le cycle biologique des huîtres (*Ostrea edulis* L.). *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 26(4):462-85.
- Pearse V.; Pearse J.; Buchsbaum M. & Buchsbaum R. (1987). *Living. Invertebrates*. Palo Alto: CA: Blackwell Scientific.

- Ranson, G. (1951). Les huitres, biologie, culture. In: *Savoir em historie naturelle*. Paris: Lechevalier.
- Round, F.E.; Crawford, R.M. & Mann, D.G. (1990). *The Diatoms: biology and morphology of the genera*. Cambridge: Cambridge University.
- Savage, R.C. (1925). The food of the oyster. *Fishery Investigations*, 8(1):1-50.
- Silva, A.P.L. (2001). *Estudos geomorfológicos e sedimentológico do sistema estuarino lagunar do roteiro - Alagoas*. Mestrado em Geociências, Universidade Federal de Pernambuco.
- Silva-Cunha, M.G.G. & Eskinazi-Leça, E. (1990). *Catálogo das diatomáceas (Bacillariophyceae) da plataforma continental de Pernambuco*. Recife: SUDENE.
- Sparck, R. (1928). On the food problem in relation to marine zoogeography. *Journal du Conseil*, 3(1):121-23.
- Stemberger, R.S. (1979). *A Guide to rotifers of the Laurentian Great Lakes*. Cincinnati, Ohio: U.S. Environmental Protection Agency.
- Villarroel, E.; Buitrago, E. & Lodeiros, C. (2003). Identification of environmental factors affecting growth and survival of the Tropical Oyster *Crassostrea Rhizophorae* in suspended culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Revista Científica*, 14(1):28-35.
- Ward, J.E. (1996). Biodynamics of suspension-feeding in adult bivalve molluscs: Particle capture, processing, and fate. *Invertebrate Biology*, 115(3):218-31.
- Ward, J.E.; Newell, R.I.E.; Thompson, R.J. & MacDonald, B.A. (1994). In vivo studies of suspension-feeding processes in the eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Biological Bulletin*, 186(2):221-40.
- Yonge, C.M. (1966). *Oyster*. London: Collins.
- Zavala-Camin, L.A. (1996). *Introdução aos estudos sobre alimentação natural em peixes*. Maringá: EDUEM.

Recebido em: 13/1/2010

Versão final reapresentada em: 28/4/2010

Aprovado: 21/5/2010

ANEXO

MÉDIA DA ABUNDÂNCIA RELATIVA (%) DOS ITENS ALIMENTARES INGERIDOS POR *CRASSOSTREA RHIZOPHORAE* (GUILDING, 1828) DA LAGUNA DO ROTEIRO (AL), ENTRE MAIO E NOVEMBRO DE 2005

Item alimentar	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
CYANOBACTERIA							
<i>Lyngbya martensiana</i>	—	—	—	—	—	—	0,5
<i>Oscillatoria limnosa</i>	—	5,5	—	1,1	1,2	0,8	—
XANTHOPHYTA							
<i>Tribonema</i> sp.	—	—	0,5	—	—	—	—
BACILLARIOPHYTA							
<i>Actinocyclus</i> sp.	0,2	—	—	—	—	—	—
<i>Asterionella formosa</i>	5,9	2,9	—	—	—	0,4	2,2
<i>Asterionellopsis glacialis</i>	1,0	2,4	3,8	12,4	4,0	0,2	2,1
<i>Auliscus caelatus</i>	—	—	—	—	1,4	2,0	2,0
<i>Bacillaria paradoxa</i>	—	—	1,0	—	—	—	1,8
<i>Bellerochea malleus</i>	—	—	—	—	0,7	—	1,4
<i>Biddulphia biddulphiana</i>	—	—	—	0,9	—	5,2	1,8
<i>Biddulphia mobiliensis</i>	—	—	—	—	—	—	2,0
<i>Biddulphia regra</i>	—	—	—	—	0,8	—	—
<i>Biddulphia tridens</i>	—	—	—	—	2,1	—	—
<i>Campylodiscus ecclesianus</i>	—	—	0,2	2,0	—	—	1,3
<i>Cerataulus turgidus</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Chaetoceros affinis</i>	—	—	—	—	4,0	—	—
<i>Chaetoceros mitra</i>	—	—	—	8,7	—	—	2,0
<i>Chaetoceros</i> sp.	—	—	—	—	—	2,3	—
<i>Chaetoceros tridens</i>	—	—	—	—	—	—	1,7
<i>Climacophenia moniligera</i>	—	—	—	—	0,7	2,4	0,8
<i>Coscinodiscus centralis</i>	4,6	6,5	0,9	3,7	5,0	17,4	6,1
<i>Coscinodiscus lineatus</i>	—	—	1,8	—	—	5,0	6,7
<i>Coscinodiscus obscurus</i>	0,5	—	—	—	—	—	—
<i>Coscinodiscus oculusridis</i>	12,5	10,4	5,9	5,6	4,2	—	3,1
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	10,3	6,7	0,5	1,5	1,0	1,1	1,0
<i>Cyclotella striata</i>	1,2	—	0,8	—	—	—	—
<i>Cymbella</i> sp.	—	—	—	—	—	—	1,1
<i>Entomoneis alata</i>	—	—	—	—	1,2	—	1,0
<i>Fragilaria crotonensis</i>	—	—	—	—	—	—	1,1
<i>Frustulia rhomboides</i>	0,2	0,3	0,2	0,3	2,4	0,8	—
<i>Gomphonema gracile</i>	—	—	—	—	—	—	0,9
<i>Grammatophora marina</i>	—	—	—	—	3,0	—	—
<i>Gyrosigma eximiaides</i>	—	—	—	—	1,8	—	—
<i>Gyrosigma peisonis</i>	—	—	—	—	2,3	—	—
<i>Isthmia enervis</i>	—	—	—	—	—	—	1,0
<i>Melchersiella hexagona</i>	—	—	—	—	—	2,4	2,2
<i>Melosira italica</i>	1,7	—	—	—	—	—	—
<i>Melosira moniliformes</i>	—	—	0,5	—	—	3,0	1,3
<i>Meridion circulare</i>	—	—	—	—	—	1,2	4,2

ANEXO

MÉDIA DA ABUNDÂNCIA RELATIVA (%) DOS ITENS ALIMENTARES INGERIDOS POR *CRASSOSTREA RHIZOPHORAE* (GUILDING, 1828) DA LAGUNA DO ROTEIRO (AL), ENTRE MAIO E NOVEMBRO DE 2005

Item alimentar	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
BACILLARIOPHYTA							
<i>Navicula cari</i>	3,3	—	—	1,5	—	1,0	1,7
<i>Navicula lacustris</i>	—	—	—	—	—	0,5	1,2
<i>Navicula oppugnata</i>	—	—	1,5	—	—	—	—
<i>Navicula pymaea</i>	0,5	—	—	—	—	0,7	1,1
<i>Navicula sp.</i>	0,2	5,4	1,5	5,2	—	0,7	—
<i>Navicula viridis</i>	0,7	—	—	—	—	—	—
<i>Nitzschia acicularis</i>	—	—	21,5	3,8	0,9	—	—
<i>Nitzschia bilobata</i>	0,2	2,1	—	—	—	—	—
<i>Nitzschia longissima</i>	3,0	5,7	22,2	5,2	3,3	2,8	1,9
<i>Nitzschia vermicularis</i>	—	—	2,1	1,6	1,5	0,9	2,1
<i>Paralia sulcata</i>	—	—	—	3,2	—	—	0,9
<i>Pleurosigma sp.</i>	—	—	5,9	2,3	2,0	2,1	0,2
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>	—	—	—	—	3,3	—	4,0
<i>Pseudo-nitzschia sp.</i>	—	6,1	1,5	3,7	4,2	2,0	2,2
<i>Rhabdonema adriaticum</i>	—	—	—	—	1,6	2,4	1,3
<i>Rhabdonema punctatum</i>	—	—	—	—	3,4	5,9	1,5
<i>Rhabdonema sp.</i>	—	—	—	1,5	1,0	—	—
<i>Skeletonema costatum</i>	—	—	0,4	0,6	0,7	—	0,4
<i>Surirella biseriata</i>	—	—	4,9	1,7	0,7	—	—
<i>Surirella caproni</i>	—	—	—	—	—	2,6	1,0
<i>Surirella ovata</i>	—	—	—	—	3,0	—	0,6
<i>Surirella sp.</i>	—	0,8	—	0,5	—	2,7	—
<i>Synedra ulna</i>	—	—	—	—	—	—	0,8
<i>Tabellaria fenestrata</i>	—	—	0,5	—	—	—	—
<i>Thalassionema nitzschioides</i>	—	—	—	1,8	2,3	—	1,4
DINOPHYTA							
<i>Ceratium sp.</i>	—	—	—	—	—	0,2	1,0
<i>Protoperdinium sp.</i>	—	—	—	—	—	—	0,6
EUGLENOPHYTA							
<i>Lepocincles sp.</i>	—	—	—	—	1,5	—	—
<i>Trachelomonas volvocina</i>	—	—	—	1,6	1,1	—	0,6
CHLOROPHYTA							
<i>Closterium acerosum</i>	3,8	4,1	0,2	4,4	3,2	2,8	0,8
<i>Closterium aciculares</i>	0,2	—	—	—	—	—	—
<i>Closterium cynthia</i>	0,2	—	—	—	—	—	—
<i>Closterium libellula</i>	3,1	—	—	1,0	—	—	0,5
<i>Closterium sp.</i>	—	—	0,8	—	—	—	—
<i>Hyalotheca sp.</i>	—	—	2,0	—	—	1,1	—
<i>Onychonema filiformis</i>	—	—	—	—	—	—	14,3
<i>Pediastrum duplex</i>	—	—	1,2	2,6	1,6	1,0	0,3
<i>Scenedesmus ecornis</i>	1,7	—	—	—	—	—	—
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	—	—	—	—	3,0	0,6	—

ANEXO

MÉDIA DA ABUNDÂNCIA RELATIVA (%) DOS ITENS ALIMENTARES INGERIDOS POR *CRASSOSTREA RHIZOPHORAE* (GUILDING, 1828) DA LAGUNA DO ROTEIRO (AL), ENTRE MAIO E NOVEMBRO DE 2005

Item alimentar								Conclusão
	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	
<i>Staurastrum leptocradum</i>	—	5,3	—	—	—	—	—	
PROTOZOA								
<i>Globigerina Bulloides</i>	0,5	—	1,9	1,7	1,7	1,3	—	
<i>Favella ehrenbergi</i>	—	—	—	—	1,3	—	—	
<i>Tintinnidium incertum</i>	11,7	9,9	3,6	—	—	—	—	
<i>Tintinnopsis gracilis</i>	0,8	—	—	—	—	—	—	
<i>Tintinnopsis lobiancoi</i>	6,7	7,1	2,7	1,7	0,8	2,3	1,2	
<i>Tintinnopsis</i> sp.	8,9	—	—	5,2	7,6	2,8	0,3	
ROTIFERA								
<i>Kellicottia longispina</i>	0,5	—	—	—	0,4	0,5	—	
<i>Polyarthra vulgaris</i>	—	—	—	—	0,4	1,1	0,4	
<i>Notholca</i> sp.	1,6	3,6	—	—	2,3	1,9	0,2	
ANNELIDA								
Larva de Polychaeta	—	—	—	—	0,2	1,1	0,4	
ARTHROPODA								
Naupliu de Copepoda	—	—	1,2	1,6	1,3	3,9	1,4	
Ostracoda	—	—	—	—	—	—	0,2	
MOLLUSCA								
Larva de Bivalvia	—	—	—	—	—	2,5	0,8	
Larva de Gastropoda	—	—	—	—	—	2,0	0,4	
OUTROS ORGANISMOS								
Fragmentos de Fitoplâncton	3,7	8,1	1,2	5,8	4,0	3,9	2,1	
Fragmentos de Zooplâncton	2,0	0,9	3,6	1,0	0,6	1,3	0,6	
Fragmentos de Fanerógamos	6,7	4,9	3,3	4,5	4,2	1,5	1,8	
SEDIMENTOS								
Grão de areia	1,7	1,3	—	—	1,3	—	0,6	
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	
Nº de Item alimentar	32	21	32	33	47	44	60	



ARTIGO | ARTICLE

Implications of consumption and ecological knowledge on the management of marine turtles on the Northern coast of São Paulo, Brazil

Implicações do consumo e percepção ecológica para o manejo de tartarugas marinhas no litoral norte de São Paulo

Ludmila de Melo Alves Damasio¹

Adriana Rosa Carvalho²

ABSTRACT

Traditional fishing communities usually have an ecological understanding of the resources they exploit, even if they are not the main target of fishing. Given that cultural and individual features of the sources of information could influence the consumption of the catch and the related understanding, it is expected that the older fishermen have a greater ecological understanding and a more ingrained eating behavior. The goal of this study was to gather information in five fishing communities in *Ubatuba* (SP) where marine turtles are commonly caught in gill nets, in order to answer the following questions: i) is there a difference in turtle eating among communities? ii) is turtle consumption influenced by socioeconomic characteristics; and iii) does the ecological perception depend on the socioeconomic characteristics of the interviewees / sources of information? It was found that turtle consumption was different and inversely related to reports of turtle entanglement presented to Tamar - the Marine Turtle Conservation Project (Pearson $r=-0.9$; $p<0.05$) and seems to be determined by the distance from the coast where entanglement occurs, by turtle mortality and the duration of entanglement (and not by socioeconomic features). Age, level of education and length of fishing experience influenced ecological knowledge of marine turtles. This result is contrary to the premise that older and more experienced fishermen should have greater ecological wisdom. This knowledge, greater for younger and more educated fishermen, was principally concerned with turtle feeding, since *Ubatuba* is mainly a feeding ground for marine turtles and is not an area of reproduction.

Key words: Marine turtles. By-catch. Ecological knowledge. Incidental catch.

¹ Bióloga. Natal, RN, Brazil.

² Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia. Campus Universitário, s/n., Lagoa Nova, 59098-970, Natal, RN, Brazil. Correspondence to/Correspondência para: A.R. CARVALHO. E-mail: <adriana.carvalho@pq.cnpq.br>.

RESUMO

Comunidades pesqueiras tradicionais, em geral, possuem conhecimento ecológico sobre os recursos explorados, ainda que eles não sejam alvo da pescaria. Uma vez que características pessoais e culturais podem determinar o consumo das capturas e o conhecimento a ela relacionado, espera-se que pescadores mais velhos possuam maior conhecimento e hábitos de consumo mais arraigados. Esse trabalho objetivou coletar informações em cinco comunidades de pescadores do litoral norte de São Paulo, onde existe o emalhe de tartarugas marinhas para testar se: i) há diferença no consumo de tartaruga marinha; ii) características socioeconômicas determinam este consumo; e iii) a percepção ecológica depende de características socioeconômicas dos entrevistados/informantes. O consumo de tartarugas marinhas é distinto e inversamente correlacionado ao relato do emalhe das tartarugas ao Tamar (Pearson $r=-0,9$; $p<0,05$) e parece ser influenciado pela distância da costa em que a captura deste animal ocorre (e não por fatores socioeconômicos). A idade, escolaridade e anos de pesca determinaram o conhecimento ecológico sobre as tartarugas marinhas, de forma que pescadores mais jovens e com mais anos de estudo conhecem mais sobre alimentação, visto que Ubatuba é área de forrageio desta espécie e não de ciclos reprodutivos. Esse resultado contrariou as premissas de que os pescadores mais velhos com mais anos de pesca teriam maior conhecimento ecológico. Embora haja o emalhe de tartarugas nas redes de pesca em todas as comunidades, no Itaguá e Cedro este emalhe caracteriza um by-catch, já que os animais capturados são soltos após registro pela equipe do Tamar.

Palavras-chave: *Tartarugas marinhas. By-catch. Conhecimento ecológico. Captura acidental.*

INTRODUCTION

Traditional communities usually display few influences from modern society or current technology and are likely to live in areas of high diversity and exploit natural resources for their livelihood (Primack & Rodrigues, 2001). The direct exploitation of the natural environment allows these populations to acquire knowledge about natural history, behavior, classification and the availability of natural resources in the regions where they live (Johannes, 2000).

Studies of traditional communities and the exploited natural resources draw attention to the ecological knowledge they have accumulated and it may be a guide to the use and preservation of resources (Gadgil *et al.*, 1993; Carvalho, 2002). Furthermore, it may support the implementation or assessment of pre-existing management strategies, as well as the identification of local practices where ethno-knowledge does not result in ethno-conservation (Diegues, 2005).

Fishery is an activity involving the exploitation of natural resources and provides the global market with 70% of catch, involving 38 million people (Food and Agriculture Organization, 2006). In Brazil, despite the diffuse number of fishermen, marine extractive fishery supplied half of the total catch in 2006 (*Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis*, 2008). This traditional artisan fishery develops ecological knowledge or sometimes local management practices (Poizat & Baran, 1997). Since some fishing equipment is not selective, sometimes the species catch does not depend on the target species. Accordingly, non-target catches increase pressure on fishing resources and cause undesirable impacts on marine species such as mammals, sharks, birds and turtles, even with traditional fishing activities.

Caiçara populations are an example of these traditional societies who live on the southeastern coast of Brazil, in the Atlantic Forest region, and who descend from indigenous people, European colonizers or African slaves. An important characteristic of the *Caiçara* culture is the use of natural resources, such

as flora extraction, art crafts and artisan fishing, which is currently a prominent economic activity (Diegues, 2004). However fishery is prone to the accidental catch of marine turtles and, given that high, seasonal concentration of turtles instill the false perception that there is an inexhaustible source of meat, eggs and carcass (Tamar, 2000; IAC Secretariat, 2006), some species may, potentially, be consumed, in spite of their endangered status.

Marine turtles are long life-cycle migratory species which take up to 30 years to reach sexual maturity and can be up to 2m in length. Out of 7 species of marine turtle worldwide, 5 can be found in Brazil: *Caretta caretta* (loggerhead turtle), *Chelonia mydas* (green sea turtle), *Eretmochelys imbricata* (hawksbill turtle), *Lepidochelys olivacea* (olive ridley turtle) and *Dermochelys coriacea* (leatherback turtle). Currently *E. imbricata* and *D. coriacea* are severely endangered. *C. caretta* and *C. mydas* have endangered status while *L. olivacea* is considered vulnerable (Lutz & Musick, 1997; Gallo et al., 2000; International Union for Conservation of Nature, 2010).

In this study, ethno-biological and socioeconomic information, from five fishing communities which accidentally catch marine turtles, was used with the aim of answering: i) are there any differences in the volume of marine turtle consumption between the communities? ii) do the socioeconomic characteristics of interviewees determine marine turtle consumption? and iii) does ecological perception depend on socioeconomic characteristics?

METHODS

Fishing communities studied

The sampled communities are situated in the town of *Ubatuba*, on the northern coast of the state of *São Paulo* (23°26'S and 45°05'W) where many of the beaches are occupied by traditional communities for whom artisan fishing has, historically, been the main source of income (Sales et al., 2003). Five artisan fishing communities were visited: *Cedro*, *Barra Seca*, *Camburi*, *Maranduba* and *Itaguá*.

The *Camburi* community (23°37'09"S and 44°72'19"W) is the farthest from downtown *Ubatuba* (46km) and it comprises 17 fishing families, living mainly near the beach, 2km from the BR 101 highway. It is accessible via a dirt road and the community has had a municipal bus service and electricity since 2007.

The community of *Maranduba* (23°54'98"S and 45°23'04"W) is located at the mouth of the *Maranduba* River, 25km from downtown *Ubatuba*. Most of the 20 fishing families live near to *Maranduba* beach which is a busy shoreline during the tourist season and is served by a small, local marina.

Barra Seca community (23°41'47"S and 45°03'45"W) comprises eight fishing families which live by the beach, which is located 5km from downtown.

The community of *Cedro* (23°27'34"S and 45°21'80"W) is 6 km from downtown *Ubatuba* and is easily accessible. There are no houses near the beach in this community, just a kiosk and a fishing shelter. It is the smallest community amongst those surveyed, with only four fishing families.

Itaguá fishing community (23°44'78"S and 45°06'66"W) comprises 15 fishing families and is located in downtown *Ubatuba*, on *Itaguá* beach, therefore it is the most urbanized beach.

Tamar Project - Marine Turtle Project has been in the center of *Ubatuba* since 1991. This marine turtle conservation project has the assistance of some fishermen who report the entanglement of marine turtles in nets, thus facilitating the recording, tagging and monitoring by the Tamar Project (hereafter referred to as Tamar).

Data sampling and analysis

Information was collected by way of a questionnaire comprising 22 closed questions (personal and socioeconomic characteristics) and open questions (which gathered data on catches and ecological knowledge of marine turtles). The

interviews were conducted in November and December 2007 and in December 2008 using the Snowball Method (Vera *et al.*, 1997). Age was the criterion used; only fishermen older than 18 years of age were interviewed.

The communities were assessed for differences in income, age, marital status, number of people in the household, education, number of children and income obtained from fishing through an Analysis Of Variance (ANOVA) using the communities and their distance from the city as factors, assuming that some communities could, for example, have older fishermen or larger families, and that distance could influence access to the study and to the commercialization of fish.

To test the null hypothesis that the proportion of marine turtle consumption was the same across all communities, a chi-square test was performed for more than two proportions by analysis of contingency tables (Zar 1996).

With the aim of verifying if socioeconomic characteristics determine whether the fisherman uses (1) or does not use (0) the accidentally caught marine turtles, a logistic regression was estimated ($\alpha=0.005$). The dependent binary variable was turtle consumption or no turtle consumption, and socioeconomic information (such as income, age, education, number of children and number of people in the household) was used as independent variables.

Finally, in order to verify whether each fisherman's ecological knowledge was influenced by

his socioeconomic characteristics, a simple linear regression model was performed. The number of correct answers, in respect of the ecological knowledge of marine turtles, was used as a dependent variable (out of eight questions asked) and socioeconomic variables (such as income, age, education and number of years fishing) were used as independent variables.

RESULTS

Overview of socioeconomic characteristics

A total of 35 fishermen from five fishing communities in *Ubatuba* (*Camburi*, *Barra Seca*, *Cedro*, *Maranduba* and *Itaguá*; Table 1) were interviewed. The community with fewest fishermen, subsisting only on fishing was *Barra Seca* and the lowest average income obtained from fishing occurred in *Camburi*, where more fishermen depend on fishing as their only income (Table 1). There was a correlation between being exclusively dedicated to fishing activity and being natives of *Ubatuba* (Pearson $r=0.6$; $p<0.05$) and there was also a high negative correlation between the age of the fishermen and average years of education, indicating that the older the fisherman, the less school education he had (Pearson $r=-0.8$; $p=0.05$).

The analysis of variance showed that there was a difference among the communities. Age was

Table 1. Socioeconomic characteristics of fishermen interviewed in November-December/2007 and December/2008 in five fishing communities: *Camburi*, *Barra Seca*, *Cedro*, *Maranduba* and *Itaguá*.

Characteristics	<i>Camburi</i>	<i>Barra Seca</i>	<i>Cedro</i>	<i>Maranduba</i>	<i>Itaguá</i>
Number of interviewees	12	7	4	8	4
Number of fishermen/community	17	8	4	20	15
Age	45.0 (DP=20)	41.0 (DP=15)	51.0 (DP=7)	35.0 (DP=8)	40.0 (DP=7)
<i>Ubatuba</i> natives (%)	83	71	100	75	75
Number of schooling years	4.1 (DP=2.1)	4.1 (DP=2.5)	2.3 (DP=0.5)	4.0 (DP=1.9)	2.5 (DP=1.3)
Number children	2.5 (DP=2)	1.7 (DP=2)	2.0 (DP=2)	0.75 (DP=1)	1.0 (DP=1)
Number people/household	4.0 (DP=2.4)	3.3 (DP=1.3)	3.0 (DP=0.8)	2.0 (DP=0.9)	3.5 (DP=1.6)
Exclusive fishermen (%)	83	28	75	75	25
Alternative income	Nursery	Mariculture	Kiosk	Sailor	Bricklayer
Income (R\$; fishing)	214.0 (DP=156)	758.0 (DP=297)	570.0 (DP=380)	787.0 (DP=750)	525.0 (DP=106)

Values in parentheses refer to standard deviation.

significant in *Cedro* ($p=0.04$; $t=2.11746$) since *Cedro*'s fishermen were older, while fishing family size was significant in *Camburi* ($p=0.01$; $t=2.68409$; larger families) and *Maranduba* ($p=0.01$; $t=-2.65670$; smaller families). In *Maranduba*, the income obtained from fishing was also significant ($p=0.030$; $t=2.36063$) since it was higher than in the other communities.

Catching and consumption of marine turtles

There was consumption of marine turtles in some communities, in different proportions. This consumption, at the maximum, applies to a quarter of those interviewed, as in *Barra Seca* (29%; Table 2), however the estimated chi-square ($\chi^2=2.604353$) indicated that there was no difference in the proportion of turtle consumption between communities (estimated $\chi^2_{0.005,4}=9.488$; $0.999 < p < 0.90$).

Additionally, socioeconomic variables tested in the *Logit* model were not significant in the computation of turtle consumption, most probably because there are no significant differences between the communities and this makes it unfeasible to detect such trends. However, consumption of marine turtles entangled in gillnets and the reporting of this catch to Tamar were strongly and negatively correlated (Pearson $r=-0.9$; $p < 0.05$). Only in the communities of *Cedro* and *Itaguá* did all the fishermen report to Tamar the incidence of turtles entangled in gillnets, regardless of whether it was found dead or alive.

Most of the fishermen interviewed in the five communities (91%; $n=35$) stated that they find turtles

in gillnets and many of them (81.3%; $n=32$) have no strategy to reduce the occurrence of this kind of catch. Only 6 fishermen (18.7%; $n=32$) stated they were accustomed to fishing in the open sea as a means to avoid turtle entanglement.

Even though few fishermen stated that they eat the turtle when it appears dead in their nets (11%) and that no recent reporting of marine turtle consumption has been recorded in the communities of *Cedro* and *Itaguá*, most of the fishermen interviewed (86%; $n=35$) informed us they had already eaten turtle meat, including fishermen from these two communities.

Ecological perception regarding marine turtles

Only the variables of age ($b_{AGE}=-0.05$; $p=0.003$), literacy ($b_{LITERACY}=0.168$; $p=0.027$) and the number of years of fishing experience ($b_{FISH}=-0.044$; $p=0.008$) were a factor in the fishermen's ecological perception, although with a lower adjustment despite its significance ($R^2=0.2$; $p=0.001$).

Furthermore, almost all of the fishermen correctly answered the question concerning marine turtle diet and most of the fishermen were able to answer i) whether turtles reproduce on the northern coast of *São Paulo* or not; ii) the reason why turtles come to the region and iii) what is the marine turtle's main local predator. Correct answers to questions on growth, longevity and endangerment were fewer (Table 3).

Fishing activity

Most of the fishermen interviewed (71%; $n=35$) have been fishing for more than 15 years and almost half of them (48%) learned to fish from their fathers. The most common fishing tackle used was gillnets (74%), although the *cercos* (20%) and hand line (17%) were also used. Since the gillnet was the most used tackle and it does not require the assistance of others, 71% of the fishermen interviewed go

Table 2. Incidental catch and consumption of marine turtles in five fishing communities visited in *Ubatuba* (SP), Brazil.

Community	Report marine turtle entanglement (%)	Consume entangle marine turtles (%)
<i>Cedro</i>	100	0
<i>Itaguá</i>	100	0
<i>Camburi</i>	83	8
<i>Maranduba</i>	50	12
<i>Barra Seca</i>	14	29

fishing alone. The *cercos* (Figure 1) was only used in *Camburi*, changing the community's fishing routine when this tackle is under water, since its use requires a different dynamic. It requires four or five fishermen working together when using the *cercos*, and in general, one of them is the owner and responsible for purchasing the material. In this case, he also gets

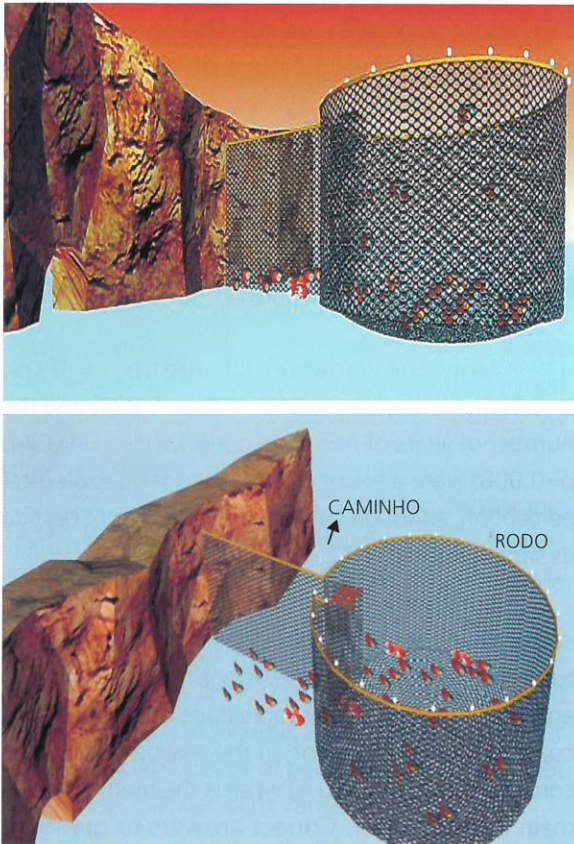


Figure 1. Scheme of *cercos*, the fishing gear used only by fishers from *Camburi*, in *Ubatuba* (SP) Brazil.

a larger share of the total catch. The *cercos* site is permanent, meaning that the *cercos* owner also has ownership of the territory where it is set up. The period in which the tackle remains in the water depends on sea conditions, fishermen availability and interest. The area through which fish enter the *cercos* is called the *caminho* and the place where the fish are retained is called the *rodo*. One of the edges of the *caminho* is affixed to the coast and the other part to the *rodo*. In order to keep the *caminho* in the vertical position, stones are placed at the bottom of the sea and floating material is used along the upper part to mark its location. The *rodo* is delimited by a round cord that holds the net using buoys and it is affixed with anchors arranged around its entire circumference.

Two canoes are used when fishing with the *cercos*. One closes the *rodo* and other gathers the net until it concentrates all the fish in a single place called the *sacador*, from where the fish are thrown into the canoe which is blocking the mouth of the *cercos* (Tamar, 2000).

DISCUSSION

In the *Ubatuba* region, artisan fishing is no longer the only activity carried out by *Caiçaras* (Pupo *et al.*, 2006; Ramires *et al.*, 2007). However, in *Camburi*, almost all fishermen still rely exclusively on fishing. This is probably because *Camburi* is a *quilombola* community that keeps a traditional livelihood, with a culture of harvesting and subsistence

Table 3. Percentage of correct answers regarding marine turtle ecological knowledge from fishermen in five fishing communities in *Ubatuba* on the Northern coast of *São Paulo*, Brazil.

Questions	Correct (%)	Expected answer	Source
What does marine turtles eat?	94	Algae and invertebrates	
Does the marine turtle spawn here?	71	No	
Which animal is the marine turtle's predator?	57	Shark	
Why do marine turtles come to Ubatuba?	51	Feeding/migration	
What is the importance of marine turtles?	20	Ecosystem integrity	
How long does a marine turtle lives?	14	More than 100 yrs	
Are the marine turtles endangered?	11	Yes	IUCN (2008)
How long do marine turtles take to grow?	8	25 yrs	

(Schmitt *et al.*, 2002). The *Camburi* community also differs from the others in relation to the fishing tackle used, since it was the only community using the *cercos*, which is a variant on a fish cage. Fish cages are used for targeting tuna in the Mediterranean Sea, where tuna are caught and kept inside cages, constituting large fish farms in their natural environment for a longer period until reaching the desired tuna weight (Miyake *et al.*, 2003). The *cercos* on the other hand operates only on a temporary basis and despite the fact that the catch also takes place in natural environments, it is non-selective and the harvest occurs as soon as the *rodo* is full.

Age was one of the socioeconomic characteristics that distinguished the communities since fishermen were older in *Cedro*. The higher fishing income recorded in *Maranduba* was probably due to the marina and the large influx of tourists. This permits the trading of fish at a lower cost since it is not necessary to travel to the main quay or use any intermediaries.

Education was the lowest among older fishermen and this was reflected in their ecological perception regarding marine turtles, because the younger fishermen, who were more educated, obtained better scores in questions concerning ecological knowledge of marine turtles. This result was contrary to the assumption (Gadgil *et al.*, 1993; Johannes, 2000) that older fishermen, with more years of fishing and consequently greater empirical perception of their environment and the species exploited, would have greater ecological knowledge in this regard.

It is possible that the focus on conservation programs and environmental education given in schools has had an influence on this result. Furthermore, the small sample size ($n=35$) and the few interviewees older than 50 ($n=9$) could have played an important role in this result. On the other hand, traditional knowledge may not have been a determining factor due to the reduced geographic scale of traditional knowledge (Vargas & Almeida, 2006), which makes the comprehension of the dynamic for species with a long life span and

migratory habits more difficult (Lutz & Musick, 1997). Consequently, knowledge of marine turtles was higher mainly with regard to turtle feeding, since *Ubatuba* is a feeding ground for marine turtles.

Entanglement of marine turtles in fishing gillnets was common to all communities. However the proportion of reporting of this catch by fishermen in the communities was different. The collaboration of the fishermen by notifying the marine turtle catch to Tamar is an important action in the conservation of the species in *Ubatuba*, since in those communities where few fishermen reported the entanglement of marine turtles in gillnets, there was a higher consumption of turtles (*Maranduba*, *Barra Seca* and *Camburi*). According to the fishermen, one of the constraints for collaboration with Tamar was that it takes time to return to the beach, leave the turtle and wait for someone from the Tamar staff to record the catch. Fishermen seem to be more likely to report marine turtle entanglement when it happens near the beach. However, if the turtle has died recently it may sometimes be consumed. For that reason, turtle consumption is apparently more associated with the distance at which the catch is recorded and if the animal is dead and for how long. Since this information was not precisely collected in this study, it was not possible to test it. This implies that consumption of the resource (marine turtle) would not depend on socioeconomic characteristics.

Thus, it is very likely that the frequent reporting of turtles caught by fishermen in *Itaguá* and *Cedro* (communities nearest to the downtown area) could be prompted by proximity to the Tamar base, which reduces the amount of time needed for staff from the project to get out to the communities to record the occurrence of turtles, and also allows fishermen and the Tamar team to have more frequent contact.

If indeed this proximity is a facilitator for reporting accidental catches, this would indicate a chance for improvement in fishermen's participation in the *Barra Seca* community, where few fishermen report marine turtle entanglement in fishing gillnets. However, it must be considered that many fishermen in *Barra Seca* had mariculture as their main

occupation and it keeps any incidental catch, influencing the low percentage of fishermen who report entangled marine turtles.

Generally the term 'by-catch' is used in reference to incidental catch plus discard catch while 'incidental catch' does not include any discard catch (Alverson *et al.*, 1994). In the *Cedro* and *Itaguá* fishing communities, when marine turtles are found caught in fishing gillnets, the catch is reported, the animals are tagged and released (or discarded without a tag when dead), characterizing a by-catch of marine turtles in these two communities. In the other communities, when a turtle gets entangled in fishing nets, it may eventually be consumed, which indicates the occurrence of incidental catches of marine turtles in the *Maranduba*, *Barra Seca* and *Camburi* fishing communities.

Although neither by-catch nor incidental catch was desirable, incidental turtle catch (and consumption) has a cultural component and it can easily become a common and widespread behavior. It is likely that consumption could be reduced through a program to encourage fishermen to report marine turtle entanglement. Furthermore, consumption could be reduced if there was an incentive for fishermen's participation, particularly if members of the community were trained to tag and monitor the incidental catches, as has already been done by Tamar in marine turtle spawning sites (*Fundação Pró-Tamar*, 2000) and in the Olifants River in South Africa, where some members of the community monitor the incidental catch of linefish (Carvalho *et al.*, 2009).

In fact, an interest in a partnership between fishermen and Tamar has manifested itself in the *Cedro* fishing community. Since *Cedro* and *Barra Seca* are near the downtown area, these communities could be included in a pilot project to be disseminated to other communities. However, the trustfulness in the collaboration of fishermen relies on transmitting to them scientific knowledge regarding the turtles, which is lacking, and use their traditional knowledge as an input to the monitoring system (Silvano *et al.*, 2008). In this sense, improvements such as mapping the areas with the highest turtle entanglement rates

could be done (discounting the effect of net density per area at each location). Having fishermen as key partners in the conservation could also be useful in terms of additional marine resource conservation, as they usually have unrecorded knowledge of ecological processes and they are able to develop and efficiently use traditional practices to manage natural resources (Berkes *et al.*, 2001; Benatti *et al.*, 2003). In this sense, some fishermen from *Maranduba* (n=5) and *Barra Seca* (n=1) have been trying to avoid turtles entangling in gillnets by fishing in the open sea. This could be another reason why the reporting of incidental catches was low in these communities, since, as described above, fishermen choose not to report the catch of marine turtles if it takes place far from the beach, because they take too long to go back and wait for the Tamar team to arrive. Regardless, fishing in the open sea as a strategy to avoid catching turtles depends on having suitable fishing tackle for such an environment, on skills for fishing in the open sea and on targeting different fish species, thus limiting the use of this practice by all fishermen.

Therefore, it seems reasonable to consider fishermen's participation in marine turtle conservation projects (Pupo *et al.*, 2006) to enlighten other fishermen and community members on ecological, economic and social values involved in the preservation of this species. Furthermore, examples from literature have demonstrated that when users of natural resources understand the reasons behind conservation programs and the advantages in implementing them (for example, risk of extinction, loss of tourist attraction or key trophic group) and if they are involved in the process from its inception, there is an enhancement for collaboration and biological success (Fiorino, 1990; Ticheler *et al.*, 1998; Hauck & Sowman, 2003; Dalton, 2006; Carvalho *et al.*, 2009).

The difficulty in implementing community management in the scenario described herein lies in the fact that it is a conservation activity without a direct return being perceived by the users. Fishermen would not be acting to bring future financial benefits, as in the case of conservation of their target catch

species, but rather to increase the diversity of a species that apparently does not bring them any financial return. For that reason, scientific information and ecological training activities are essential to increase the chances of success with the conservation of this species, since the presence of turtles indicates a healthier ecosystem (Lutz & Musick, 1997; Gallo *et al.*, 2000) and attracts the greater interest of tourists. This could be a factor for increasing fish consumption and animal-watching tourism, which could be an advantageous activity, even carried out by the fishermen themselves and this does not exist in the region today.

CONCLUSION

The information gathered in the five fishing communities in *Ubatuba* (SP) indicated that in *Itaguá* and *Cedro*, turtle entanglement characterizes by-catch, since the animals caught were released after they were recorded by the Tamar team. Ecological knowledge of turtles differs between the communities and was more frequently related to items of turtle diet and feeding habitats, since *Ubatuba* is a foraging area for this species and not an area for reproductive cycles. This knowledge was greater among younger fishermen and those with more years of education.

Turtle consumption was inversely correlated to the reporting of turtle entanglement to Tamar. Reporting and consumption seem to be influenced by the distance from the coast where the animal was caught and if it was already dead and for how long (and not by socioeconomic characteristics).

Therefore, it would seem to be recommendable to implement community management programs for marine turtles in these communities involving community members and highlighting: a) The transmission of scientific knowledge about marine turtles so that fishermen understand the situation of these endangered species and enhance fishermen's collaboration with marine turtle conservation; b) An incentive program to record the catching and marking of marine turtles caught incidentally; c) Training and empowerment of some fishermen or members of the community to monitor and mark the turtles themselves.

These may be effective alternatives for increasing fishermen's participation in the conservation program and achieving the conservation objectives proposed for these species.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the fishing communities of *Itaguá*, *Cedro*, *Barra Seca*, *Camburi* and *Maranduba* as well as to colleagues from LAB- Lab. of Ecological Research and Public Science (UEG-UNUCET). The first-named author is also grateful to the *National* Council of Scientific and Technological Development for the grant (Pr. 300594).

REFERENCES

- Alverson, D.L.; Freeberg, M.H.; Pope, J.G. & Murawski, S.A. (1994). A global assessment of fisheries bycatch and discards. Rome: FAO Fisheries Technical Paper. Issue n.339. p.233.
- Begossi, A. (1992). The diffusion of "lambreta" in the artificial lure at Buzios Island (Brazil). *Mast*, 4(2):88-103.
- Begossi, A. (1993). Ecologia humana: um enfoque nas relações homem-ambiente. *Interciência*, 18(1):121-32.
- Benatti, J.H.; McGrath, D.G. & Oliveira, A.C.M. (2003). Políticas públicas e manejo comunitário de recursos naturais na Amazônia. *Ambiente & Sociedade*, 6(2):137-54.
- Berkes, F.; Mahon, R.; McConney, P.; Pollnac, R. & Pomeroy, R. (2001). Managing small-scale fisheries: alternative directions and methods. Canada: International Development Research Centre.
- Carvalho, A.R. (2004). Social and structural aspects of artisanal fishing in the upper Parana river foodplain (Brazil). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 30(1):35-42.
- Carvalho, A.R.; Williams, S.; January, M. & Sowman, M. (2009). Reliability of community-based data monitoring in the Olifants River estuary (South Africa). *Fisheries Research*, 96p.119-28.
- Dalton, T.M. (2006). Exploring participant's views of participatory and coastal marine resource management process. *Coastal Management*, 34:351-67.
- Diegues, A.C.S. (Org). (2004). *Enciclopédia caiçara*. São Paulo: Hucitec. v.1: O mundo caiçara: o olhar do pesquisador, p.9-13.
- Diegues, A.C. (2005). *El mito moderno de la naturaleza intocada*. São Paulo: USP.

- Fiedler, F.N. (2009). *As pescarias industriais de rede de emalhe de superfície e as tartarugas marinhas: caracterização das frotas de Itajaí, Navegantes, Porto Belo (Santa Catarina) e Ubatuba (São Paulo), suas áreas de atuação, sazonalidade e a interação com as tartarugas marinhas*. Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Universidade Federal do Paraná.
- Fiorino, D. (1999). Citizen participation and environmental risks: a survey of institutional mechanisms. *Science, Technology & Human Values*, 15(2):226-43.
- Food and Agriculture Organization. (2006). *Fishery and aquaculture statistics: 2006 trilingual (English, French and Spanish)*. Rome: FAO.
- Fundação Pro-Tamar. (2000). *Assim nasceu o Projeto Tamar*. Salvador: Fundação Pro-Tamar.
- Gadgil, M. & Berkes, F. & Folke, C. (1993). Indigenous knowledge for biodiversity conservation. *Ambio*, 22(2-3):151-8.
- Gallo, B.M.; Macedo, S.; Giffoni, B.B.; Becker, J.H. & Barata, P.C.R. (2000). *A base do Projeto Tamar Ibama em Ubatuba (Estado de São Paulo, Brasil): conservação das tartarugas marinhas em uma área de alimentação*. Semana Nacional de Oceanografia, 13, Itajaí, SC, 29 de outubro - 3 novembro.
- Hauck, M. & Sowman, M. (ed). (2003). *Waves of change: coastal fisheries co-management in South Africa*. Cape Town: University of Cape Town Press.
- IAC Secretariat. (2006). *Fisheries and marine turtles*. San José, Costa Rica.
- International Union for Conservation of Nature. (2008). IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.1. Available from: <www.iucnredlist.org>. (cited: 2010 21 Mar).
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis. (2008). *Estatística de pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades da federação*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Disponível em: <www.ibama.gov.br>. (acesso: fev. 2009).
- Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. (2007). *Primeiras análises: educação, juventude, raça e cor*. Brasília: IPEA. v.4. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/sites/000/2/comunicado_presidencia/Comunicado_%20da_%20presidencia12.pdf>. (acesso: 21 mar 2009).
- Johannes, R.E. (2000). Ignore fisher's knowledge and miss the boat. *Fish and Fisheries*, 1:257-71.
- Lutz, P.L. & Musick, J.A. (1997). *Biology of marine turtle*. Ed. CRC Press.
- Miyake, P.M.; De la Serna, J.M.; Di Natale, A.; Farrugia, A.; Katavic, I.; Miyabe, N. & Ticina, V. (2003). General review of bluefin tuna farming in the Mediterranean area. *Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 55(1):114-24.
- Poizat, G. & Baran, E. (1997). Fishermen's knowledge as background information in tropical fish ecology: a quantitative comparison with fish sample results. *Environmental Biology of Fishes*, 50:435-49.
- Primack, R.B. & Rodrigues, E. (2001). *Biologia da conservação*. Londrina: Editora Planta.
- Pupo, M.M.; Soto, J.M.R. & Hanazaki, N. (2006). Captura incidental de tartarugas marinhas na pesca artesanal da Ilha de Santa Catarina, SC. *Biotemas*, 19(4):63-72.
- Ramires, M.; Molina, S.M.G. & Hanazaki, N. (2007). Etnoecologia caiçara: o conhecimento dos pescadores artesanais sobre aspectos ecológicos da pesca. *Biotemas*, 20 (1):101-13.
- Sales, G.; Giffoni, B. B.; Maurutto, G. & Brunzin, M. (2003). Captura incidental de tartarugas marinhas pela frota de rede de emalhe de deriva sediada em Ubatuba, São Paulo, Brasil. *Anais da 2ª Jornada de Conservación y Uso sustentable de la Fauna Marina*, Montevideo, Uruguay. p.30.
- Schmitt, A.; Turati, M.C.M. & Carvalho, M.C.P. (2002). A atualização do conceito de quilombo: identidade e território nas definições teóricas. *Ambiente & Sociedade*, 10:1-8.
- Silvano, R.A.M.; Silva, A.L.; Ceroni, M. & Begossi, A. (2008). Contributions of ethnobiology to the conservation of tropical rivers and streams. *Aquatic Conserv. Mar Freshw Ecosyst*, 18:241-60.
- Tamar: Projeto Tartaruga Marinha. (2000). *Artes de pesca que capturam tartarugas marinhas em: São Paulo, Espírito Santo, Bahia, Sergipe, Ceará e Fernando de Noronha*. Brasília: IBAMA. Relatório Técnico - IBAMA.
- Tichele, H.J.; Kolding, J. & Chanda, B. (1998). Participation of local fishermen in scientific fisheries data collection: a case study from the Bangweulu swamps, Zambia. *Fisheries Management and Ecology*, 5:81-92.
- Vargas, M.C. & Almeida, M.F. (2006). Biodiversidade, conhecimento tradicional, e direitos de propriedade intelectual no Brasil: por uma abordagem transcultural compartilhada. *Teoria e Pesquisa*, 48:67-92.
- Vera, C.V.M.; Camargo, S.A.; Bubel, A.P.M. & Petrere Jr., M. (1997). Artisanal fisheries in an urban reservoir: billings case (metropolitan region of São Paulo). *Brazilian Journal of Ecology*, 1(1):143-7.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. 3rd ed. New York: Prentice Hall.

Received on: Jan 8, 2010

Final version resubmitted on: Mar 20, 2010

Approved on: Apr 16, 2010



ARTIGO | ARTICLE

The impact of flower head endophages on seed set of a native population of *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson (Asteraceae)

O impacto de endófagos de capítulos sobre a produção de sementes de uma população nativa de Chromolaena odorata (L.) King & Robinson (Asteraceae)

Mário Almeida-Neto^{1,2}
Umberto Kubota^{2,3}
Marina Reiter Braun^{2,3}
Thomas Michael Lewinsohn³

ABSTRACT

Chromolaena odorata (L.) King & Robinson, also known as siam weed, has negatively affected the ecology of several tropical and subtropical regions of the world and has caused them economic losses. The biocontrol of *C. odorata* is a challenge for many countries; however, several phytophagous insects are natural enemies of *C. odorata*. Here we present the main flower head feeding insects associated with a native population of *C. odorata*. The aims of this study were: (1) to evaluate both individual and aggregated impacts of endophagous insects on *C. odorata* seed production, and (2) to provide information on host specificity of each endophagous species at local and regional scales. The study was conducted in the cerrado area of the *Reserva Biológica de Mogi-Guaçu, São Paulo, Brazil*. We found 17 endophagous species from seven genera. We estimated that the endophages damaged at least 22% of all of the seeds *C. odorata* produced. Tephritid species were only found on the plant species from the tribe Eupatorieae, whereas lepidopteran and agromyzid species were found on the plant species from two or more Asteraceae tribes.

Key words: Biological control. Brazilian Cerrado. Compositae. Fruit-flies. Invasive plants. Siam weed. *Xanthaciura*

¹ Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Ecologia. Cidade Universitária, 70919-970, Brasília, DF, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: M. ALMEIDA-NETO. E-mail: <marioeco@gmail.com>.

² Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Curso de Pós-Graduação em Ecologia. Campinas, SP, Brasil.

³ Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento Biologia Animal, Laboratório de Interações Insetos-Plantas. Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

Chromolaena odorata (L.) King & Robinson tem causado impactos negativos, tanto ecológicos quanto econômicos, em regiões tropicais e subtropicais de diversas partes do mundo. Embora já se conheçam vários insetos fitófagos de *C. odorata*, o controle biológico dessa planta ainda é um desafio em muitos países. Neste artigo são apresentados os principais insetos associados a capítulos de uma população nativa de *C. odorata*. Os objetivos desse estudo foram: (1) investigar os impactos dos insetos endófagos sobre a produção de sementes de *C. odorata*, e (2) fornecer informações sobre a especificidade de hospedeiras dos insetos endófagos. O estudo foi realizado na área de cerrado da Reserva Biológica de Mogi-Guaçu, São Paulo, Brasil. Foram encontradas 17 espécies de insetos endófagos de sete gêneros. A perda estimada de sementes não dispersas por insetos endófagos foi de, pelo menos, 22% do total produzido. As moscas da família Tephritidae foram encontradas somente em plantas hospedeiras da tribo Eupatorieae, enquanto mariposas (Lepidoptera) e moscas da família Agromyzidae foram encontradas em plantas hospedeiras de duas ou mais tribos distintas.

Palavras-chave: Cerrado. Compositae. Controle biológico. Moscas-da-frutas. Planta invasora. Xanthaciura.

INTRODUCTION

Chromolaena odorata (L.) King & Robinson (= *Eupatorium odoratum* L.; Asteraceae) is listed in the World Conservation Union's 100 of the world's worst invasive species (Lowe et al., 2000). *C. odorata* is widely distributed across its native neotropical distribution range and has spread over several tropical and subtropical regions of the world (Kriticos et al., 2005; Raimundo et al., 2007). It is a perennial, polycarpic shrub that is highly variable in both size and architecture (Witkowski & Wilson, 2001). The main traits that contribute to its successful spread are its long distance dispersal through thousands of windborne cypselae, its resprouting ability, its allelopathic effects, shade tolerance, low seed dormancy and its apomictic reproduction (Coleman, 1989; Blackmore, 1998; Ambika, 2002; Almeida-Neto & Lewinsohn, 2004; Rambuda & Johnson, 2004).

Cruttwell's (1974) compilation of phytophagous fauna lists 240 species of insects and mites that are associated with *C. odorata*. Despite several insects being tested as candidates for biological control agents (Cock & Holloway, 1982; Zachariades et al., 2002; Kluge & Zachariades, 2006) a high demand exists to find the most effective biological control agent that would maintain the

populations of *C. odorata* at manageable levels and that would decrease its spread in Africa and Asia.

Gathering information on the effects that natural enemies have in a weed's native range is one of the first steps to successful biological control (Briese, 2004). However, to our knowledge, no studies have reported the impacts that flower head endophages have on *C. odorata*. We present the main flower head endophages associated with a native population of *C. odorata* and evaluate both individual and aggregate impacts on seed production. Additionally, we examine host specificity and discuss the potential use of some endophagous species as biological control agents.

MATERIAL AND METHODS

Study site

This study was conducted in the *Cerrado* sensu stricto area (a sparse arboreal savanna) located in the Reserva Biológica de Mogi-Guaçu, in the state of São Paulo (22°15'-16'S, 47°08'-12'W), Brazil, at an average elevation of 650m above sea level. The regional climate is characterized by wet summers and dry winters. Details pertaining to the region's

climate and soil types can be found in De Vuono et al. (1982). Asteraceae is the second largest plant family found in the Brazilian *Cerrado* (Sano et al., 2008) and at least 15 *Chromolaena* species have been recorded in this biome (Almeida et al., 2005; Sano et al., 2008). We have found five *Chromolaena* species, in addition to *C. odorata*, in the study area: *Chromolaena chaseae* (B.L. Robins) King & Robinson; *Chromolaena laevigata* (Lam.) King & Robinson; *Chromolaena pedunculosa* (Hook., Arn.) King & Robinson; *Chromolaena pungens* (Gardner) King & Robinson and *Chromolaena squalida* (DC.) King & Robinson. *C. odorata* has often been misidentified as *Chromolaena maximiliani* (Schrader ex A.P. De Candolle) King & Robinson, because they are morphologically very similar (Esteves, 2001). Thus, while many studies report *C. maximiliani* as a common species in the Brazilian *Cerrado*, we believe that *C. odorata* was often misidentified and is probably more common and widespread in the *cerrado* biome than previously reported.

Data collection

The study was conducted in two phases. The first phase was conducted during the *C. odorata* flowering period (March to June 2001; Almeida-Neto & Lewinsohn, 2004 for details on flowering phenology). We sampled 65 individual plants (from a total of 96) within an area of 60 x 50m to ascertain the impact that each endophagous species had on seed loss in the individual flower heads and seed loss at the population level. Every week we sampled 30 pre-dispersal flower heads per plant (or fewer if 30 were not available). In the laboratory, the flower heads were stored separately in cellulose capsules to facilitate the recording of the endophages and their impact on seed production. Since the majority of endophages had emerged before sampling, we often used the distinctive puparia and the kinds of damage we found on the flower heads to identify the insect species.

We dissected each flower head and counted the number of intact and predated achenes (hereafter

referred to as seeds) under a stereomicroscope. Two measures of seed damage were obtained for each endophagous species: the mean number of predated seeds per flower head and the aggregate percentage seed loss from the *C. odorata* population. Aggregate seed damage was calculated as the weighted mean of the proportion of predated seeds, using as the weight factor the total number of flower heads from all sampled plants per sample date.

We categorized the seeds into four classes to estimate the impact that the flower head endophages had on the total number of apparently viable seeds produced by each plant: (1) viable (i.e. apparently undamaged and developed); (2) predated (i.e. totally or partly damaged by endophagous insects); (3) empty (i.e. with a non-fertilized ovule); and (4) others (i.e. predated by exophages, damaged by fungi or undeveloped). We assumed that the percentage of predated seeds, excluding categories 3 and 4, was a reasonable estimate of the loss of the plant reproductive investment caused by herbivores.

The level of damage caused by some endophagous species could not be evaluated with confidence because these insects were either extremely scarce or their identification was problematic. We pooled seed predation caused by all lepidopteran species because they were relatively rare and their damage and/or puparia could not be associated with their adult forms. Cecidomyiid species, however, were relatively frequent but their identification was not possible because their larvae and adults are very uncommon in post-anthesis (pre-dispersal phase) flower heads. Thus, we grouped together any damage caused by the cecidomyiid species of the genera *Asphondylia* Loew and *Dasineura* Rondani.

The second phase of this study was conducted from August 2001 to August 2002. We recorded all Asteraceae individuals found within 20 randomly located transects (transects were 5m x 30m within an area of 6 ha; 200m x 300m). We sampled flower heads once every two weeks (n=26 sample days). The flower heads were collected randomly from plants we found in the 6 ha study area. We sampled

up to 80mL of flower heads from each Asteraceae individual and up to 30 individuals from each Asteraceae species. Endophages were reared in the laboratory and all samples were kept in plastic pots with wide lids that had ventilation openings covered by a fine mesh screen. Samples were inspected every three days over a period of two months.

We examined data collected from other *cerrado* areas (Diniz, 2003; Fonseca et al., 2005; Almeida et al., 2006; Almeida-Neto, 2006) to obtain the number of host plants for each endophagous insect recorded in *C. odorata* on a regional scale.

With the data that we collected from the two study phases, we examined if the impact that the endophagous species had on seed production at the plant population level was related to their level of specialization, measured by the number of local host-plants. We also evaluated the relationship between the mean number of damaged seeds per flower head and the estimated proportion of seed damage at the population level of each endophagous species. Correlations were analyzed using Spearman's rank coefficient.

RESULTS

We found 17 endophagous species associated with *C. odorata* flower heads (species are listed in Tables 1 and 2; an unidentified microlepidoptera is not listed). Forty-three percent of the flower heads we dissected

(n=5238) had one or more endophages. Two congeneric tephritid species, *Xanthaciura chrysur* Thomson and *Xanthaciura* sp. near *chrysur*, represented 71% of all of the endophagous individuals we found (Table 1), whereas two cecidomyiid species (*Asphondylia* sp. and *Dasineura* sp.) accounted for 27% of the total abundance.

Endophagous insects reduced by 38% the number of apparently viable seeds produced by the 65 sampled individuals of *C. odorata* (Table 1). The mean number of predated seeds per flower head ranged from less than 2 to 11 seeds at the end and at the beginning of the fruiting period, respectively (Figure 1).

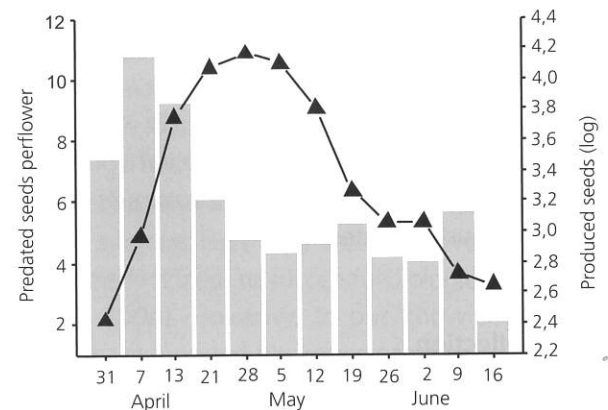


Figure 1. Mean number of predated seeds (achenes) per flower head (gray bars) and total number of produced seeds (black triangles) pooled for the 65 sampled plants from March 31 through June 16 (2001).

Table 1. Impact on seed production and the prevalence of the major flower head endophages found on a native population of *Chromolaena odorata* in Southeastern Brazil.

Species/group	Rearred individuals*	Damaged flower heads (%)	Individuals per flower head	Damaged seeds per flower head	Total seed damage (%)
<i>Xanthaciura chrysur</i>	1 859	27.50	1.4	6.5	18.30
<i>Xanthaciura</i> sp.	620	10.80	1.2	8.8	7.60
Cecidomyiids	934	8.00	2.8	1	1.40
<i>Xanthaciura mallochi</i>	6	0.11	1	10.2	< 0.10
<i>Cecidochares connexa</i>	7	0.13	1	12.6	< 0.10
<i>Cecidochares</i> sp.	12	0.23	1	18	< 0.10
<i>Melanagromyza bidentis</i>	24	0.46	1	7.6	< 0.10
<i>Melanagromyza neotropica</i>	20	0.38	1	11.3	< 0.10
Lepidopterans	7	0.13	1	17.3	< 0.10
<i>Apion</i> sp.	14	0.27	1	16	< 0.10
Indeterminate	-	-	-	-	10.40

* reared in 5239 flower heads of 61 plants throughout the flowering/fruiting period in 2001.

Some species recorded in the second phase of this study were not reared in the dissected flower heads. We used the number of flower heads per sample date as a weighting factor to estimate the proportion of predated seeds.

Almost 95% of the seed damage at the plant population level was caused by the two most abundant species: *X. chrysur* and *Xanthaciura* sp.. The number of damaged seeds per flower head varied from zero, for some cecidomyiid species, to all seeds for some lepidopteran species. The intensity of seed damage caused by the endophagous species at the flower head level was not significantly correlated with their aggregate damage at the population level ($rs=-0.310$, $p=0.417$).

The number of additional host-plant species used by the endophagous species associated with *C. odorata* ranged from 0 to 9 and from 2 to 46 on the local and regional scales, respectively. Tephritid species were only found in plant species from the tribe Eupatorieae, whereas both lepidopteran and agromyzid species were found in plant species from two or more tribes (Table 2). The local specialization level of the endophagous species, measured as the number of local host-plants, was not related to their aggregate impact on seed production from the *C. odorata* population ($rs=0.352$, $p=0.238$).

DISCUSSION

Assessing the impact caused by releasing an insect species into a weed's native range is a critical step in improving the success of biological control agents; however, it is often difficult to accomplish. We report the impact that flower- and seed-feeding endophagous insects have on a native population of *C. odorata*. At least six of the species we found had not been previously listed as flower head endophages of *C. odorata* (Agromyzidae: *Melanagromyza bidentis* Spencer, *Melanagromyza neotropica* Spencer; Pyralidae: *Unadilla erronella* (Zeller); Tephritidae: *Xanthaciura chrysur*, *Xanthaciura mallochi* Aczel; Tortricidae: *Saphenista squalida* Raz. & Becker). The undescribed *Xanthaciura* sp. was mixed with *X. chrysur* but their puparia morphologies were easily distinguishable. *Xanthaciura* sp. is an undescribed species (Allen Norrbom; USDA, USA).

Seed-predating insects have been widely utilized in weed biocontrol programs (Julien, 1992) and there is evidence that they may be effective in

Table 2. Local and regional host-plants of the flower head endophagous species recorded on *Chromolaena odorata* in the State of São Paulo, Brazil.

Family	Species	Species		Genus		Subtribe		Tribe	
		L	R	L	R	L	R	L	R
Agromyzidae									
	<i>Melanagromyza bidentis</i>	7	8	3	3	3	3	3	3
	<i>M. neotropica</i>	3	3	3	3	3	3	1	2
	<i>Melanagromyza</i> sp.	4	5	3	4	3	4	2	2
Tephritidae									
	<i>Cecidochares connexa</i>	3	7	1	1	1	1	1	1
	<i>Cecidochares fluminensis</i>	2	5	1	1	1	1	1	1
	<i>Cecidochares</i> sp.	1	9	1	1	1	1	1	1
	<i>Neomyopites paulensis</i>	4	9	2	2	1	2	1	1
	<i>Xanthaciura biocellata</i>	3	12	3	7	2	5	1	1
	<i>X. chrysur</i>	8	17	5	8	4	7	1	1
	<i>X. mallochi</i>	2	4	2	3	2	2	1	1
	<i>Xanthaciura</i> sp.	6	10	3	3	2	3	1	1
Pyralidae									
	<i>Unadilla erronella</i>	9	47	7	19	6	14	3	5
Tortricidae									
	<i>Saphenista squalida</i>	10	22	7	15	6	12	4	5

L: number of Asteraceae hosts at the *Reserva Biológica de Mogi-Guaçu*; R: pooled number of Asteraceae hosts for several *cerrado* remnants in the State of São Paulo.

limiting plant recruitment (Louda, 1982; Louda & Potvin, 1995). Among Asteraceae, pre-dispersal seed predation is common, but its impact varies greatly among different species (e.g. Louda, 1982; Fenner & Lee, 2001; Pickering, 2009). In this study, we found that flower- and seed-feeding endophages reduced the number of apparently viable seeds of a native population of *C. odorata* by 38%.

Flower- and seed-feeding endophagous insects may not be effective biological control agents for *C. odorata* due to the vast number of seeds produced by this weed (Zachariades et al., 1999). Zachariades et al. (1999) propose that leaf-, stem- and root-feeding insects are better candidates for the biological control of *C. odorata* because they would remove growth and flowering tissue, whereas flower- and seed-feeding endophages could not reduce the seed production significantly. This assumption is based on the idea that plant damage at the fruit, individual and population levels is strongly correlated. However, we found that the intensity of seed damage in a single flower head was not correlated with the aggregate damage found at the individual and population levels. This finding illustrates the importance of evaluating the effects that natural enemies have in a weed's native range.

The selection of weed biocontrol agents has two major focuses: (1) effectiveness (i.e. the demographic effect of the agent on the target weed in non-native regions) and (2) specificity (i.e. the host species number or phylogenetic distance of additional plants consumed by the agents; see Briese, 2004). One of the chief goals is to minimize the economic cost. While high effectiveness reduces the need for other biological control agents or methods, high specificity reduces the risk of undesirable effects on non-target plants. Thus, it is necessary to use all of the available information when selecting which species would be the most appropriate agent for the biological control of weeds.

We provide novel ecological information on the impact that flower head endophages have on *C. odorata*. The endophagous insect *X. chrysur* damaged at least 14% of all apparently viable seeds

and was responsible for 67% of all predated seeds; however, this tephritid species has never been cited as a phytophage of *C. odorata*. Although this impact may be small for biological control purposes, as far as we know it is the greatest seed loss measured at the plant population level during a complete flowering/fruitlet period for this weed. McFadyen (1988) only found 10% of damaged flower heads in the first five weeks of the flowering season at three sites on the island of Trinidad and concluded that the total effect of seed destruction was insignificant. We have not measured the impact of other insect guilds in the field but we did not find frequent external herbivory in our study area. Thus, the demographic impact that *X. chrysur* had on the sampled population of *C. odorata* is probably the greatest among the phytophages. *Xanthaciura chrysur* occurs from southern Mexico to northern Argentina (Foote et al., 1993) and specializes on Asteraceae from the tribe Eupatorieae (Prado et al., 2002). We sampled flower heads from nine Asteraceae tribes (Astereae, Eupatorieae, Gnaphalieae, Helenieae, Heliantheae, Mutisieae, Plucheeae, Senecioneae and Vernonieae) but *X. chrysur* was reared only on Eupatorieae. Without its natural parasitoids *X. chrysur* would have had a greater demographic impact on *C. odorata*. *Xanthaciura chrysur* is a potential candidate for future tests as a biological control agent for *C. odorata*. Both *X. chrysur* and the undescribed *Xanthaciura* sp. near *chrysur* could improve the biological control of *C. odorata* if used in combination with other agents, such as the tephritid *Cecidochar*es *connexa* Macquart and the arctiid *Pareuchaetes pseudoinsulata* Rego Barros (Siebert, 1989; McFadyen et al., 2003).

There is a growing consensus that the choice of biological control agents must be based on the ecological interactions between the target weed and their natural enemies (Briese, 2000) instead of on an agent's ability to damage an individual plant with little consideration for its effects on population levels (Briese, 2004). More than three decades after McFadyen's (Cruetwell 1974) annotated list of 240 species that attack *C. odorata* and several subsequent studies of related, potential biological control agents

(Cock & Holloway, 1982; Kluge & Zachariades, 2006), *C. odorata* still causes large economic and ecological losses in its non-native range (McWilliam, 2000; Leslie & Spotila, 2001). The control of *C. odorata* requires an integrated approach involving proven methods (Ambika & Jayachandra, 1989). We suggest that *X. chrysura* should be evaluated further as a potential biological control agent for *C. odorata*, mainly in regions where there are few or no native Eupatorieae species, such as Southeast Asia and most tropical Pacific islands.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Rafael L.G. Raimundo and André T.C. Dias for helping us with fieldwork and to Paulo I. Prado for providing and confirming the identification of endophages. We also thank the staff at the *Reserva Biológica de Mogi-Guaçu (Instituto Botânico)* for their kind services of accommodation. This study was supported by FAPESP grants #98/05085-2 to TML within the BIOTA-FAPESP Program, #04/15482-1 to TML, #06/5688-2 to MAN, and # 01/00852-0 to UK.

REFERENCES

- Almeida, A.M.; Fonseca, C.R.; Prado, P.I.; Almeida-Neto, M.; Diniz, S.; Kubota, U.; Braun, M.R.; Raimundo, R.L.G.; Anjos, L.A.; Mendonça, T.G.; Futada, S.M. & Lewinsohn, T.M. (2005). Diversidade e ocorrência de Asteraceae em cerrados de São Paulo. *Biota Neotropica*, 5(2):27-43.
- Almeida, A.M.; Fonseca, C.R.; Prado, P.I.; Almeida-Neto, M.; Diniz, S.; Kubota, U.; Braun, M.R.; Raimundo, R.L.G.; Anjos, L.A.; Mendonça, T.G.; Futada, S.M. & Lewinsohn, T.M. (2006). Assemblages of endophagous insects on Asteraceae in São Paulo cerrados. *Neotropical Entomology*, 35(4):458-568.
- Almeida-Neto, M. & Lewinsohn, T.M. (2004). Small-scale spatial autocorrelation and the interpretation of relationships between phenological parameters. *Journal of Vegetation Science*, 15(4):561-8.
- Almeida-Neto, M. (2006). *Efeito da degradação de habitat sobre a estrutura de interações entre plantas e insetos fitófagos*. Doutorado em Ecologia, Universidade Estadual de Campinas.
- Ambika, S.R. (2002). Allelopathic plants. 5. *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson. *Allelopathy Journal*, 9(1):35-41.
- Ambika, S.R. & Jayachandra. (1989). The problem of *Chromolaena* weed. *Chromolaena Odorata Newsletter*, 3:1-6.
- Blackmore, A.C. (1998). Seed dispersal of *Chromolaena odorata* reconsidered. In: *Proceedings 1996 of the Fourth International Workshop on Biological Control and Management of Chromolaena odorata*, Bangalore, India.
- Briese, D.T. (2000). Classical biological control. In: Sindel, B. *Australian weed management systems*. Melbourne, Australia: Richardson Publishing.
- Briese, D.T. (2004). Weed biological control: applying science to solve seemingly intractable problems. *Australian Journal of Entomology*, 43(3):304-17.
- Cock, M.J.W. & Holloway, J.D. (1982). The history of, and prospects for, the biological control of *Chromolaena odorata* (Compositae) by *Pareuchaetes pseudoinsulata* Rego Barros and allies (Lepidoptera: Arctiidae). *Bulletin of Entomological Research*, 72(2):193-205.
- Coleman, J.R. (1989). Embryology and cytogenetics of apomictic hexaploid *Eupatorium odoratum* L. (Compositae). *Revista Brasileira de Genética*, 12(4):803-17.
- Crutwell, R.E. (1974). Insects and mites attacking *Eupatorium odoratum* in the neotropics. *Technical Bulletin of the Commonwealth Institute of Biological Control*, 17:87-125.
- De Vuono, Y.S.; Barbosa, L.M. & Batista, E.A. (1982). A reserva biológica de Moji-Guaçu. *Silvicultura em São Paulo*, 16:48-58.
- Diniz, S. (2003). *Diversidade de Asteraceae e de insetos associados e padrões de uso de hospedeiro por Tephritidae (Diptera) em diferentes componentes da paisagem do Estado de São Paulo*. Doutorado em Ecologia, Universidade Estadual de Campinas.
- Esteves, R. (2001). *O gênero Eupatorium s.l. (Compositae-Eupatorieae) no Estado de São Paulo*. Doutorado em Biologia Vegetal, Universidade Estadual de Campinas.
- Fenner, M. & Lee, W.G. (2001). Lack of pre-dispersal seed predators in introduced Asteraceae in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 25(1):95-9.
- Fonseca, C.R.; Prado, P.I.K.; Almeida-Neto, M.; Kubota U. & Lewinsohn, T.M. (2005). Flower heads and their insects: food web structure along a fertility gradient of Cerrado. *Ecological Entomology*, 30(1):36-46.
- Foot, R.H.; Blanc, F.L. & Norrbom, A.L. (1993). *Handbook of the fruit flies (Diptera: Tephritidae) of America North of Mexico*. Ithaca: Cornell University Press.
- Julien, M.H. (1992). *Biological control of weeds: a world catalogue of agents and their target weeds*. 3rd ed. Wallingford: CAB International.
- Kluge, R.L. & Zachariades, C. (2006). Assessing the damage potential of the stem-boring weevil *Lixus*

- aemulus* for the biological control of *Chromolaena odorata*. *BioControl*, 51:547-52.
- Kriticos, D.J., Yonow, T. & Mcfadyen, R.E. (2005). The potential distribution of *Chromolaena odorata* (Siam weed) in relation to climate. *Weed Research*, 45:246-54.
- Leslie, A.J. & Spotila, J.R. (2001). Alien plant threatens Nile crocodile (*Crocodilus niloticus*) breeding in Lake St. Lucia, South Africa. *Biological Conservation*, 98(3):347-55.
- Louda, S.M. (1982). Limitation of the recruitment of the shrub *Haplopappus squarrosus* (Asteraceae) by flower-feeding and seed-feeding insects. *Journal of Ecology*, 70(1):43-53.
- Louda, S.M. & Potvin, M.A. (1995). Effect of inflorescence-feeding insects on the demography and lifetime fitness of a native plant. *Ecology*, 76(1):229-45.
- Lowe, S.; Browne, M.; Boudjelas, S. & De Poorter, M. (2000). *100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database*. Auckland, New Zealand: World Conservation Union.
- McFadyen, R.E.C. (1988). Ecology of *Chromolaena odorata* in the Neotropics. In: *Proceedings 1988 Fifth International Workshop on Biological Control and Management of Chromolaena odorata*, Bangkok, Thailand.
- McFadyen, R.E.C.; Chenon, R.D. & Sipayung, A. (2003). Biology and host specificity of the chromolaena stem gall fly, *Cecidochares connexa*, (Macquart) (Diptera: Tephritidae). *Australian Journal of Entomology*, 42(3):294-7.
- McWilliam, A. (2000). A Plague on your house? Some impacts of *Chromolaena odorata* on Timorese livelihoods. *Human Ecology*, 28(3):451-69.
- Pickering, C.M. (2009) Pre-dispersal seed predation by tephritidae is common among species of Australian alpine Asteraceae. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 41(3):339-46.
- Prado, P.I.; Lewinsohn, T.M.; Almeida, A.M.; Norrbom, A.L.; Buys, B.D.; Macedo, A.C. & Lopes, M.B. (2002). The fauna of Tephritidae Diptera from capitula of Asteraceae in Brazil. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 104(4):1007-28.
- Raimundo, R.L.G.; Fonseca, R.L.; Schachetti-Pereira, R.; Peterson, A.T. & Lewinsohn, T.M. (2007). Native and exotic distributions of Siamweed (*Chromolaena odorata*) modeled using the genetic algorithm for rule-set production. *Weed Science*, 55(1):41-8.
- Rambuda, T.D. & Johnson, S.D. (2004). Breeding systems of invasive alien plants in South Africa: does Baker's rule apply? *Diversity and Distributions*, 10(5-6):409-16.
- Sano, S.M.; Almeida, S.P. & Ribeiro, J.F. (2008). *Cerrado: ecologia e flora*. Brasília: Embrapa. v.2.
- Siebert, T. (1989). Biological control of the weed *Chromolaena odorata* (Asteraceae) by *Pareuchaetes pseudoinsulata* (Lep.: Arctiidae) on Guam and the Northern Mariana Islands. *Entomophaga*, 34(4):531-9.
- Witkowski, E.T.F. & Wilson, M. (2001). Changes in density, biomass, seed production and soil banks of the non-native invasive plant, *Chromolaena odorata*, along a 15 year chronosequence. *Plant Ecology*, 152(1):13-27.
- Zachariades, C.; Strathie-Korrubel & Kluge, R.L. (Ed.) (1999). *The South African programme on the biological control of C. odorata using insects*. South Africa: [s.n.]. v1: Entomological Society of Southern Africa.
- Zachariades, C.; Strathie, L.W. & Kluge, R.L. (2002). Biology, host specificity and effectiveness of insects for the biocontrol of *Chromolaena odorata* in South Africa. In: *Proceedings 2002 Fifth International Workshop on Biological Control and Management of Chromolaena odorata*, Durban, South Africa.

Received on: April 14, 2010

Final version resubmitted on: April 16, 2010

Approved on: April 27, 2010



ARTIGO | ARTICLE

Resistência de variedades de couve a *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae)

Resistance of cabbage to Brevicoryne brassicae (L.) (Hemiptera: Aphididae)

César Pagotto Stein¹

Édson Possidônio Teixeira¹

RESUMO

Esse estudo teve como objetivo avaliar a resistência de variedades de couve do banco de germoplasma do Instituto Agronômico de Campinas, em Campinas, ao pulgão *Brevicoryne brassicae* (L.). Foram avaliadas 13 variedades em condição de campo (telado) e casa-dé-vegetação, utilizando-se quatro repetições, cada uma constituída de uma gaiola com dez insetos confinados na superfície adaxial da folha. Foram determinados o período ninfal, a sobrevivência ninfal, o período reprodutivo, período pós-reprodutivo e a duração do ciclo total. Pode-se concluir que, dentre as variedades testadas, as menos favoráveis ao desenvolvimento da população do pulgão foram F-Manteiga I-916, A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 e H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446, enquanto que E-Gigante I-915 e P-Verde Escura foram as mais favoráveis em campo. Em casa-de-vegetação, as variedades menos favoráveis foram A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 e P-Verde Escura. As mais favoráveis foram E-Gigante I-915 e H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *acephala*. Insecta. Praga. Pulgão.

ABSTRACT

The purpose of this experiment was to evaluate the resistance of cabbage, from the germplasm bank at the Instituto Agronômico de Campinas, to the aphid Brevicoryne brassicae (L.). Thirteen varieties were tested under greenhouse and field conditions, using 4 replicates, each one consisting of a cage with 10 insects

¹ Instituto Agronômico de Campinas, CPD Fitossanidade. Caixa Postal 28, 13012-970, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/ Correspondence to: C.P. STEIN. E-mail: <cpstein@iac.sp.gov.br>.

at the adaxial surface of the leaf. The nymphal period, nymphal survival, reproductive period, post-reproductive period and the duration of the whole cycle were determined. It was concluded that, of the varieties tested, F-Manteiga I-916, A-Manteiga Ribeirão Pires I-2620 and H-Manteiga Ribeirão Pires I-2446 were the least favorable to the development of the aphid population and E-Gigante I-915 and P-Verde Escura were the most favorable in the field. In greenhouse conditions, E-Gigante I-915 and H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 were the most favorable, while A-Manteiga Ribeirão Pires I-2620 and P-Verde Escura were the least favorable.

Key words: Brassica oleracea var. acephala. Cabbage aphid. Insecta. Pest.

INTRODUÇÃO

A couve-de-folhas (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* - Brassicaceae), hortaliça arbustiva anual ou bienal, destaca-se entre as plantas hortícolas devido, provavelmente, às novas maneiras de utilização na culinária e seu grande valor nutricional como fonte de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, vitamina A, niacina e vitamina C (Lorenz & Maynard, 1988). Em decorrência disso, a área plantada com essa cultura vem se expandindo, chegando a atingir 1 749,20 ha, distribuídas em 1 362 Unidades de Produção Agropecuária no Estado de São Paulo (Cati, 2009).

A incidência de inúmeras pragas sobre essa cultura induz ao uso intensivo de inseticidas, fato este que preocupa cada vez mais o consumidor, uma vez que esse produto tem grande consumo na forma 'in natura'. Entre os insetos danosos destaca-se o pulgão *Brevicoryne brassicae* (L., 1758) (Salgado, 1983). O seu controle pode ser feito por métodos culturais, os quais são ineficazes quando a praga já está instalada (Lara, 1991) ou com aplicações de inseticidas organofosforados. Porém, o emprego desse tipo de controle onera os custos de produção, traz riscos para a saúde humana e meio ambiente e dificulta o manejo da colheita, exigindo uma adaptação entre o período de carência dos produtos e a frequência de colheita (Paula *et al.*, 1995; Pereira & Lomônaco, 2001). Face ao exposto, evidencia-se a necessidade de pesquisas de outras medidas de controle, o que levou diversos autores a se dedicarem a trabalhos de biologia, comportamento e obtenção de variedades resistentes.

Assim, Wearing (1972) estudando a biologia e o comportamento do afídeo *B. brassicae* em couve

de Bruxelas, observou que estes pulgões se utilizam mais das folhas novas do que das médias e velhas para desenvolverem suas colônias e que nessas folhas são obtidos os maiores valores de fecundidade e sobrevivência. Thompson (1963) constatou, através de seu trabalho de seleção, que essa mesma espécie de afídeo não colonizava variedades de *B. oleracea* L. var. *acephala* sem cera nas folhas, enquanto as que possuíam eram extremamente colonizadas. Posteriormente, Radcliffe & Chapman (1966) observaram que a coloração das variedades comerciais de couve afetava determinadamente a preferência do pulgão *B. brassicae* pelo hospedeiro, sendo a variedade de couve vermelha a que mais favoreceu o estabelecimento e a sobrevivência do pulgão.

Lara *et al.* (1978), em estudos sobre a preferência do pulgão *B. brassicae* por variedades de couve, verificaram que no campo as variedades 'Manteiga de Ribeirão Pires 2446', 'Manteiga de Ribeirão Pires 2620' e 'Manteiga 1811' foram as menos preferidas, enquanto em laboratório destacaram-se as variedades 'Roxa', 'Manteiga de Tupi' e 'Manteiga de Jundiá'. De modo geral, a 'Crespa 918' foi a mais susceptível em ambas as condições. Dando continuidade a este trabalho, Lara *et al.* (1979), ao estudarem as possíveis fontes de antibiose entre as variedades utilizadas no trabalho anterior, observaram que a idade das folhas apresentou nítida influência na manifestação da resistência, sendo as folhas novas as que mais favoreceram a reprodução do pulgão. Verificaram, ainda, certo grau de antibiose nas variedades 'Manteiga de Ribeirão Pires 2446', 'Manteiga de Jundiá', 'Roxa' e 'Manteiga de Mococa', ao passo que nas variedades 'Manteiga 1811', 'Crespa 918',

'Manteiga 916', 'Manteiga de Ribeirão Pires 2620 (obtida por semente) e 'Manteiga de Tupi', os pulgões se reproduziram bem.

Nessa mesma linha, este trabalho tem por objetivo detectar possíveis fontes de resistência ao pulgão *B. brassicae* entre as variedades de couve-de-folha que compõem a coleção do Instituto Agronômico (IAC).

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade - Entomologia, do Instituto Agronômico (IAC), Campinas (SP). Foram utilizadas 13 variedades de couve-de-folhas da coleção do IAC: A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620; C-Roxa I-919; D-Manteiga de São Roque I-1812; E-Gigante I-915; F-Manteiga I-916; H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446; I-Crespa de Capão Bonito; J-Manteiga de Tupi; M-Manteiga de Mococa; N-Manteiga São José; O-Roxa de Monte Alegre; P-Verde-escura e Japonesa.

As colônias de *B. brassicae* foram mantidas em couve B-Manteiga I-1811, cultivada em vaso em casa-de-vegetação e diretamente no solo, no campo sob telado. Para reduzir o parasitismo na "colônia estoque", uma vez por semana, as plantas eram vistoriadas e os pulgões parasitados eram eliminados.

Foram realizados dois experimentos. O experimento em condições de casa-de-vegetação foi conduzido em dezembro de 2000, com temperatura entre 17°C e 41°C (média 28,6°C), utilizando as variedades A, C, E, F, H, I, J, M, N, O e P, cultivadas em vasos com capacidade para 15 litros com mistura de solo e composto orgânico. Em condições de campo, o experimento foi conduzido no período de fevereiro a março de 2002, com temperatura entre 19°C e 35°C (média 26,4°C), com as variedades A, D, E, F, H, J, N, O, P e Japonesa, plantadas no solo, em onze linhas com quatro plantas cada, no espaçamento de 0,60 X 0,60 metros.

Os pulgões foram confinados em microgaiolas de plástico transparente, tampa rosqueável e volume

de 5,0mL, segundo método proposto por Stein (1998). As plantas foram infestadas quando apresentavam cerca de 70cm de altura e as gaiolas fixadas na face adaxial de folhas completamente desenvolvidas. Cada gaiola constituiu uma parcela experimental, recebendo dez fêmeas ápteras, adultas, por 24 horas, para obtenção de ninfas. Após este período foram deixadas somente dez ninfas por gaiola, retirando-se as fêmeas adultas e o excedente de ninfas recém-nascidas. Avaliou-se, diariamente, o número de pulgões sobreviventes e o número de ninfas produzidas, removendo-se os indivíduos mortos e as ninfas recém-nascidas.

A partir desses dados, foram calculados: a sobrevivência e o período ninfal (iniciando-se no dia da retirada das fêmeas adultas até o dia do nascimento da primeira ninfa da colônia); o número total de ninfas produzidas pela colônia; o número médio de ninfas produzidas por fêmea em cada colônia; o período reprodutivo (iniciando-se no dia de nascimento da primeira ninfa até o nascimento da última ninfa da colônia); o período pós-reprodutivo (iniciando-se no dia do nascimento da última ninfa até a morte da última fêmea adulta da colônia) e o ciclo total (iniciando-se no nascimento da primeira ninfa até a morte da última fêmea adulta).

Em ambas as condições foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com onze tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em casa-de-vegetação, as variedades A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 e P-Verde Escura apresentaram os menores números totais de ninfas (36,5; 25,7 e 17,0 respectivamente) (Tabela 1), diferindo das variedades E-Gigante I-915, H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 e F-Manteiga I-916 (131,7; 114,0 e 90,5, dias, respectivamente). As variedades E-Gigante I-915, H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 e F-Manteiga I-916 apresentaram os maiores

números médios de ninfas por fêmea (19,4; 12,4 e 11,6, respectivamente), diferindo da variedade P-Verde Escura (3,9) (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios e erro-padrão do número total de ninfas por colônia e número médio de ninfas por fêmea de *Brevicoryne brassicae* em diferentes variedades de couve, em condições de casa-de-vegetação.

Variedades	Número total de ninfas		Número médio de ninfas por fêmea	
	M	EP	M	EP
E	131,70	21,78 ^a	19,40	2,30 ^a
H	114,00	37,69 ^{ab}	12,40	^a 2,77 ^b
F	90,50	21,23 ^{abc}	11,60	2,67 ^b
I	78,20	6,98 ^{bcd}	9,40	^a 0,86 ^{bc}
O	71,00	15,92 ^{bcde}	9,70	0,92 ^{bc}
N	68,70	19,80 ^{bcde}	9,60	^a 1,21 ^{bc}
C	62,00	8,03 ^{cdef}	9,10	1,42 ^{bc}
M	49,00	13,74 ^{cdef}	7,90	^a 3,07 ^{bc}
J	44,00	7,73 ^{cdef}	6,80	^a 1,26 ^{bc}
A	36,50	18,92 ^{def}	5,60	^a 2,87 ^{bc}
P	25,70	7,15 ^{ef}	3,90	^{ab} 0,95 ^c
CV%	25,97		28,63	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$); EP: erro-padrão.

Os dados foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$

As variedades A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620; P-Verde-escura; O-Roxa de Monte Alegre e M-Manteiga de Mococa foram as que mais alongaram o período de desenvolvimento ninfal enquanto as demais tenderam a favorecer o desenvolvimento do juvenil, reduzindo seu período de desenvolvimento, notadamente para as variedades I-Crespa de Capão Bonito; J-Manteiga de Tupi e E-Gigante I-915.

As variedades H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 e I-Crespa de Capão Bonito apresentaram uma alta sobrevivência ninfal (98,6% e 83,2%, respectivamente), porém, essa variável, assim como a duração do período reprodutivo e a duração do ciclo, não apresentaram análise de variância significativa (Tabela 2).

Em campo, a variação do número total de ninfas produzidas por variedade foi de 24,2 (F-Manteiga I-916) a 109,2 (P-Verde-escura). Apesar dessa grande variação na produção de descendentes por colônia não foram observadas diferenças significativas entre as variedades, provavelmente pelo alto grau de variação apresentado nos resultados, representado pelo alto valor do coeficiente de variação (73,29 %).

Tabela 2. Valores médios e erro-padrão do período ninfal, sobrevivência ninfal, período reprodutivo e duração do ciclo total de *Brevicoryne brassicae* em diferentes variedades de couve em condições de casa-de-vegetação.

Variedades	Período Ninfal (dias)		Sobrev.Ninfal ^{NS} (%)		Período Reprodutivo ^{NS} (dias)		Duração do Ciclo ^{NS} (dias)	
	M	EP	M	EP	M	EP	M	EP
A	10,70	0,47 ^a	62,50	2,50	7,70	1,97	8,50	2,46
P	10,00	0,00 ^{ab}	65,10	5,00	7,70	1,03	8,20	0,62
O	09,20	0,75 ^{abc}	71,50	10,80	9,50	1,5	9,50	1,50
M	09,50	0,75 ^{abc}	70,00	13,14	7,50	1,75	7,70	1,88
N	008,50	0,86 ^{bcd}	74,10	13,76	8,00	2,04	8,50	2,02
F	007,70	0,75 ^{cd}	77,60	2,50	9,50	1,93	9,50	1,93
H	007,70	0,75 ^{cd}	98,60	5,00	11,50	1,84	12,20	2,05
C	007,70	0,75 ^{cd}	78,40	12,50	11,70	1,60	12,00	1,68
I	007,00	0,00 ^d	83,20	4,78	8,20	0,94	8,70	1,03
J	007,00	0,00 ^d	69,10	10,30	9,20	2,62	10,50	2,39
E	007,00	0,00 ^d	67,90	6,29	10,00	1,68	10,20	1,43
CV%	14,04		22,13		20,29		19,82	

Para análise os dados de porcentagem foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x} / 100$ e os de dias em $\sqrt{x} + 0,5$. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

NS: análise de variância; F: não significativo; EP: erro-padrão.

Nas variedades Japonesa (15,7), D-Manteiga de São Roque I-1812 (15,5), e E-Gigante I-915 (14,2) os pulgões se reproduziram mais, enquanto as que mais interferiram na reprodução do inseto foram as variedades F-Manteiga I-916 (4,5) e A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 (5,7). Apesar de Lara *et al.* (1979) terem observado certo grau de antibiose nesta última variedade, diferindo do observado neste trabalho, deve-se considerar que aqueles autores partiram de plantas obtidas diretamente de sementeira, passível de certo grau de segregação e/ou adaptação ao local de cultivo, enquanto as utilizadas para este artigo já vinham sendo cultivadas há tempos no mesmo ambiente pelo sistema de multiplicação vegetativa (Tabela 3).

A variedade H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 apresentou o maior período ninfal (10,5 dias) e diferiu de J-Manteiga de Tupi, Japonesa, P-Verde-escura, E-Gigante I-915, O-Roxa de Monte Alegre e D-Manteiga de São Roque I-1812 (8,0; 8,0; 7,7; 7,5; 7,5 e 7,0, respectivamente) (Tabela 4). A variedade H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 apresentou ainda uma baixa sobrevivência ninfal, embora esse parâmetro não tenha apresentado análise de variância significativa, o mesmo ocorrendo com a duração do

período reprodutivo, duração do período pós-reprodutivo e duração do ciclo. Acredita-se que o pequeno número de repetições possa ter contribuído para a não significância da análise de variância de algumas variáveis.

Tabela 3. Valores médios, erro-padrão do número total de ninfas por colônia e número médio de ninfas por fêmea de *Brevicoryne brassicae* em diferentes variedades de couve em condições de campo (telado).

Variedades	Número total de ninfas ^{NS}		Número médio de ninfas por fêmea ¹	
	M	EP	M	EP
P	109,00	31,34	12,80	3,02 ^{ab}
E	101,20	18,92	14,20	2,33 ^{ab}
D	99,20	45,20	15,50	2,49 ^{ab}
O	71,00	19,03	08,20	1,84 ^{ab}
Japonesa	63,00	22,47	15,70	4,18 ^{ab}
N	60,50	23,86	12,30	4,76 ^{ab}
C	46,20	15,72	10,20	0,89 ^{ab}
J	46,00	17,35	09,10	2,16 ^{ab}
B	38,00	12,93	31,50	1,71 ^{ab}
H	32,50	8,98	08,00	1,23 ^{ab}
A	31,50	16,28	05,70	2,04 ^b
F	24,20	1,65	04,50	0,77 ^b
CV%	40,50		23,81	

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

NS: análise de variância; F: não significativo; EP: erro-padrão.

Tabela 4. Valores médios, erro-padrão do período ninfal, sobrevivência ninfal, período reprodutivo, duração do período pós-reprodutivo, duração do ciclo total de *Brevicoryne brassicae* em diferentes variedades de couve em condições de campo (telado).

Variedade	Período ninfal ² (dias)		¹ Sobrev.ninfal ^{NS}		Período (dias)				Duração do ciclo (dias) ^{NS}	
	M	EP	M	EP	Reprodutivo ^{NS}		Pós reprodutivo ^{NS}		M	EP
					M	EP	M	EP		
B	10,50	0,64 ^a	39,50	10,80	9,50	1,25	1,70	0,85	21,70	2,05
H	10,50	0,64 ^a	39,50	10,80	7,50	1,32	1,20	0,75	19,20	1,10
C	10,00	0,70 ^{ab}	45,40	14,33	7,20	1,65	3,20	2,35	17,20	2,65
A	10,00	1,08 ^{ab}	39,50	10,80	5,20	1,65	2,00	1,08	18,70	2,01
F	08,70	0,25 ^{abc}	60,40	8,16	8,70	0,25	1,20	0,25	15,20	0,62
N	08,20	1,03 ^{abc}	56,80	16,83	6,20	2,05	1,20	0,75	18,00	2,95
J	08,00	0,40 ^{bc}	38,60	12,24	8,00	2,85	2,00	1,08	21,00	2,27
Japonesa	08,00	0,40 ^{bc}	35,70	11,78	11,20	1,43	1,70	0,85	21,70	2,16
P	07,70	0,47 ^{bc}	86,40	6,29	12,20	1,79	2,20	1,10	22,20	2,01
E	07,50	0,50 ^c	70,20	4,08	11,20	1,54	1,20	0,75	20,00	1,22
O	07,50	0,28 ^c	58,00	17,96	7,00	2,67	1,20	0,62	15,70	3,03
D	07,00	1,22 ^c	64,00	17,50	11,70	1,25	1,50	1,50	20,20	2,65
CV%	16,84		37,59		41,29		36,29		23,20	

¹Para análise os dados foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$.

² Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

NS: análise de variância; F: não significativo; EP: erro-padrão.

As variedades A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 e E-Gigante I-915 apresentaram o mesmo comportamento em relação ao número total de ninfas nas duas condições, campo e casa-de-vegetação. As variedades F-Manteiga I-916 e H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 foram desfavoráveis ao desenvolvimento do pulgão em campo e favoráveis em casa-de-vegetação, enquanto a variedade P-Verde-escura foi favorável em campo e desfavorável em casa-de-vegetação, provavelmente devido a reações das variedades às diferentes condições climáticas existentes nos dois ambientes.

A variedade A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 foi desfavorável ao desenvolvimento do pulgão nas duas condições, casa-de-vegetação e campo; esta variedade também foi uma das menos atacadas por *B. brassicae* em campo, segundo Lara et al. (1978).

Lara et al. (1979) em trabalho de campo, com doze variedades, verificaram, com relação à reprodução dos pulgões nas folhas novas, que a variedade Manteiga 916 foi a que mais favoreceu os mesmos, com uma média de 44,41 indivíduos/5 fêmeas, enquanto a Manteiga de Ribeirão Pires 2446 mostrou-se como a mais desfavorável (20,45 indiv./5 fêmeas). Em outro trabalho de campo, Lara et al. (1978) observaram que nas variedades Manteiga de Ribeirão Pires 2446, Manteiga Ribeirão Pires 2620 e Manteiga 1811 ocorreu uma menor incidência de *B. brassicae*, e as variedades Manteiga de Mococa, Manteiga Usina Ester e Crespa 918, foram as mais atacadas.

Paula et al. (1995) em trabalho de campo, com sete clones de couve, verificaram que nas variedades Manteiga, Joenes e Portuguesa, a duração do período ninfal também foi mais longa e a sobrevivência ninfal menor.

Pode-se concluir que as variedades A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 e P-Verde Escura foram menos favoráveis ao desenvolvimento do pulgão e as variedades E-Gigante I-915 e H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 foram as mais favoráveis, em condições de casa-de-vegetação. Em condições de campo, as variedades F-Manteiga I-916, A-Manteiga de Ribeirão Pires I-2620 e H-Manteiga de Ribeirão Pires I-2446 foram as menos favoráveis ao desenvolvimento do pulgão e E-Gigante I-915 e P-Verde Escura, as mais favoráveis.

REFERÊNCIAS

- Cati (2009). *Levantamento sensitório das unidades de produção agropecuárias do Estado de São Paulo - Lupa*. Dados consolidados do Estado 2007/2008. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa/dadosestado/DadosEstaduais.pdf>>. (acesso 29 jun. 2009).
- Lara, F.M.; Junior, J.M.; Coelho A. & Fornasier, J.B. (1978). Resistência de variedades de couve a *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758). I. Preferência em condições de campo e laboratório. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 7(2):175-82.
- Lara, F.M.; Coelho, A. & Junior, J.M. (1979). Resistência de variedade de couve a *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758), II Antibiose. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 8(2):217-23.
- Lara, F.M. (1991). *Princípios de resistência de plantas a insetos*. Piracicaba: Livroceres.
- Lorenz, O.A. & Maynard, D.N. (1988). *Handbook for vegetable growers*. New York: Wiley-Interscience Publication.
- Paula, S.V.; Picanço, M.C.; Koga, F.H. & Moraes, J.C. (1995). Resistência de sete clones de couve comum à *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera:Aphididae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 24(1):99-104.
- Pereira, C.D. & Lomônaco, C. (2001). Plasticidade fisiológica e comportamental de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera: Aphididae) em duas variedades de *Brassica oleracea* L. *Neotropical Entomology*, 30(1):29-35.
- Radcliff, E.B. & Chapman, R.K. (1966). Plant resistance to insect attack in commercial cabbage varieties. *Journal of Economic Entomology*, 59(1):116-20.
- Salgado, L.O. (1983). Pragas das brássicas, características e métodos de controle. *Informativo Agropecuário*, 9(98):43-7.
- Stein, C.P. (1998). *Resistência de cultivares de Solanum tuberosum e de Híbridos de S. tuberosum X S. berthaultii a Myzus persicae (S.), Liriomyza huidobrensis (B.) Phthorimaea operculella (Z.), e pragas de solo*. Doutorado em Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Thompson, K.F. (1963). Resistance to the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) in brassica plants. *Nature*, 198(4876):209.
- Wearing, C.H. (1972). Responses of *Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae* to leaf age and water stress in brussels sprouts grown in pots. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 15(1):61-80.

Recebido em: 23/7/2009

Versão final reapresentada em: 6/4/2010

Aprovado: 13/5/2010



ARTIGO | ARTICLE

Caracterização e atividade farmacológica do diclofenaco-zinco (II) e do complexo de inclusão diclofenaco-zinco (II)-hidroxipropil- β -ciclodextrina

Characterization and pharmacological activity of zinc(II)-diclofenac and zinc(II)-diclofenac-hydroxypropylbeta-cyclodextrin inclusion complex

Viviane Aparecida Guilherme¹

Sílvia Mansur Scagliusi²

Eneida de Paula¹

Maria Cristina de Almeida³

Daniele Ribeiro de Araujo⁴

RESUMO

Esse estudo teve por objetivo apresentar a síntese, a caracterização físico-química e a avaliação farmacológica do complexo metálico diclofenaco-zinco (II) e, deste, incluso em hidroxipropil- β -ciclodextrina, sendo ambos comparados ao diclofenaco potássico. O complexo metálico diclofenaco-zinco (II) foi sintetizado a partir da mistura direta de soluções aquosas de sulfato de zinco (II) e diclofenaco potássico (proporção 1:2), sendo, posteriormente, incluso em hidroxipropil- β -ciclodextrina (razão molar 1:1). Os ensaios de determinação da solubilidade, do ponto de fusão e a análise espectrofotométrica mostraram alterações características da complexação do fármaco com íons metálicos. A interação com ciclodextrinas foi caracterizada por mudanças na estrutura dos cristais dos fármacos e pelo aumento da solubilidade aquosa do diclofenaco-zinco(II), após inclusão na cavidade hidrofóbica da hidroxipropil- β -ciclodextrina (constante de associação $K_s=623,6M^{-1}$). Os ensaios para avaliação farmacológica mostraram que o tratamento com diclofenaco-zinco (II) ou diclofenaco-zinco (II)-hidroxipropil- β -ciclodextrina induziu uma diminuição significativa no número de contorções abdominais e de lesões gástricas, em relação ao diclofenaco potássico ($p<0,001$), potencializando a atividade anti-inflamatória e reduzindo os efeitos adversos.

Palavras-chave: Anti-inflamatórios não-esteroidais. Diclofenaco. Ciclodextrinas. Complexos metálicos. Complexo de inclusão

¹ Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Bioquímica. Campinas, SP, Brasil.

² Faculdade de Americana. Americana, SP, Brasil.

³ Escola de Engenharia de Piracicaba, Curso de Engenharia Ambiental. Piracicaba, SP, Brasil.

⁴ Universidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas. R. Santa Adélia, 166, Bloco B, Bangu, 09210-170, Santo André, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: D.R. ARAUJO. E-mail: <daniele.araujo@ufabc.edu.br>.

ABSTRACT

This study aimed to present the synthesis, the physical/chemical characterization and the pharmacological evaluation of the metal complex zinc(II)-diclofenac and its inclusion in hydroxypropyl- β -cyclodextrin, with both of these being compared to potassium-diclofenac. The metal complex zinc(II)-diclofenac was synthesized via the direct mixture of aqueous solutions of zinc(II)-sulfate and potassium-diclofenac (molar ratio 1:2) and was subsequently included in hydroxypropyl- β -cyclodextrin (molar ratio 1:1). The trials to determine solubility and melting point showed changes characteristic of the complexation of the drug with metallic ions. On the other hand, the interaction with cyclodextrins was determined by morphological changes in the drug crystals and the enhanced zinc(II)-diclofenac aqueous solubility, after inclusion in the hydroxypropyl- β -cyclodextrin hydrophobic cavity (association constant $K_s=623.6 M^{-1}$). Pharmacological evaluation showed that treatment with zinc(II)-diclofenac or zinc(II)-diclofenac-hydroxypropyl- β -cyclodextrin brought a significant reduction in the volume of abdominal writhing and ulcers, when compared to potassium-diclofenac ($p<0.001$), enhancing the anti-inflammatory activity and reducing the adverse effects.

Key words: Non-steroidal anti inflammatory. Diclofenac. Cyclodextrins. Metal complex. Inclusion complex.

INTRODUÇÃO

Os Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais (AINE) são conhecidos há mais de cem anos e amplamente utilizados em clínica médica. Esses fármacos agem inibindo a ciclooxigenase (COX), enzima responsável pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas (PG) (Kummer & Coelho, 2002). A COX apresenta três isoformas até o momento, identificadas como COX-1, COX-2 e COX-3 (recentemente descrita), sendo de significativa importância no processo inflamatório (Kis et al., 2005).

Grande parte dos AINE, conhecidos como clássicos, não apresentam seletividade e inibem tanto COX-1 quanto COX-2. Atualmente, é possível encontrar os chamados AINE de nova geração que agem inibindo seletivamente a atividade da COX-2, interrompendo a síntese de PG e desencadeando uma redução do processo inflamatório (Pinheiro & Calixto, 2002). No entanto, tal efeito farmacológico é frequentemente associado a efeitos adversos como danos renais e gastrintestinais (Smith et al., 1998). Assim, os efeitos indesejáveis causados pelos AINE, especialmente aqueles gastro-irritantes, têm sido um desafio para as pesquisas, tanto básica quanto clínica, na tentativa de reduzi-los sem alterar a

eficácia terapêutica (Navarro et al., 1994; Tagliati et al., 1999).

Em vista disso, complexos de metais de transição com AINE têm sido estudados desde os trabalhos iniciais de Sorenson (1976; 1982) demonstrando que esses fármacos complexados com cobre (II) e zinco (II) apresentavam uma atividade farmacológica superior àquela desempenhada pelos AINE não complexados, bem como uma diminuição nos efeitos gastro-irritantes (Sorenson, 1976; Sorenson, 1982; Jackson et al., 2000; Viossat et al., 2002; Nascimento et al., 2003; Lemoine et al., 2004). De acordo com os resultados apresentados, considerou-se então que a atividade farmacológica de determinados compostos pode ser modulada (inibida, modificada ou potencializada) a partir de interações com íons metálicos. Estudos divulgados por Santos et al. (2004), mostraram os efeitos anti-inflamatórios e as atividades ulcerogênicas do complexo metálico diclofenaco-zinco (DCF-Zn) em ratos, sendo preservados os efeitos anti-inflamatórios, observando-se, ainda, uma menor incidência de úlceras nos animais tratados (Abou-Mohamed et al., 1995; Santos et al., 2004). No entanto, os resultados também indicaram que a complexação com íons metálicos limita a solubilidade aquosa do

fármaco e, como alternativa para melhorar tal propriedade, propõe-se a inclusão do complexo DCF-Zn na cavidade hidrofóbica da hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD).

O novo complexo, [DCF-Zn(II)-HP-β-CD], proporciona vantagens quando comparado ao complexo metálico isolado, tais como: proteção contra oxidação, estabilização química, aumento de solubilidade aquosa e liberação modificada (De Araújo et al., 2008; Mehta et al., 2008; Miro et al., 2009; Wieclaw et al., 2009), alterando as propriedades biofarmacêuticas e farmacológicas.

Neste artigo, serão apresentados os processos de preparação, caracterização físico-química do complexo metálico DCF-Zn (II) e deste incluso em HP-β-CD, em relação ao diclofenaco potássico (DCF-K⁺), utilizado clinicamente. Tais características foram verificadas a partir de estudos de solubilidade, espectrofotométricos, determinação de pontos de fusão, bem como da avaliação farmacológica quanto às atividades anti-inflamatória e antiulcerogênica.

MATERIAL E MÉTODOS

A síntese do complexo metálico DCF-Zn (II) foi realizada a partir da mistura direta de soluções aquosas de sulfato de zinco (II) (Merck) e diclofenaco potássico (DCF-K⁺) (Pharma Nostra Ltda), na proporção molar de 1:2 (Andrade et al., 2000). Após agitação da mistura durante quatro horas, observou-se o aparecimento de um precipitado branco. A mistura foi mantida à temperatura de 4°C por 24 horas, posteriormente, filtrada a vácuo e o sólido seco à temperatura de 25°C, em dessecador.

O complexo obtido por precipitação foi caracterizado por espectrofotometria (Espectrofotômetro Beckman DU-70), pela determinação do ponto de fusão (Ponto de fusão, modelo PFM II, Tecnal) e por ensaios de solubilidade em diferentes solventes (na proporção de 1:10, DCF-Zn (II):solvente): óleo mineral, óleo de milho, etanol, metanol, cloreto de metila, tween 80 (12%), tampão fosfato 5mM com NaCl 154mM (pH 7,4), tampão Hepes 20mM com NaCl 154mM (pH 7,4) e solução de NaCl 154mM.

Numa etapa posterior, preparou-se o complexo de inclusão entre DCF-Zn (II) e HP-β-CD, agitando-se quantidades adequadas dos compostos em água deionizada (25°C, 12 horas), o suficiente para manter a razão equimolar entre DCF-Zn(II) e HP-β-CD. Após dissolução completa, a solução foi liofilizada (Labconco-freeze dry system/Freezone® 4.5) e armazenada a -20°C, até posterior utilização. As quantidades do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP-β-CD] foram determinadas de acordo com as concentrações de DCF-Zn (II) desejadas para os ensaios físico-químicos ou farmacológicos, as quais foram solubilizadas em solução de NaCl 154mM. As misturas físicas dos compostos foram obtidas por pesagem e mistura dos cristais de DCF-Zn (II) e HP-β-CD, seguindo a mesma proporção molar utilizada para a complexação (1:1).

Para caracterizar a interação entre DCF-Zn (II) e HP-β-CD foram realizados experimentos de solubilidades de fases onde quantidades em excesso de DCF-Zn (II) (5mM) foram adicionadas em sistemas contendo diferentes concentrações de HP-β-CD (0, 5, 10 e 20 mM), sendo a constante de associação (K_s) calculada a partir da solubilidade inicial do fármaco (S₀) e da inclinação da reta de acordo com o modelo de Higuchi & Connors (1965), conforme equação:

$$K_s = \frac{\text{inclinação}}{S_0 (1 - \text{inclinação})}$$

Posteriormente, as suspensões formadas foram submetidas à agitação (25°C por 12 horas), filtradas e analisadas por espectroscopia UV ($\lambda=284$ nm).

Além disso, foram realizadas análises pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) avaliando-se diretamente as variações estruturais e a distribuição dos cristais formados pelas amostras de DCF-Zn (II) e HP-β-CD puras, da mistura física (DCF-Zn (II)/HP-β-CD) e do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP-β-CD] (proporção molar 1:1). A preparação das amostras consistiu da metalização com ouro, sob vácuo, durante 180 segundos e observação em microscópio eletrônico de varredura (modelo JSM 5800LV, Jeol).

Para os experimentos de avaliação farmacológica foram utilizados camundongos albinos *Swiss* adultos, machos e com peso variando entre 30 e 35 gramas. Os animais, provenientes do CEMIB (Centro de Bioterismo da Unicamp), foram submetidos a ciclos claro/escuro de 12 horas, com água e alimentação *ad libitum*, temperatura ambiente monitorada a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, alojados coletivamente (cinco animais por gaiola) e aclimatados ao local de experimentação por pelo menos sete dias. Todos os experimentos encontravam-se de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (IB-Unicamp) (protocolo nº 894-1).

A atividade anti-inflamatória do DCF-Zn (II) e do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP- β -CD] foi verificada utilizando-se o modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético. Os animais foram previamente tratados por via subcutânea (0,1mL) de acordo com as doses terapêuticas dos fármacos livres (mantendo-se as devidas proporções para os fármacos complexados). Posteriormente, administrou-se por via intraperitoneal (0,1mL/10g) de uma solução de ácido acético 0,6%. O comportamento observado como contorção foi caracterizado por contrações da parede abdominal, seguidas de torção do tronco e extensão dos membros posteriores (*writhings*) dos animais, produzidas como respostas reflexas à irritação peritoneal e à peritonite induzida por ácidos fracos (como o ácido acético) (Collier et al., 1968; Mogil et al., 1999). O número de contorções abdominais foi determinado durante um período de vinte minutos (em intervalos de cinco minutos), sendo as médias \pm desvios-padrão relacionados graficamente em função dos grupos experimentais.

Completando os ensaios farmacológicos, a atividade antiulcerogênica dos compostos foi determinada pelo modelo de úlcera por estresse, imobilização e frio, de acordo com o método descrito por Levine (1971). Inicialmente, os animais foram

mantidos em jejum de 36 horas com água *ad libitum* e tratados por via subcutânea com os fármacos. Após um período de trinta minutos, foram imobilizados em contensores de acrílico e mantidos a uma temperatura de 4°C por três horas. Em seguida, os animais foram sacrificados, os estômagos removidos e abertos através de grande curvatura para a determinação do número de lesões gástricas.

Todos os experimentos para avaliação da atividade farmacológica foram realizados de acordo com os seguintes grupos:

- Grupo Controle I: hidroxipropil- α -ciclodextrina (HP- β -CD).
- Grupo Controle II: solução de NaCl 154mM (0,9%).
- Grupo Teste I: diclofenaco potássico (DCF-K⁺), dose de 2,22mg.kg⁻¹.
- Grupo Teste II: complexo metálico diclofenaco zinco [DCF-Zn(II)], dose de 2,28mg.kg⁻¹.
- Grupo Teste III: complexo de inclusão diclofenaco zinco em hidroxipropil-beta-ciclodextrina [DCF-Zn(II)-HP- β -CD], dose de 2,28mg.kg⁻¹.

Para a análise estatística, os grupos experimentais foram comparados pelo teste de análise de variância de uma via (*One-way ANOVA*) com teste posterior de Tukey-Kramer. A significância estatística foi definida como $p < 0,05$. Os softwares utilizados foram: *Graph Pad Instat* e *Graph Pad Prism* (*Graph Pad Software Inc.* versão 3.0, 1992 - 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a preparação do complexo DCF-Zn (II), foram realizados experimentos de solubilidade na presença de solventes com características de polaridades diferentes, para demonstrar o comportamento do fármaco recém-complexado em relação ao DCF-K⁺, comercialmente disponível. A partir dos resultados obtidos pode-se verificar que o complexo DCF-Zn (II) apresentou baixo grau de solubilidade em veículos aquosos, ao contrário do observado com o DCF-K⁺ (Tabela 1). Dessa forma, pode-se verificar que a

complexação do íon Zn (II) com o DCF tornou a molécula do fármaco mais hidrofóbica. Tal fato sugere que a alteração da solubilidade deste complexo foi determinada pela síntese de um novo fármaco uma vez que, quando a solução do metal é adicionada à solução do DCF-K⁺, há, provavelmente, a formação de uma ligação entre duas moléculas do fármaco original, tornando o complexo mais apolar em relação à molécula inicial.

Como segundo método para caracterização físico-química, foi determinado o ponto de fusão sendo de 282 a 295 °C para o DCF-K⁺ e de 250 a 253 °C para o DCF-Zn(II). A partir dos valores apresentados, foi possível observar a variação nos pontos de fusão do complexo em relação ao fármaco livre correspondente. Assim, assumindo que o fármaco original (DCF-K⁺) é uma substância pura, as variações nos pontos de fusão indicam a ocorrência de uma modificação estrutural, sendo tal mudança atribuída à complexação com íons metálicos.

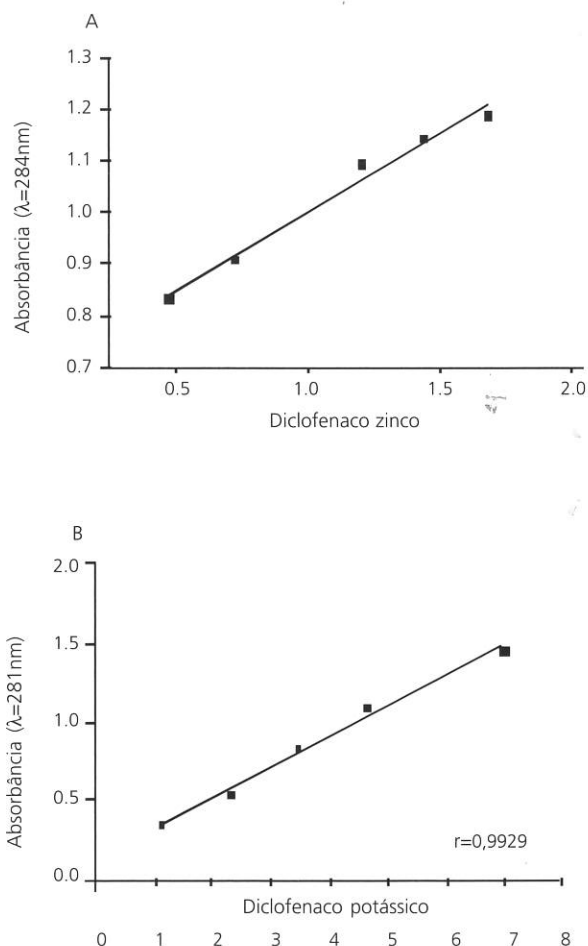
Os espectros de absorção provenientes dos estudos de caracterização espectrofotométrica mostraram um deslocamento para a esquerda da banda de maior absorvidade, λ_{284} , característica do DCF-K⁺, quando quelado a íons Zn (II). No caso de complexo DCF-Zn, o deslocamento foi verificado de 284nm para 281nm. Esse tipo de comportamento é comumente observado quando há formação de complexos com metais de transição (Andrade *et al.*, 2000).

A partir dos valores de concentração e absorvância, foi possível o cálculo das correspondentes absorvâncias molares (ϵ) para o DCF-K⁺ ($\epsilon = 1,13 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) e para o DCF-Zn (II) ($\epsilon = 2,10 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), cujos valores dos coeficientes angulares e de correlação foram obtidos a partir das curvas mostradas nas Figuras 1A e 1B. Analisando comparativamente os valores de ϵ para as duas espécies descritas observou-se que a absorvância para o complexo DCF-Zn (II) mantém uma proporção de cerca de 2:1 em relação ao DCF-K⁺. Assim, sugere-se a formação de um complexo binuclear de Zn (II) e a base livre do DCF, com duas moléculas de água de coordenação, cuja fórmula proposta é $[\text{Zn}(\text{DCF})_2]\text{OH}_2$, em uma estrutura quadrado plana, como impõe a

Tabela 1. Ensaio de solubilidade para o complexo metálico diclofenaco-zinco (II) [DCF-Zn (II)] e diclofenaco-potássico (DCF-K⁺) em solventes de diferentes polaridades.

Solventes	DCF- K ⁺	DCF- Zn (II)
Óleo mineral	N	N
Óleo de milho	+++	+++
Nujol	N	N
Etanol	+++	+++
Metanol	+++	+++
Cloreto de metila	N	+++
Tween 80 (12%)	+++	++
Tampão fosfato 5mM pH 7,4	+++	N
Hepes 20Mm pH 7,4	+++	N
NaCl 0,9%	+++	N

N: não solúvel; ++: pouco solúvel; +++: muito solúvel.



configuração dos orbitais 3d do Zn (II), conforme proposição de estrutura molecular mostrada na Figura 2.

Para estudar a interação e a formação do novo complexo DCF-Zn (II) com HP- β -CD, foram realizados estudos de solubilidade de fases, cujo diagrama é mostrado na Figura 3. O diagrama de solubilidade de fases do sistema mostra um aumento linear (cerca de duas vezes) na solubilidade do DCF-Zn (II), em função das concentrações de HP- β -CD testadas, sugerindo que o complexo formado é de primeira ordem (considerando-se uma estequiometria de complexação 1:1). O valor da constante de associação (Ks) determinada para o DCF-Zn (II) foi de $623,6M^{-1}$.

Sabe-se que a formação de complexos de inclusão com CDs pode exercer alguns efeitos sobre a molécula complexada como melhorar a solubilidade, acelerar ou retardar a absorção e estabilizar a molécula em solução. Existe uma correlação direta entre a estabilidade do complexo e o melhoramento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água (Frömring & Szejtli, 1994; Loftsson & Másson, 2001). Sendo assim, o aumento na solubilidade aquosa do complexo metálico DCF-Zn (II) é de grande utilidade para facilitar a administração desse fármaco, uma vez que a HP- β -CD é um derivado sintético da β -CD próprio para uso parenteral.

As análises por MEV facilitaram a observação dos cristais das amostras isoladas livres e complexadas. A Figura 4 mostra os cristais de HP- β -CD (4A), DCF-Zn(II) (4B), da mistura física (DCF-Zn (II)/HP- β -CD) (4C) e do complexo de inclusão [DCF-Zn (II)-HP- β -CD] (4D). Para a HP- β -CD, as micrografias revelaram uma estrutura arredondada (~60nm de

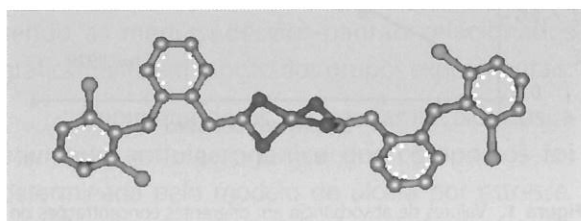


Figura 2. Estrutura conformacional proposta para o complexo metálico diclofenaco zinco (II) [DCF-Zn(II)].

diâmetro) e bem definida. Com relação ao DCF-Zn(II) foram observadas estruturas pequenas e cúbico - retangulares (~15 μ m de comprimento por 20 μ m de largura). Já a amostra da mistura física apresentou características tanto dos cristais de DCF-Zn(II) quanto de HP- β -CD, isoladamente, indicando a ausência de complexação. No entanto, a análise do complexo sólido mostrou alterações evidentes nas quais a morfologia original dos cristais de DCF-Zn(II) e de HP-CD foi perdida, observando-se aglomerados de menor tamanho (< 10 μ m) e estrutura pouco definida. Dessa forma, a comparação com as micrografias do complexo de inclusão não indicou qualquer similaridade com as estruturas correspondentes aos compostos isolados, indicando que a complexação altera a estrutura original dos cristais dos fármacos.

Os ensaios para avaliação da atividade anti-inflamatória mostraram que o número de contorções abdominais foi reduzido após o tratamento dos animais com o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP- β -CD], sendo estatisticamente significativa em relação aos grupos tratados com DCF-Zn(II) e DCF-K⁺ ($p < 0,001$) (Figura 5). Com relação à atividade antiulcerogênica, tanto o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP- β -CD] quanto o DCF-Zn(II) reduziram o número de úlceras, mostrando-se estatisticamente diferentes quando comparados ao DCF-K⁺ ($p < 0,001$) (Figura 6).

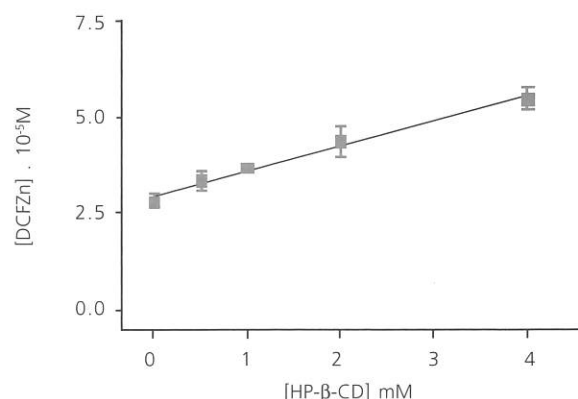


Figura 3. Ensaios de solubilidade de fases para o diclofenaco-zinco [DCF-Zn(II) a 1 mM] frente a diferentes concentrações de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD, 0,5 a 4 mM).

Nota: Dados apresentados como média, desvio-padrão (n=3).

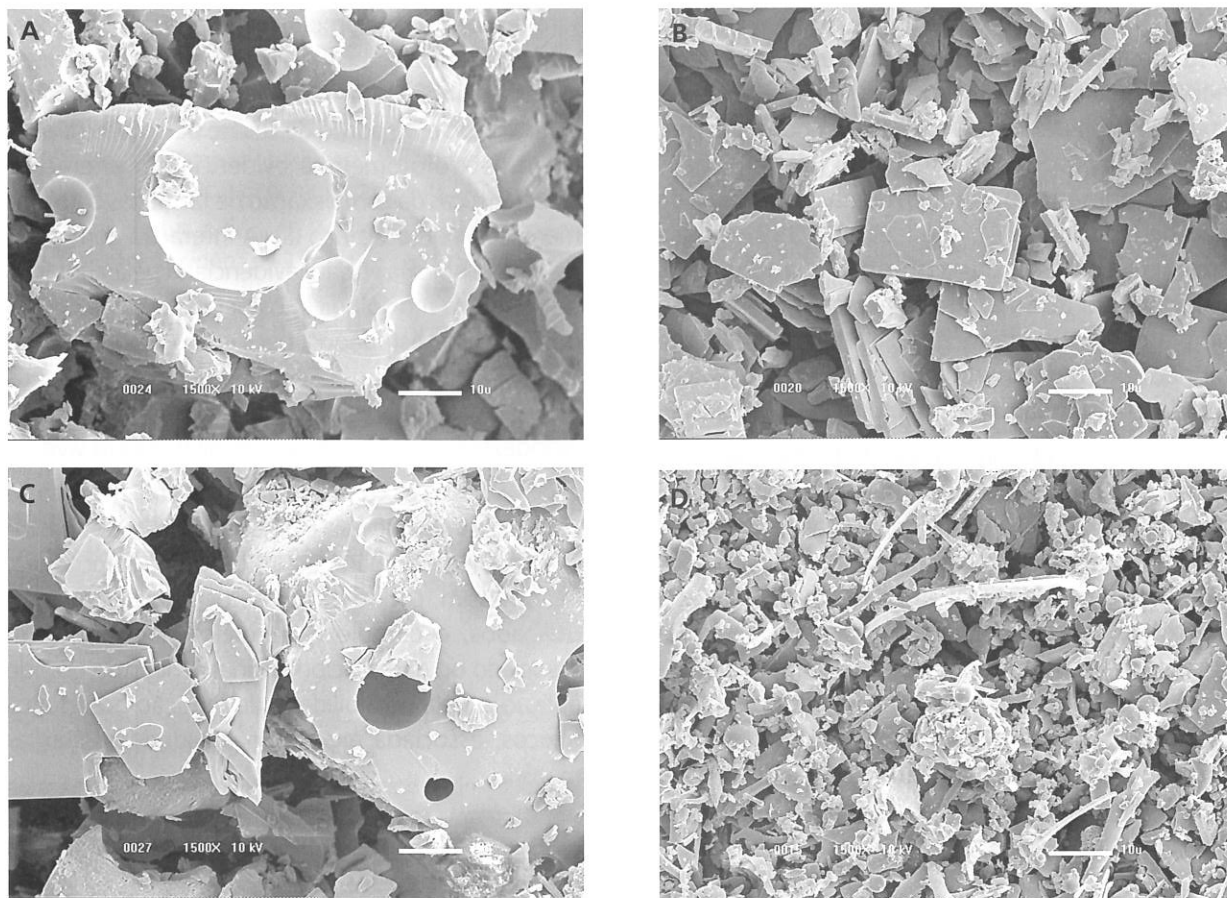


Figura 4. Análise por microscopia eletrônica de varredura dos cristais de hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD) (A), diclofenaco-zinco(II) [DCF-Zn(II)] (B), da mistura física (DCF-Zn(II)/HP-β-CD) (C) e do complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] (D). Aumento de 1500x.

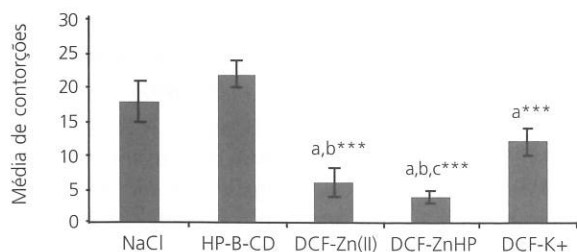


Figura 5. Número de contorções abdominais observadas após tratamento com solução de NaCl (0,9%), hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), diclofenaco potássico (DCF-K⁺), diclofenaco-zinco (II) [DCF-Zn(II)] ou com o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP-β-CD].

Nota: Dados apresentados como média, desvio-padrão (n=5-6 animais/grupo). **a-** DCF-K⁺, [DCF-Zn(II)] ou [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. HP-β-CD ou solução de NaCl 0,9 %; **b-** [DCF-Zn(II)] ou [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. DCF-K⁺; **c-** [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. DCF-K⁺, ou [DCF-Zn(II)]. *** $p < 0,001$.

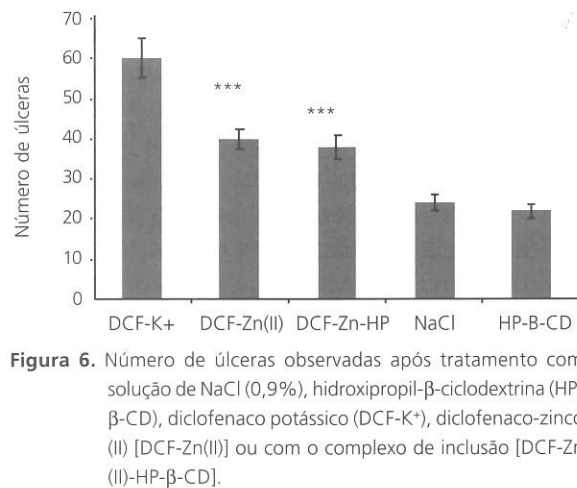


Figura 6. Número de úlceras observadas após tratamento com solução de NaCl (0,9%), hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), diclofenaco potássico (DCF-K⁺), diclofenaco-zinco (II) [DCF-Zn(II)] ou com o complexo de inclusão [DCF-Zn(II)-HP-β-CD].

Nota: *** $p < 0,001$ referem-se às diferenças estatísticas para [DCF-Zn(II)-HP-β-CD] vs. DCF-K⁺ ou [DCF-Zn(II)]. Dados apresentados como média, desvio-padrão (n=5-6 animais/grupo).

Nos ensaios de nocicepção química, como o teste das contorções abdominais, uma substância nociva é injetada no interior da cavidade peritoneal ativando diretamente os nociceptores (localizados nas vísceras) ou produzindo inflamação visceral (órgãos subdiafragmáticos) e subcutânea (músculos da parede abdominal) (Mogil et al., 1999). Nesse contexto, o teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético representa um modelo amplamente utilizado para avaliar a atividade farmacológica de novos compostos com potencial atividade anti-inflamatória.

Os resultados aqui apresentados mostram uma potencialização da atividade anti-inflamatória do DCF após a complexação com íons metálicos, como o Zn(II). Tais achados também foram descritos por Andrade et al. (2000) após complexação de ibuprofeno com outros metais como cobre ou rutênio. No entanto, a posterior inclusão do complexo DCF-Zn(II) em HP- β -CD permitiu um aumento na solubilidade do fármaco e, com isso, uma melhora nas propriedades biofarmacêuticas, facilitando a disponibilização da molécula para exercer sua atividade biológica.

Além da atividade anti-inflamatória, é importante ressaltar o potencial de indução de lesões gastrintestinais, um dos efeitos adversos mais importantes da classe das AINE. A toxicidade gástrica tem motivado o desenvolvimento de fármacos com menor capacidade de induzir lesões severas, como os inibidores altamente seletivos de COX-2 (celecoxib, rofecoxib e parecoxib). No entanto, por serem fármacos de alto custo, torna-se fundamental uma correta avaliação para o uso adequado dos mesmos (Kummer & Coelho, 2002). Dessa forma, os complexos de fármacos AINEs com íons metálicos, associados ou não a ciclodextrinas, encontram grande aplicação pela possibilidade de redução dos efeitos tóxicos, como observado nos testes de atividade antiulcerogênica, e potencialização da atividade anti-inflamatória.

CONCLUSÃO

O presente artigo mostrou a síntese, a caracterização físico-química e a avaliação

farmacológica do complexo metálico diclofenaco-zinco (II) e, deste, após inclusão em hidroxipropil- β -ciclodextrina. Os ensaios de determinação da solubilidade e do ponto de fusão, bem como a análise espectrofotométrica evidenciaram alterações características da complexação de fármacos com íons metálicos, como o zinco (II). A interação com ciclodextrinas, por sua vez, foi evidenciada pela alteração da estrutura morfológica, característica dos cristais dos fármacos estudados, bem como pelo aumento da solubilidade aquosa do diclofenaco-zinco(II) após inclusão na cavidade hidrofóbica da hidroxipropil- β -ciclodextrina, facilitando a administração *in vivo*.

Ambos os complexos reduziram o número de contorções abdominais e o número de lesões gástricas, quando comparados ao diclofenaco-potássio. Sendo assim, considerando-se os modelos animais utilizados, o complexo de diclofenaco-zinco (II) associado ou não a ciclodextrinas, encontra grande aplicação pela possibilidade de redução dos efeitos tóxicos, associada à potente atividade anti-inflamatória.

REFERÊNCIAS

- Abou-Mohamed, G.; El-Kashef, H.A.; Salem, H.A. & Elmazar, M.M. (1995). Zinc-naproxen complex: synthesis, physicochemical and biological evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 260(2):217-27.
- Andrade, A.; Namora, S.F.; Woisky, G.; Najjar, R.; Sertié, J. & Oliveira-Silva, D. (2000). Synthesis and characterization of a diruthenium-ibuprofenato-complex comparing its antiinflammatory activity with that of a Cooper (II)-ibuprofen complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 81:23-7.
- Collier, H.O.J.; Dinneen, L.C.; Johnson, C.A. & Schneider, C. (1968). The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal Pharmacology and Chemotherapy*, 32:295-310.
- De Araujo, D.R.; Tsuneda, S.S.; Cereda, C.M.; Carvalho, F.G.; Preté, P.S.C., Fernandes, S.A.; Yokaichiya, F.; Franco, M.K.; Mazzaro, I.; Fraceto, L.F.; Braga, A.F.A. & De Paula, E. (2008). Development and pharmacological evaluation of ropivacaine-2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complex. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33(1):60-71.
- Frömming, K.-H. & Szejtli, J. (1994). *Topics in inclusion science: cyclodextrins in pharmacy*. Hungria: Kluwer Academic Publishers.

- Higuchi, T. & Connors, K.A. (1965). Phase-solubility techniques. *Advances in Analytical Chemistry and Instruments*, 4:117-212.
- Jackson, G.E.; Mkhonta-Gama, L.; Voyé, A. & Kelly, M. (2000). Design of copper-based anti-inflammatory drugs. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 79(1-4):147-52.
- Kis, B.; Snipes, J.A. & Busija D.W. (2005). Acetaminophen and the cyclooxygenase-3 puzzle: sorting out facts, fictions, and uncertainty. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(1):1-7.
- Kummer, C.L. & Coelho, T.C.R.B. (2002). Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 52(4):498-512.
- Lemoine, P.; Viossat, B.; Dung, N.H.; Tomas, A.; Morgant, G.; Greenaway, F.T. & Sorenson, J.R. (2004). Synthesis, crystal structures and anti-convulsant activities of ternary $[Zn(II)(3,5\text{-diisopropylsalicylate})_2]$, $[Zn(II)(salicylate)_2]$ and $[Zn(II)(aspirinate)_2]$ complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 98(11):1734-49.
- Levine, R.J. (1971). A method for rapid production of stress ulcer in rats. In: Pfeifer, C.J. (ed.). *Peptic ulcers*. Copenhagen: Munksgaard. p.92-7.
- Loftsson, T. & Másson, M. (2001). Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *International Journal of Pharmaceutics*, 225(1-2):15-30.
- Mehta, S.K.; Bhasin, K.K. & Dham, S. (2008). Energetically favorable interactions between diclofenac sodium and cyclodextrin molecules in aqueous media. *Journal of Colloid and Interface Science*, 326(2):374-81.
- Miro, A.; Rondinone, A.; Nappi, A.; Ungaro, F.; Quaglia, F. & La Rotonda, M.I. (2009). Modulation of release rate and barrier transport of diclofenac incorporated in hydrophilic matrices: role of cyclodextrins and implications in oral drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72(1):76-82.
- Mogil, J.S.; Wilson, S. G.; Bom, K.; Lee, S.E.; Chung, K.; Raber, P.; Pieper, J.O.; Hain, H.S.; Belknap, J.K.; Hubert, L.; Elmer, G.I.; Chung, J.M. & Devor, M. (1999). Heritability of nociception I: responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception. *Pain*, 80(1):67-82.
- Nascimento, J.W.; Santos, L.H.; Nothenberg, M.S.; Coelho, M.M.; Oga, S. & Tagliati C.A. (2003). Anti-inflammatory activity and gastric lesions induced by zinc-tenoxicam. *Pharmacology*, 68(2):64-9.
- Navarro, C.; Bravo, M.L.; Carulla, C. & Bulbenna O. (1994). Gastrotoxic activity and inhibitory effects on gastric mucosal PGE2 production with different non-steroidal anti-inflammatory drugs: modifications induced by pretreatment with zinc aceexamate. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids*, 50(6):305-10.
- Pinheiro, R.M. & Calixto, J.B. (2002). Effect of the Selective COX-2 inhibitors, celecoxib and rofecoxib in rat acute models of inflammation. *Inflammation Research*, 51(12):603-10.
- Santos, L.H.; Feres, C.A.O.; Melo, F.H.; Coelho, M.M.; Nothenberg, M.S.; Oga, S. & Tagliati, C.A. (2004). Anti-inflammatory, antinociceptive and ulcerogenic activity of a zinc-diclofenac complex in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37(8):1205-13.
- Smith, C.J.; Zhang, Y.; Koboldt, C.M.; Muhammad, J.; Zweifel, B.S.; Shaffer, A.; Talley, J.J.; Masferree, A.L.; Seibert, K. & Isakson, P.C. (1998). Pharmacological Analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(22):13313-18.
- Sorenson, J.R. (1976). Copper chelates as possible active forms of the antiarthritic agents. *Journal of the Medicinal Chemistry*, 19(1):135-48.
- Sorenson, J.R. (1982). The anti-inflammatory activities of copper complexes. *Metal Ions in Biological Systems*, 12:77-124.
- Tagliati, C.A.; Kimura, E.; Nothenberg, M.S.; Santos, S.R. & Oga, S. (1999). Pharmacokinetic profile and adverse gastric effect of zinc-piroxicam in rats. *General Pharmacology*, 33(1):67-71.
- Viossat, B.; Morgant, G.; Sorenson, J.R.; Roch-Arveiller, M.; Daran, J.C.; Greenaway, F.T. & Nguyen, H.U.Y.D. (2002). Crystallochemistry of copper (II) and zinc (II) chelates by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 60(2):102-14.
- Wieclaw, K.; Korchowiec, B.; CORVIS, Y.; Korchowiec, J.; Guermouche, H. & Rogalska, E. (2009). Meloxicam and meloxicam-beta-cyclodextrin complex in model membranes: effects on the properties and enzymatic lipolysis of phospholipid monolayers in relation to anti-inflammatory activity. *Langmuir*, 25(3):1417-26.

Recebido em: 3/3/2010

Aprovado: 25/3/2010



ARTIGO | ARTICLE

ÍNDICE DE AUTORES

A		I	
Agostini, Kayna	13, 31	Imparato, Luana	5
Agostini, Kayna	31	K	
Almeida, Maria Cristina de	119	Kubota, Umberto	105
Almeida-Neto, Mário	105	L	
Alves, Gustavo Rodrigues	31	Lewinsohn, Thomas Michael	105
Araujo, Daniele Ribeiro de	119	Lima, Renata de	57
B		Lombardi, Júlio Antonio	21
Bentos, Cristina Amélia	73	López, Guillermo Roberto	73
Biasi, Juliana Beltramin De	5	Lorenzi, Harri	21
Braga, Rosana Talita	43, 49	Loyola, Rafael Dias	43, 49
Braun, Marina Reiter	105	P	
C		Palermo, Bruna Rafaella Zanardi	13
Carvalho, Adriana Rosa	95	Paula, Eneida de	119
Corrêa, Marinês Conceição Rieth	43	Pereira, Anderson do Espírito Santo	57
Costa, Manoel Messias da Silva	83	Peruchi, Aline	31
D		Potascheff, Carolina de Moraes	21
Damásio, Ludmila de Melo Alves	95	S	
Dué, Alinne	83	Santos, Nathalia Zocal Pereira dos	57
F		Scagliusi, Sílvia Mansur	119
Ferriz, Ricardo Alberto	73	Silva Filho, Euripedes Alves	83
Fernández, Eduardo Marcelo	73	Stein, César Pagotto	113
Fraceto, Leonardo Fernandes	57	T	
G		Teixeira, Édson Possidônio	113
Guedes, Élica Amara Cecília	83	Tomás, Acácio Ribeiro Gomes	5
Guilherme, Viviane Aparecida	119	V	
		Vynne, Carly	43, 49

ÍNDICE DE ASSUNTOS

A		J	
Aberrações cromossômicas	57	Jacarandá-mimoso	31
Aborto	13	L	
Alta cuenca de Samborombón	73	Lobo-guará	44, 50
Análise citogenética	57	M	
Angiosperma	21	Melitofilia	31
Anti-inflamatórios não-esteroidais	119	Mollusca	83
Arborização	21	Moscas-da-frutas	105
Aspectos poblacionales	73	N	
B		Nematóide	44
Brasil	44	O	
Brassica oleracea var. acephala	113	Ostra	83
By-Catch	95	P	
C		Parasitologia	44
Cerrado	44	Parasitoses intestinais	50
Ciclodextrinas	119	Peces	73
Complexo de inclusão	119	Pilhadores	31
Complexos metálicos	119	Plâncton	83
Compositae	105	Planta invasora	105
Conhecimento ecológico	95	Praga	113
Conservação	50	<i>Pseudocorynopoma doriai</i>	73
Conteúdo estomacal	83	Pulgão	113
Controle biológico	105	R	
Costa de São Paulo	5	Reprodução	13
D		S	
Diclofenaco	119	Stramonita haemastoma	5
E		T	
Erythrina speciosa	13	Tartarugas marinhas	95
Espécie exótica	31	Tributil-estanho	5
Espécies cultivadas	21	Trichuris vulpis	50
Estrutura populacional	5	V	
Exposição a praguicidas	57	Verme gigante renal	44
F		Visitantes florais	31
Florística	21	X	
Formação de frutos	13	Xanthaciura	105
Formação de sementes	13		
I			
Imposex	5		
Inibidores da colinesterase	57		
Insecta	113		

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Bioikos publica trabalhos científicos originais, artigos de revisão e comunicações científicas relacionados às diversas áreas da Biologia, em especial Ambiental, Biologia Molecular e Educação.

PROCEDIMENTOS EDITORIAIS

1. Avaliação de manuscritos

Os manuscritos submetidos à revista que atenderem à política editorial e às instruções aos autores são pré-selecionados pelos editores, que consideram o mérito científico da contribuição. Caso contrário, são devolvidos para adequação às normas, inclusão de carta ou de outros documentos eventualmente necessários.

Recomenda-se fortemente que o(s) autor(es) busque(m) assessoria linguística profissional (revisores e/ou tradutores certificados em língua portuguesa e inglesa) antes de submeter(em) originais que possam conter incorreções e/ou inadequações morfológicas, sintáticas, idiomáticas ou de estilo. Devem ainda evitar o uso da primeira pessoa (“meu estudo...”) ou da terceira pessoa do plural (“percebemos...”), pois em textos científicos o discurso deve ser impessoal e sem juízo de valor.

Originais identificados com incorreções e/ou inadequações morfológicas ou sintáticas são devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Aprovados nesta fase, os manuscritos são encaminhados aos revisores *ad hoc* selecionados pelos editores. Cada manuscrito é enviado para dois revisores de reconhecida competência na temática abordada. Em caso de desacordo, o original é enviado para uma terceira avaliação.

O processo de avaliação por pares é o sistema de *blind review*, em procedimento sigiloso quanto à identidade tanto dos autores quanto dos revisores. Por isso, os autores devem empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito.

No caso da identificação de conflito de interesse por parte dos revisores, o Comitê Editorial encaminha o manuscrito a outro revisor *ad hoc*.

Os pareceres dos consultores comportam três possibilidades: a) aceitação integral; b) aceitação com reformulações; c) recusa integral. Em qualquer desses casos, o autor é comunicado.

A decisão final sobre a publicação ou não do manuscrito é sempre dos editores, aos quais é reservado o direito de efetuar os ajustes que julgarem necessários. Na detecção de problemas de redação, o manuscrito é devolvido aos autores para as alterações devidas; o trabalho reformulado deve retornar no prazo máximo determinado.

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos podem retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações, no processo de editoração e normalização, de acordo com o estilo da revista.

Provas: são enviadas provas tipográficas aos autores para a correção de erros de impressão. As provas devem retornar ao Núcleo de Editoração na data estipulada. Outras mudanças no manuscrito original não são aceitas nesta fase.

2. Submissão de trabalhos

São aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho, declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas à Bioikos e de concordância com a cessão de direitos autorais.

Caso haja utilização de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes, deve-se anexar documento que ateste a permissão para seu uso. A carta deve indicar nome, endereço, números de telefone e *e-mail* do autor para o qual a correspondência deve ser enviada.

Autoria: O número de autores deve ser coerente com as dimensões do projeto. O crédito de autoria deve ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho ou análise e interpretação dos dados. Não se justifica a inclusão de nomes de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima; neste caso, devem figurar na seção de agradecimentos.

3. Estrutura do artigo

Enviar quatro cópias do manuscrito, que deve ser formatado com espaço 1,5 entrelinhas e fonte arial tamanho 11, para o Núcleo de Editoração da revista, acompanhadas de cópia em disquete ou CD-ROM. O arquivo deve ser gravado em editor de texto similar ou superior à versão 97-2003 do *Word (Windows)*. O(s) nome(s) autor(es) e do arquivo devem estar indicados no rótulo do disquete ou CD-ROM.

Das quatro cópias descritas no item anterior, três devem vir sem nenhuma identificação dos autores, para que a avaliação possa ser realizada com sigilo; porém, devem ser completas e idênticas ao manuscrito original, omitindo-se apenas esta informação. É fundamental que o escopo do artigo não contenha qualquer forma de identificação da autoria, o que inclui referência a trabalhos anteriores do(s) autor(es) ou da instituição de origem, por exemplo.

O texto deve ter de 15 a 20 laudas. As folhas devem ter numeração personalizada desde a folha de rosto (que deve apresentar o número 1). O papel deve ser de tamanho A4, com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).

Os artigos (originais, nota científica) devem ter, aproximadamente, trinta referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de cinquenta.

Todas as páginas devem ser numeradas a partir da página de identificação. Para esclarecimentos de eventuais dúvidas quanto à forma, sugere-se consulta a este fascículo.

Versão reformulada: a versão reformulada deve ser encaminhada em três cópias completas, em papel e em disquete ou CD-ROM etiquetado, indicando o número do protocolo, o número da versão, o nome dos autores e o nome do arquivo. O(s) autor(es) deve(m) enviar apenas a última versão do trabalho.

O texto do artigo deve empregar fonte colorida (cor azul) para todas as alterações, juntamente com uma carta ao editor, reiterando o interesse em publicar nesta revista e informando quais alterações foram processadas no manuscrito. Se houver discordância quanto às recomendações dos revisores, o(s) autor(es) deve(m) apresentar argumentos que justifiquem sua posição. O título e o código do manuscrito devem ser especificados.

A página de rosto deve conter:

a) Título completo - deve ser conciso, evitando excesso de palavras, como "avaliação do...", "considerações acerca de...", "estudo exploratório...".

b) *Short title* com até quarenta caracteres (incluindo espaços), em português (ou espanhol, caso seja o idioma do artigo) e inglês.

c) Nomes de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um. Será aceita uma única titulação e filiação por autor. O(s) autor(es) deve(m), portanto, escolher entre suas titulações e filiações institucionais aquela que julgar(em) a mais importante.

d) Todos os dados da titulação e da filiação devem ser apresentados por extenso, sem siglas.

e) Indicação dos endereços completos de as universidades às quais estão vinculados os autores.

f) Indicação de endereço para correspondência com o autor para a tramitação do original, incluindo fax, telefone e endereço eletrônico.

Observação: esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

Resumo: todos os artigos submetidos em português ou espanhol devem ter resumo no idioma original e em inglês, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras.

Os artigos submetidos em inglês devem vir acompanhados de resumo em português, além do *abstract* em inglês.

Os resumos devem destacar objetivos, métodos básicos adotados, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho e indicando formas de continuidade do estudo.

O resumo não deve conter citações, siglas e abreviaturas. Destacar no mínimo três e no máximo seis palavras-chave.

Texto: com exceção dos manuscritos apresentados como artigo de revisão, nota científica, os trabalhos devem seguir a estrutura formal para trabalhos científicos:

Introdução: deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema e que

destaque sua relevância. Não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como artigo de revisão.

Métodos: deve conter descrição clara e sucinta do método empregado, acompanhada da correspondente referência bibliográfica, incluindo procedimentos adotados, universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Em relação à análise estatística, os autores devem demonstrar que os procedimentos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (ex. $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) devem ser mencionados.

Ao relatar experimentos com animais, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais - ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório - foram seguidas, e fornecer o número do processo.

Resultados: sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas ou figuras, elaboradas de forma que sejam autoexplicativas e com análise estatística. Deve-se evitar repetir dados no texto.

Tabelas, quadros e figuras devem ser limitados a cinco no conjunto e numerados consecutiva e independentemente com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados; devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto. É imprescindível a informação do local e ano do estudo. A cada um deve-se atribuir um título breve. Os quadros e tabelas devem ter as bordas laterais abertas.

O(s) autor(es) responsabiliza(m)-se pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações, tabelas, quadros e gráficos), que devem permitir redução sem perda de definição para os tamanhos de uma ou duas colunas (7,6 e 16,2cm, respectivamente). Não é permitido o formato paisagem. Figuras digitalizadas devem ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 dpi.

A publicação de imagens coloridas, após avaliação da viabilidade técnica de sua reprodução, é custeada pelo(s) autor(es). Em caso de manifestação de interesse por parte do(s) autor(es), a Bioikos providencia um orçamento dos custos envolvidos, que podem variar de acordo com o número de imagens, sua distribuição em páginas diferentes e a publicação concomitante de material em cores por parte de outro(s) autor(es).

As figuras deverão ser enviadas em impressão de alta qualidade, em preto-e-branco e/ou diferentes tons de cinza e/ou hachuras.

É necessário o envio dos gráficos, separadamente, em arquivos no formato WMF (Windows Metafile) e no formato do programa em que foram gerados (SPSS, Excel), acompanhados de seus parâmetros quantitativos, em forma de tabela e com nome de todas as variáveis.

As imagens de satélite e fotografias devem ser submetidas nos seguintes tipos de arquivo: TIFF (Tagged Image File Format) ou BMP (Bitmap). A resolução mínima deve ser de 300dpi (pontos por polegada), com tamanho mínimo de 16,2cm de largura.

Uma vez apresentado ao(s) autor(es) o orçamento dos custos correspondentes ao material de seu interesse, este(s) deve(m)

efetuar depósito bancário. As informações para o depósito são fornecidas oportunamente.

Discussão: deve explorar adequada e objetivamente os resultados, discutidos à luz de outras observações já registradas na literatura.

Conclusão: deve apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. Não são aceitas citações bibliográficas nesta seção.

Agradecimentos: pode existir uma seção de agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que tenham prestado efetiva colaboração para o trabalho.

- **Nome científico:** o nome científico completo de uma espécie deve ser mencionado nas legendas das ilustrações (figuras, tabelas e quadros), no *abstract*, resumo e introdução; posteriormente, o nome genérico deve ser abreviado.

- **Anexos:** devem ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Cabe aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

- **Abreviaturas e siglas:** devem ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado, por extenso, na primeira citação no texto. Não devem ser usadas no título e no resumo.

- **Referências:** devem ser relacionadas alfabeticamente, no final do texto, pelos sobrenomes dos autores e cronologicamente por autor. No caso de publicações com mais de dois autores, citam-se todos. Os títulos dos periódicos devem ser referidos por extenso.

Não são aceitas citações/referências de monografias de conclusão de curso de graduação, de resumos de trabalhos de congressos, simpósios, *workshops*, encontros, entre outros, bem como de textos não publicados (exemplos, aulas, entre outros). Citações de dissertações e teses devem ser evitadas ao máximo.

Se um trabalho não publicado de autoria de um dos autores do manuscrito for citado (ou seja, um artigo *in press*), é necessário incluir a carta de aceitação da revista que publicará o referido artigo. Se dados não publicados obtidos por outros pesquisadores forem citados no manuscrito, é necessário incluir uma carta de autorização do uso dos mesmos por seus autores.

- **Citações no texto:** devem constar na lista de referências. Citar o sobrenome do autor, seguido do ano de publicação, como em Rocha (2008); se forem dois autores, o último sobrenome de ambos separados por &, como em Santos & Martins (2008); e se forem três ou mais autores, o sobrenome do primeiro autor seguido de *et al.* e do ano da publicação, como em Rafael *et al.* (2008). As citações devem ser separadas por ponto e vírgula e em ordem cronológica, como no exemplo: (Santos, 2003; Almeida *et al.*, 2004; Oliveira & Rocha, 2006).

A exatidão e a adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são de responsabilidade do autor.

Exemplos de referências

Periódico

Dois autores

Thatcher, V.E. & Brasil-Sato, M.C. (2008). *Ergasilussalmini* sp. nov. (Copepoda: Ergasilidae) a branchial parasite of "dourado", *Salminus franciscanus* from the upper São Francisco River, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(3):555-7.

Mais de dois autores

Rafael, J.A.; Silva, N.M. & Dias, R.M.N.S. (2008). Baratas (Insecta, Blattaria) sinantrópicas na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 38(1):173-8.

Livro

Ângelo, C. & Mayr, E. (2008). *Isto é biologia: a ciência do mundo vivo*. São Paulo: Companhia das Letras.

Mais de dois autores

Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Johnson, A.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. & Hopkin, K. (2007). *Fundamentos da biologia celular*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed.

Capítulo de Livro

Alterthum, F. (2005). Crescimento bacteriano. In: Trubulsi, L.R. & Alterthum, F. *Microbiologia*. 4.ed. São Paulo: Atheneu. Biblioteca Biomédica.

Dissertações e Teses

Silva, A.B. (2008). *Planejamento experimental e modelagem estatística do efeito do uso do lodo de esgoto em solos*. Dissertação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco.

Trabalhos apresentados em congressos e similares

Tubino, R.A.; Paes, E.T. & Monteiro-Neto, C. (2007). Determinação objetiva de guildas ecológicas de peixes da região costeira de Itaipu, Niterói-Rj, Brasil. *Anais do XII Congresso Latino Americano de Ciências do Mar - COLACMAR*, 2007, Florianópolis. v.1.

Material eletrônico deverá informar: disponível em: <<http://www...>>. (acesso: 4 jun. 2008).

LISTA DE CHECAGEM

- Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais assinada por cada autor;

- Enviar ao editor quatro vias do original (um original e três cópias) e um disquete ou CD-ROM etiquetado com as seguintes informações: nome do(s) autor(es) e do arquivo. Na reapresentação, incluir o número do protocolo;

- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências, está reproduzido com letra arial, tamanho 11 e espaçamento

entrelinhas 1,5, e com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm);

- Verificar se estão completas as informações de legendas das figuras e tabelas;

- Preparar página de rosto com as informações solicitadas;

- Incluir nomes de agências financiadoras e número do processo;

- Indicar se o artigo é baseado em tese/dissertação, colocando o título, o nome da instituição, o ano de defesa e o número de páginas;

- Incluir título do manuscrito, em português e inglês;

- Incluir título abreviado (*short title*) com quarenta caracteres, para fins de legenda em todas as páginas;

- Incluir resumos com no mínimo 150 e no máximo 250 palavras nos dois idiomas, português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com palavras-chave;

- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo adotado pela revista, ordenadas alfabeticamente, e se todas estão citadas no texto;

- Incluir permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas;

- Incluir parecer do Comitê de Ética da instituição.

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS

Cada autor deve ler e assinar os documentos Declaração de Responsabilidade (1) e Transferência de Direitos Autorais (2), nos quais devem constar:

- Título do manuscrito;

- Nome por extenso dos autores (na mesma ordem em que aparecem no manuscrito);

- Autor responsável pelas negociações.

1. Declaração de responsabilidade: todas as pessoas relacionadas como autoras devem assinar declarações de responsabilidade nos termos abaixo:

- “Certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo, que não omiti quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo”;

- “Certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar de minha autoria não foi enviado a outra revista e não o será enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Bioikos, quer seja no formato impresso ou no eletrônico”.

2. Transferência de direitos autorais:

- “Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Bioikos passa a ter os direitos autorais a ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da revista, e fica vedada qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento à revista”.

Assinatura do(s) autor(es) Data ____/____/____

Toda correspondência deve ser enviada à revista Bioikos no endereço abaixo:

Núcleo de Editoração SBI/CCV - Campus II
Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil.

Fone/Fax: +55-19-3343-6875

E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br

Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/ccv>

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Bioikos publishes original scientific studies, review articles and scientific communications related to many areas of Biology, especially Environmental, Molecular Biology and Education.

EDITORIAL PROCEDURES

1. Manuscript evaluation

Texts submitted to the journal for review that are in agreement with the editorial policy will only start if they are also in agreement with the "instructions to the authors." If not, they will be returned so that they can be formatted according to the rules or to include a letter or other documents that may become necessary.

It is strongly recommended that the authors seek for professional linguistic advisement (certified reviewers or translators of Portuguese and English) before they submit articles that may contain errors and/or morphological, syntax, idiomatic or stylistic inadequacies. The use of the first person of the singular or plural should be avoided since scientific discourses should be impersonal and not contain judgment of value.

Original articles identified with errors or morphological and syntax inadequacies will be returned even before they are submitted to assessment regarding the merit of the work and the convenience of its publication.

The manuscripts that are approved in this phase will be sent to *ad hoc* referees (reviewers) selected by the editors. Each manuscript will be sent to two reviewers of known competence in the selected theme. If they are not in agreement, the manuscript will be sent to a third referee.

The peer review assessment is the blind review system where the identity of the authors and the referees are kept secret. Thus, the authors should do everything possible to avoid the identification of the authors of the manuscript.

If there is a conflict of interest on the part of the referees, the Editorial Committee will send the manuscript to another *ad hoc* referee.

The opinions of the referees consist of three possibilities: a) full acceptance; b) accepted with reformulations; c) fully refused. They authors will be notified whatever the case.

The final decision regarding the publishing of the article is always from the editors and they are allowed to make any adjustments they find necessary. If there are essay problems, the text will be returned to the authors so that corrections are made within the maximum stipulated period.

Accepted manuscripts: accepted manuscripts can be returned to the authors for approval of changes that were made in the editing and formatting processes, according to the style of the journal.

Copies: typographical copies will be sent to the others for correction of printing errors. The copies should return to the *Núcleo de Editoração* on the stipulated deadline. Other changes in the original manuscript will not be accepted during this phase.

2. Submission of works

Works must be accompanied by a letter signed by all authors describing the type of work and thematic area, declaring that the manuscript is being presented only to the Bioikos and agreeing to transfer the copyright to the journal.

If figures and tables published elsewhere are used, the authorization for their use must also be attached to the manuscript.

Authorship: the number of authors must be coherent with the dimensions of the project. Authorship credit must be based on substantial contributions, such as conception and design, or data analysis and interpretation. Including the names of authors who do not fit within the parameters listed above is not justified. Other contributors may be cited in the Acknowledgement section.

3. Presentation of the manuscript

Please send four copies of the manuscript to the *Núcleo de Editoração* of the Journal formatted with double spacing between the lines and font Arial 11. The material should also be sent in floppy disc or CD-ROM. The file should be saved in a text editor similar or above version 97-2003 of MSWord (Windows). The names of the authors or file should be printed on the label of the floppy disc or CD-ROM.

Of the four copies mentioned above, three should come without any identification of the authors so that the assessment can be done secretly; however they should be complete and identical to the original manuscript, omitting only the authorship. It is essential that the scope of the article *does not contain any form of identification of the authors*, which includes, for example, references to previous works of one or more of the authors or the institution where the work was done.

The text should contain from 15 to 20 pages. The pages must have personalized numbering starting with the cover page which should be number 1. The paper must be size A4 with at least 2.5cm of upper and lower margins and 3cm of left and right margins.

The articles (originals, research note) should have approximately 30 references, except for review articles which can have around 50.

All pages should be numbered starting from the identification page. This document contains information that should clarify doubts regarding the formatting.

Reformulated version: The reformulated version must be sent in three complete copies, in paper and in a floppy disc or CD-ROM with a label indicating the number of the protocol, the version number, the name of the authors and the name of the file. It is absolutely forbidden to return the previous version.

The text of the article must use a colored font (blue) for all changes, together with a letter to the editor confirming the interest in publishing in this journal and informing what changes were made in the manuscript. If there is disagreement regarding the recommendations of the referees, the authors should present the arguments that justify their stance. The manuscript title and code should be specified.

The **cover page**: should contain:

a) Full title - must be concise, avoiding excess words such as "assessment of...", "considerations on...", "exploratory study...".

b) Short title with up to 40 characters in Portuguese (or Spanish) and English.

c) Full name of all the authors indicating where each one works. Each author is allowed one employee and one title. The authors should therefore choose among their titles and employees those that they judge to be most important.

d) All data regarding titles and employees should be presented in full, without abbreviations.

e) List the full addresses of all the universities with which the authors have affiliations.

f) Indicate an address to exchange correspondence, including the manuscript, with the editor, including facsimile, telephone and e-mail address.

g) Full address to correspond with the authors, including contact name, telephone, facsimile and e-mail.

Observation: this should be the only part of the text with identification of the authors.

Abstract: all articles submitted in Portuguese or Spanish should have an abstract in the original language and English, with at least 150 words and at most 250 words.

The articles submitted in English should contain the abstract in Portuguese or Spanish and in English.

For original articles, the abstracts must be objectives, basic methods adopted, information on the location, population and sample of the research, most relevant results and conclusions, considering the objectives of the work and indicating ways to continue the study.

The text should not contain citations and abbreviations. Highlight at least three and at most six keywords.

Text: except for manuscripts presented as Review and Research Note, the works should follow the formal structure for scientific works:

Introduction: must contain current literature review and pertinent to the theme, adequate to the presentation of the problem and that highlights its relevance. It should not be extensive unless it is a manuscript submitted as Review.

Methods: must contain a clear and brief description of the method employed along with the correspondent bibliography, including: adopted procedures, universe and sample; measurement instruments and if applicable, validation method; statistical treatment.

Statistical analysis: The authors must demonstrate that the statistical procedures employed were not only appropriate to test the hypotheses of the study but have also been correctly interpreted. Do not forget to mention the level of significance adopted (e.g. $p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$).

If experiments with animals are reported, indicate if the directives of the institutional or national research councils - or any law regarding the care and use of laboratory animals - were followed and inform the number of the procedure.

Results: whenever possible, the results should be presented in tables and figures and constructed in a way as to be self-explanatory and contain statistical analysis. Avoid repeating the data within the text.

Tables, charts and figures together should be limited to five and numbered consecutively and independently with Arabic characters according to the order in which data is mentioned and must come in individual and separate sheets. Their locations should be indicated in the text. Information on the location and year of the study is absolutely necessary.

Each element should have a brief title. Tables and charts must have open side borders.

The author is responsible for the quality of the figures (drawings, illustrations, tables, charts and graphs). It must be possible to reduce their size to one or two columns (7,6 and 16,2cm respectively) without loss of sharpness. Landscape format is absolutely forbidden. Digital figures should have the jpeg extension and a minimum resolution of 300 dpi. Printing of colored images when this printing is possible is paid by the authors. If the authors are interested, the Bioikos will inform them of the costs which will vary according to the number of images, their distribution in different pages and the concomitant publication of colored material by other authors.

Figures should be sent in a high-quality print version in black-and-white and/or different tones of gray and/or hachure.

Graphs should be submitted separately in WMF (Windows Metafile) format file and in the format of the program in which they were generated (SPSS, Excel), accompanied by their quantitative parameters in table form and with the names of all the variables.

Satellite images and photographs should be submitted in the following types of files: TIFF (Tagged Image File Format) or BMP (Bitmap). Minimum resolution should be 300dpi (dots per inch), with a minimum width of 16,2cm.

Once the costs are presented to the authors, these are asked to deposit the amount in a bank account. The information regarding the account will be disclosed when necessary.

Discussion: should explore adequately and objectively the results and discuss them in light of other observations already registered in the literature.

Conclusion: present the relevant conclusions taking into account the objectives of the work and indicate ways that the study can be continued. Bibliographical citations in this section are absolutely forbidden.

Acknowledgements: acknowledgments are accepted in a paragraph with no more than three lines and may contain the names

of institutions or individuals who actually collaborated with the research.

- **Scientific name:** the full scientific name of a species must be mentioned in the subtitles of the figures, tables and charts, in the abstract, *resumo* and introduction; later, the generic name must be abbreviated.

- **Attachments:** only include attachments if they are vital for understanding of the text. The editors will judge if they are indeed necessary.

- **Abbreviations and acronyms:** must be used in a standardized manner and restricted only to those used conventionally or sanctioned by use followed by their full meaning when first cited in the text.

- **References:** the references must be in alphabetical order according to the author's last name, chronological by author and located at the end of the text. All authors must be cited when more than two authors are involved. Include the full journal title. We present some examples of the most common cases for reference. Undergraduate papers, congress abstract, symposiums, workshops etc. will not be accepted. Dissertations and theses should be avoided whenever possible.

If an unpublished work of one of the authors of the study is mentioned (that is, an article in press) it is necessary to include the letter of acceptance of the journal who accepted the article for publication. If unpublished data obtained by other researchers are cited in the manuscript, it is necessary to include a letter authorizing the disclosure of the data by their authors.

- **Citations in text:** must be included in the reference list. Cite the author's last name followed by the year of publication, for example, Rocha (2008); if two authors are involved, cite both, for example, Santos & Martins (2008); if three or more are involved, cite the first one followed by *et al.*, for example, Funari *et al.* (2008). Citations are separated by a semicolon (;) and in chronological order, for example, (Santos, 2005; Almeida *et al.*, 2007; Oliveira & Rocha, 2008).

The exactness and adequateness of the references to works that have been consulted and mentioned in the text of the article are of responsibility of the authors. All authors whose works are cited in the text should be listed in the "References" section.

References examples

Journal

Two authors

Thatcher, V.E. & Brasil-Sato, M.C. (2008). *Ergasilussalmini* sp. nov. (Copepoda: Ergasilidae) a branchial parasite of "dourado", *Salminus franciscanus* from the upper São Francisco River, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(3):555-7.

More than two authors

Rafael, J.A.; Silva, N.M. & Dias, R.M.N.S. (2008). Baratas (Insecta, Blattaria) sinantrópicas na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 38(1):173-8.

Book

Ângelo, C. & Mayr, E. (2008). *Isto é biologia: a ciência do mundo vivo*. São Paulo: Companhia das Letras.

More than two authors

Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Johnson, A.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. & Hopkin, K. (2007). *Fundamentos da biologia celular*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed.

Book chapter

Alterthum, F. (2005). Crescimento bacteriano. In: Trabulsi, L.R. & Alterthum, F. *Microbiologia*. 4.ed. São Paulo: Atheneu. Biblioteca Biomédica.

Dissertations and theses

Silva, A.B. (2008). *Planejamento experimental e modelagem estatística do efeito do uso do lodo de esgoto em solos*. Dissertação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco.

Paper presented in congress whose article was published in proceedings

Tubino, R.A.; Paes, E.T. & Monteiro-Neto, C. (2007). Determinação objetiva de guildas ecológicas de peixes da região costeira de Itaipu, Niterói-RJ, Brasil. *Anais do XII Congresso Latino Americano de Ciências do Mar - COLACMAR, 2007*, Florianópolis. v.1.

Electronic material must inform: Available from: <http://www...>. (accessed: 4 June 2008).

CHECKLIST

- Declaration of responsibility and transfer of copyright signed by each author.
- Send four copies of the original to the Editor (one original and three copies) and a floppy disc or CD-ROM labeled with the following information: name of the authors and name of the file. If it is a second or more version, include the number of the protocol.
- Verify if the text, including abstract, tables and references, is written with Arial font size 11 and double spaced. The upper and lower margins should have at least 2.5 cm and the lateral margins should have at least 3cm.
- Verify if the information of the legends of the figures and tables is complete.
- Prepare a cover page with the requested information.
- Include the name of the sponsors and the number of the proceeding.
- Indicate if the article is based on a thesis/dissertation placing the title, name of the institution, year of defense and number of pages.
- Include the title of the manuscript in Portuguese and in English.

- Include a short title with 40 characters at most for the legend of each page.

- Include abstracts with a minimum 150 words and a maximum of 250 words, in Portuguese or Spanish and English, and keywords when applicable.

- Verify if the references are in accordance with the standard of the Journal and if they are all cited in the text.

- Include permission of the editors for tables and figures that have been published before.

- Include the opinion of the Ethics Committee of the Institution.

DECLARATION OF RESPONSIBILITY AND COPYRIGHT TRANSFER

Each author must read and sign the documents (1) Declaration of Responsibility and (2) Copyright Transfer.

First author:

Author responsible for the negotiations: Title of the manuscript:

1. Declaration of responsibility: all the persons mentioned as authors must sign the declarations of responsibility in the terms mentioned below:

- I certify that I have participated in the creation of this work and render public my responsibility for its content; I have not omitted any affiliations or financial agreements between the authors and companies that may be interested in the publication of this article;

- I certify that the manuscript is original and the work, in part or in full, or any other work with a substantially similar content of my authorship was not sent to another journal and will not be sent to another journal while its publication is being considered by the Bioikos, whether in the printed or electronic format.

Signature of the author(s) Date ____ / ____ / ____

2. Copyright transfer: "I declare that, if this article is accepted, the Bioikos will have its copyright and exclusive ownership and any reproduction, in part or in full, printed or electronic, is forbidden without the previous and necessary consent of this journal. If the consent is granted, I will include my thanks for this journal."

Signature of the author(s) Date ____ / ____ / ____

All correspondence should be sent to journal of Bioikos at the address below

Núcleo de Editoração SBI/CCV - Campus II
Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil.
Fone/Fax: +55-19-3343-6875
E-mail: ccv.revistas@puc-campinas.edu.br
Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/centros/ccv>

BIOIKOS

ISSN 0102-9108



PUC

Prezado amigo,

É com satisfação que vimos convidá-lo **ASSINAR ou RENOVAR** a revista *BIOIKOS*, a melhor forma de ter contato com os trabalhos desenvolvidos por pesquisadores da área através de uma publicação nacional, indexada pela ASFA - Aquatic Sciences & Fisheries Abstracts, Base de Dados Periódica (Índice de Revistas Latinoamericano em Ciências) Lista Qualis: B-4.

Esperamos contar com sua presença entre nossos assinantes regulares.

Preencha o canhoto abaixo.

Um abraço,

<input type="checkbox"/>	ASSINATURA	<input type="checkbox"/>	RENOVAÇÃO						
<input type="checkbox"/>	Volume 20 (1 e 2) (2006)	⇒	Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/>	⇒	Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Volume 21 (1 e 2) (2007)	⇒	Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/>	⇒	Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Volume 22 (1 e 2) (2008)	⇒	Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/>	⇒	Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Volume 23 (1 e 2) (2009)	⇒	Pessoas Físicas	R\$ 30,00	<input type="checkbox"/>	⇒	Institucional	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Volume 24 (1 e 2) (2010)	⇒	Pessoas Físicas	R\$ 40,00	<input type="checkbox"/>	⇒	Institucional	R\$100,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Volume 25 (1, 2 e 3) (2011)	⇒	Pessoas Físicas	R\$ 50,00	<input type="checkbox"/>	⇒	Institucional	R\$120,00	<input type="checkbox"/>

Nome: _____

Endereço: _____

CEP: _____ Cidade: _____ Estado: _____ Telefone: _____

CNPJ/CPF: _____ E-mail: _____

Anexo cheque número: _____ Banco: _____ Valor: _____

Cheque nominal à **SOCIEDADE CAMPINEIRA DE EDUCAÇÃO E INSTRUÇÃO**.

Assinatura: _____ Data: ____ / ____ / ____

FORMAS DE PAGAMENTO

PARCELADO

- Pré-datado para 30 dias
- Pagamentos em 2 vezes: 1 entrada e o restante para 30 dias

À VISTA

- Cheque ou depósito bancário: depósito bancário: Banco Itaú ag. 0009 cc 49371-9
Código de Identificação do assinante: **Institucional** CNPJ **Pessoas Físicas** CPF

Razão Social: Sociedade Campineira de Educação e Instrução. CNPJ: 46.020.301/0001-88

Enviar pedido juntamente com seu pagamento para:

Revista Bioikos - Núcleo de Editoração - Prédio de Odontologia - Campus II
Av. John Boyd Dunlop, s/n. - J. Ipaussurama - 13060-904 - Campinas - SP. Fone/Fax: (19) 3343-6875
E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br - Home Page: www.puc-campinas.edu.br/ccv

Pontifícia Universidade Católica de Campinas
(Sociedade Campineira de Educação e Instrução)

Grão-Chanceler: Dom Bruno Gamberini

Reitora: Profa. Angela de Mendonça Engelbrecht

Vice-Reitor: Prof. Eduard Pranic

Pró-Reitor de Graduação: Prof. Germano Rigacci Júnior

Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação: Profa. Vera Engler Cury

Pró-Reitora de Extensão e Assuntos Comunitários: Profa. Vera Engler Cury

Pró-Reitor de Administração: Prof. Ricardo Pannain

Diretora do Centro de Ciências da Vida: Profa. Miralva Aparecida de Jesus Silva

Diretor-Adjunto do Centro de Ciências da Vida: Prof. José Gonzaga Teixeira de Camargo

Diretor da Faculdade de Ciências Biológicas: Prof. Edmilson Ricardo Gonçalves

Bioikos

Com capa impressa no papel supremo 250g/m² e miolo no papel couchê fosco 90g/m²

Editoração eletrônica / DTP

Toque Final - Editoração Eletrônica

Impressão / Printing

Editora Sesil Ltda

Tiragem / Edition

800

Distribuição / Distribution

Sistema de Bibliotecas e Informação da PUC-Campinas - Serviço de Publicação, Divulgação e Intercâmbio



Artigos | Articles

- 73 Aspectos poblacionales de *Pseudocorynopoma doriai* en dos arroyos de la alta cuenca del Río Samborombón, provincia de Buenos Aires, Argentina
Population aspects of Pseudocorynopoma doriai in two streams in the high basin of the Samborombón River, Buenos Aires province, Argentina
• Ricardo Alberto Ferriz, Guillermo Roberto López, Eduardo Marcelo Fernández, Cristina Amélia Bentos
- 83 Itens alimentares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivadas em um estuário tropical, no Nordeste do Brasil
Food items of Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivated in a tropical estuary in Northeast, Brazil
• Alinne Dué, Manoel Messias da Silva Costa, Euripedes Alves Silva Filho, Élica Amara Cecília Guedes
- 95 *Implications of consumption and ecological knowledge on the management of marine turtles the Northern coast of São Paulo, Brazil*
Implicações do consumo e percepção ecológica para o manejo de tartarugas marinhas no litoral norte de São Paulo
• Ludmila de Melo Alves Damásio, Adriana Rosa Carvalho
- 105 *The impact of flower head endophages on the seed set of a native population of Chromolaena odorata (L.) King & Robinson (Asteraceae)*
O impacto de endófagos de capítulos sobre a produção de sementes de uma população nativa de *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson (Asteraceae)
• Mário Almeida-Neto, Umberto Kubota, Marina Reiter Braun, Thomas Michael Lewinsohn
- 113 Resistência de variedades de couve a *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae)
Resistance of cabbage to Brevicoryne brassicae (L.) (Hemiptera: Aphididae)
• César Pagotto Stein, Édson Possidônio Teixeira
- 119 Caracterização e atividade farmacológica do diclofenaco-zinco (II) e do complexo de inclusão diclofenaco-zinco (II)-hidroxipropil- β -ciclodextrina
Characterization and pharmacological activity of zinc (II)-diclofenac and zinc (II)-diclofenac-hydroxypropylbeta-cyclodextrin inclusion complex
• Viviane Aparecida Guilherme, Sílvia Mansur Scagliusi, Eneida de Paula, Maria Cristina de Almeida, Daniele Ribeiro De Araujo