



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
FLORESTA NACIONAL DO TAPIRAPÉ-AQUIRI

**Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Instituto Chico Mendes de
Conservação da Biodiversidade- PIBIC/ICMBio**

Relatório de Final
(2019-2020)

**Avaliação da qualidade de sementes de *Bertholletia excelsa* Bonpl.
submetida ao armazenamento.**

Nome do Estudante de IC: Tales Caldas Soares

Orientador(a): André Luís Macedo Vieira

**Marabá-Pará
Outubro/2020**

Resumo

A semente da *Bertholletia excelsa*, se destaca como um importante produto florestal não madeireiro da Amazônia, representando um dos elementos principais para a economia das famílias extrativistas, que são entes de sua cadeia de produção sustentável, que carece de tecnologias aplicadas a preservação da semente em relação a degradação por microrganismos, que é passível que ocorra mesmo em condições adequadas de armazenamento. O presente trabalho foi conduzido, através do estudo de 13 frutos coletados na Floresta Nacional do Tapirapé-Aquiri, os quais foram investigados considerados três regiões: (a) ouriço; (b) semente com casca; (c) semente sem casca (amêndoa), com o objetivo de isolar e caracterizar a microbiota de fungos filamentosos e bactérias. Os procedimentos metodológicos utilizados para análise foram: (i) desinfecção superficial; (ii) diluição seriada (iii) isolamento; (iv) caracterização. A análise realizada demonstrou que o número de ufc/g de bactérias foi maior na região da semente ($6,0 \cdot 10^3$), comparado às regiões ouriço ($4,8 \cdot 10^4$) e amêndoa ($3,5 \cdot 10^4$) as quais não diferiram entre si. A comunidade de fungos filamentosos foi mais numerosa na região do ouriço ($8,0 \cdot 10^3$), porém não diferiu estatisticamente da região amêndoa ($2,3 \cdot 10^3$). A diversidade fenotípica foi decrescente do ouriço em direção a amêndoa. Foram isolados no total 29 morfotipos fúngicos e 34 morfotipos bacterianos, considerando as três regiões avaliadas.

Palavras-chave: Bactéria, Castanheira, Fungo.

Abstract

The seed of *Bertholletia excelsa* stands out as an important non-timber forest product in the Amazon, representing one of the main elements for the economy of extractive families, who are members of its sustainable production chain, which lacks technologies applied to seed preservation in degradation by microorganisms, which is likely to occur even under adequate storage conditions. The present work was carried out through the study of 13 fruits collected in the Tapirapé-Aquiri National Forest, which were investigated considering three regions: (a) hedgehog; (b) seed with shell; (c) shelled seed (almond), in order to isolate and characterize the microbiota of filamentous fungi and bacteria. The methodological procedures used for analysis were: (i) superficial disinfection; (ii) serial dilution (iii) isolation; (iv) characterization. The analysis showed that the number of cfu / g of bacteria was higher in the seed region ($6,0 \cdot 10^3$), compared to the hedgehog ($4,8 \cdot 10^4$) and almond ($3,5 \cdot 10^4$) regions, which did not differ between them. The filamentous fungi community was more numerous in the hedgehog region ($8,0 \cdot 10^3$), but did not differ statistically from the almond region ($2,3 \cdot 10^3$). The phenotypic diversity was decreasing from the hedgehog towards the almond. A total of 29 fungal morphotypes and 34 bacterial morphotypes were isolated, considering the three regions evaluated.

Keywords: Bacteria, Castanheira, Fungus.

Lista de Figuras

Figura 1. Coleta de frutos de Castanha na Flona do Tapirapé-Aquiri	4
Figura 2. Mapa de localização das castanheiras na FLONA Tapirapé-Aquiri, Pará, Brasil	5
Figura 3. Procedimentos metodológicos: A. ouriço em saco plástico estéril com salina (asepsia), B. diluição seriada C. semeio, utilizando alça de Drigalsky D. cultivo em estufa bacteriológica	5
Figura 4. Cultivo de Fungos A. Repicagem, etapa de aplicação de antibiótico em uma placa contendo B.D.A para crescimento de fungo; B. Análise da Placa contendo fungo, visando evitar algum tipo de contaminação.	6
Figura 5. Placas contendo bactérias para contagem de ufc/g por amostra	7
Figura 6. Placas contendo fungos filamentosos para contagem de ufc/g por amostra	9
Figura 7. Estoque de Microrganismos: A. Placas contendo os microorganismos estocados; B. Conferência das placas.	9

Lista de Tabelas e Gráficos

Tabela 1. Teste de Tukey para o número de UFC nas regiões do fruto il.....	12.
Tabela 2. Diversidade fenotípica microbiana nos frutos de castanha da FLONA do Tapirapé-Aquiri.	13

Lista de Quadros

Quadro 1. Critérios para descrição macro e microscópica dos fungos isolados se <i>Bertholletia excelsa</i> da FLONA Tapirapé-Aquiri, Pará, Brasil.....	6
Quadro 2. Coleção de Referência de Microorganismos do Laboratório de Bioprodutos e Energia da Biomassa da UEPA.....	12

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Contagem de ufc/g nas regiões do fruto.....	11
---	----

Lista de Abreviaturas e Siglas

AF - Aflatoxina

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FLONA – Floresta Nacional

FLONATA – Floresta Nacional do Tapirapé-Aquiri

ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

ILPF - Integração-Lavoura-Pecuária-Floresta

LABBIM – Laboratório de Bioprodutos e Energia da Biomassa

PA - Pará

PFNM - Produtos Florestais Não Madeireiros

RAS - Regras para Análise de Sementes

SAFs - Sistemas Agroflorestais

UFC/g – Unidade Formadora de Colônia por grama

Sumário

1. Introdução	1-2
2. Objetivos	3
3. Materiais e Métodos	4
3.1. Delineamneto do experimento	4
3.2 Ensaio laboratorial - análise da qualidade das sementes de <i>Bertholletia excelsa</i>	5
3.3 Isolamento e cultura de microrganismos	6-9
4. Resultados	10
4.1 Morfologia de frutos e sementes	Erro! Indicador não definido.
4.2 Morfotipos Isolados.....	10-15
5. Discução e Conclusões.....	Erro! Indicador não definido. 6-17
6. Conclusões	Erro! Indicador não definido.
7. Recomendações de Manejo.....	10
8. Agradecimentos	170
9. Citações e referências bibliográficas.....	Erro! Indicador não definido.

1. Introdução

A castanheira é uma das espécies arbóreas nativas da Amazônia que apresentam elevado valor social e econômico (LIMA et al., 2009). É considerada um dos principais produtos florestais não madeireiros (PFNM), com grande potencial econômico, e que representa um dos elementos principais para a economia das famílias extrativistas (LOCATELLI et al., 2005).

A coleta extrativista da castanha é considerada, como um dos elementos fundamentais de preservação da floresta amazônica, pelo fato de suas sementes serem uma das principais, fontes de renda para as famílias, que vivem nas florestas da região amazônica, e promovem a conservação de grandes extensões da floresta (ZUIDEMA; BOOT 2002; LOCATELLI et al., 2005; DOS SANTOS., et al 2010).

A castanha do Brasil é considerada um produto orgânico resultante do extrativismo da região Amazônica e não se faz uso de defensivos químicos para adubação e controle de pragas tornando a extração ambientalmente correta (ANDRADE, 2010). No entanto, se tem pouco controle dos padrões de qualidade devido a sua cadeia produtiva possuir baixo nível tecnológico, de manuseio e manejo da matéria-prima (LEITE, 2014).

Um dos grandes problemas da exploração extrativista da castanha do Brasil está no sistema de coleta empregado, devido às questões de contaminação por bactérias e fungos (SOUZA et al., 2008; BORÉM et al., 2009). Após a coleta, os ouriços muitas vezes são armazenados de forma indevida, sendo depositados em locais descobertos e em contato direto com o solo, propiciando a entrada de água no fruto, dessa forma, o teor de umidade presente no mesmo é elevado, favorecendo o desenvolvimento dos microrganismos e prejudicando a qualidade das sementes (SOUZA et al., 2004).

Estes microrganismos são produtores de toxinas, metabólitos secundários produzidos por algumas linhagens que aceleram a deterioração da castanha, e podem impactar de forma negativa na saúde animal e humana (MARTINS 2011).

A castanha do Brasil é considerada um produto orgânico resultante do extrativismo da região Amazônica e não se faz uso de defensivos químicos para adubação e controle de pragas tornando a extração ambientalmente correta (ANDRADE, 2010). No entanto, se tem pouco controle dos padrões de qualidade

devido a sua cadeia produtiva possuir baixo nível tecnológico, de manuseio e manejo da matéria-prima (LEITE, 2014).

Um dos grandes problemas da exploração extrativista da castanha do Brasil está no sistema de coleta empregado, devido às questões de contaminação por bactérias e fungos (SOUZA et al., 2008; BORÉM et al., 2009).

Ouriços muitas vezes são armazenados de forma indevida, sendo depositados em locais descobertos e em contato direto com o solo, propiciando a entrada de água no fruto, dessa forma, o teor de umidade presente no mesmo é elevado, favorecendo o desenvolvimento dos microrganismos e prejudicando a qualidade das sementes (SOUZA et al., 2004). Estes microrganismos são produtores de toxinas, metabólitos secundários produzidos por algumas linhagens que aceleram a deterioração da castanha, e podem impactar de forma negativa na saúde animal e humana (MARTINS 2011).

Devido à grande importância da castanha para a conservação e manutenção do ecossistema amazônico, o conhecimento tecnológico dos frutos e sementes e a resposta dos mesmos pós armazenamento propiciará o desenvolvimento de protocolos que visem minimizar a perda de viabilidade (agregando valor ao produto castanha) e o controle de patógenos que possam trazer prejuízos à saúde humana.

O estudo contribuirá com informações, acerca da espécie e suas respectivas características, e condições bem como identificar os principais patógenos, que contribuem para minimizar sua viabilidade, e com isso estabelecer protocolos, de desinfestação. Espera-se que a pesquisa sirva de suporte informacional, tornando-se assim um referencial de trabalho.

2. Objetivos

2.1. Geral

A pesquisa realizada objetivou, realizar uma análise em relação, à comunidade de microrganismos (fungos e bactérias), existentes nas três regiões de fruto de castanha, coletadas da FLONA Tapirapé-Aquiri, sob diferentes períodos de armazenamento de forma, a conhecer melhor o comportamento destes microrganismos em função do tempo.

2.2 Específicos

- Isolar a comunidade de microrganismos (fungos e bactérias) presentes no fruto, no exterior das amêndoas e dentro das amêndoas.
- Identificar a comunidade de microrganismos em associação com as castanhas e incluí- los em uma coleção biológica de referência.
- Realizar testes de antagonismo com alguns fungos e bactérias encontrados de forma a minimizar a perda de viabilidade e a consequente decomposição das castanhas.
- Elaboração de chaves de identificação micro e macroscópica dos microrganismos analisados.

3. Material e Métodos

3.1 Origem dos frutos e delineamento experimental

Os frutos de *Bertholletia excelsa* foram coletados de árvores localizadas na Trilha Ecológica Castanheira, localizada na Floresta Nacional do Tapirapé-Aquiri, a trilha está situada entre as coordenadas geográficas de 5° 35' e 6° 00' de latitude sul e 50° 24' e 51° 06' de longitude oeste (Figura 1), em parceria com o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio).



Figura 1. Coleta dos Frutos: (A) Árvore de *Bertholletia excelsa* FLONA Tapirapé-Aquiri, (B) Ouriços coletados do castanhal da Trilha da Catanheira, FLONA Tapirapé.

Fonte: Autoral (2020).

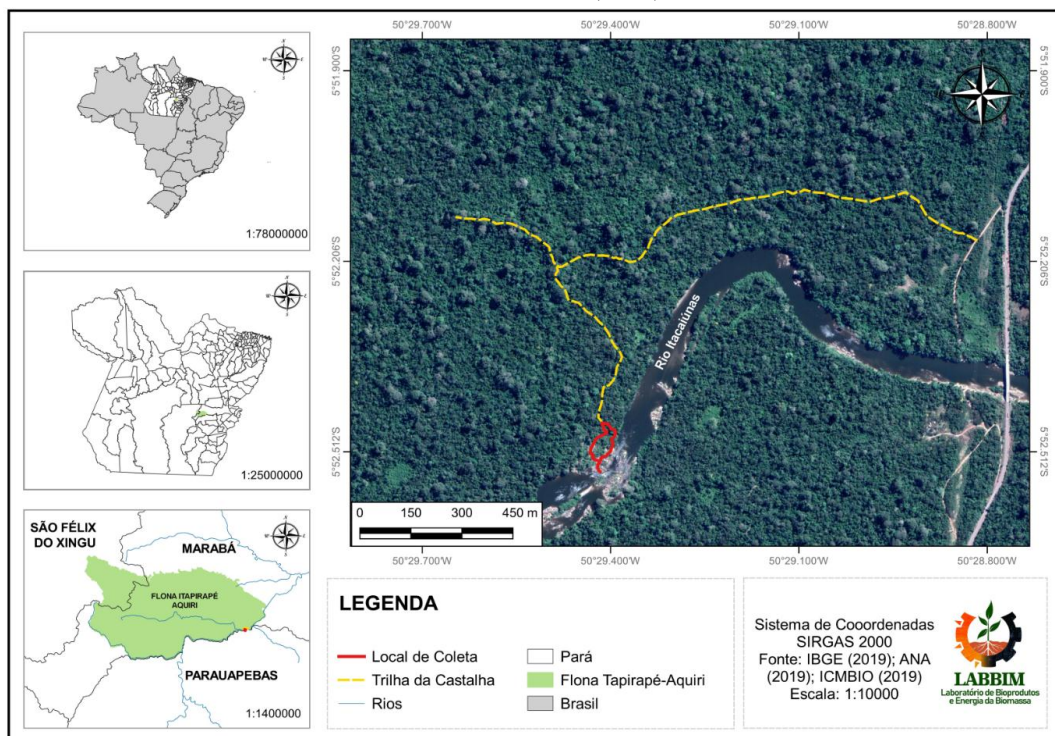


Figura 2. Mapa de localização das castanheiras na FLONA Tapirapé-Aquiri, Pará, Brasil.

Fonte: Autoral (2019).

3.2 Ensaio laboratorial - análise da qualidade das sementes de *Bertholletia excelsa*

A condução experimental se deu no Laboratório de Bioprodutos e Energia da Biomassa da Universidade do Estado do Pará (UEPA), Marabá – PA. Para realização das análises, foram utilizados 13 frutos:

A técnica principal envolveu a diluição seriada e plaqueamento em superfície de meio de cultivo sólido.

A metodologia de diluição seriada foi utilizada a fim de se obter formas puras, de morfotipos dos microrganismos, que podem ser encontrados, em pequenas quantidades nas três regiões do fruto.

Após o período de incubação, todas as placas foram avaliadas quanto ao número de ufc/g por diluição e os dados foram convertidos para ufc/g de amostra. Além disso, os isolados dos diferentes morfotipos por região do fruto analisada, com base nas características macroscópicas do crescimento da colônia fúngica (formato, tamanho e pigmentação).

3.3 Isolamento e cultura de microorganismos (fungos e bactérias)

O isolamento da comunidade fúngica foi realizado a partir de 13 ouriços aleatoriamente classificados de A a M, sendo 3 regiões do fruto (superfície externa do ouriço, superfície externa da castanha e amêndoas), considerando o fator de diluição. Todos os procedimentos realizados em triplicata.

a) Isolamento da comunidade fúngica e bacteriana da superfície externa do fruto

O isolamento da comunidade microbiana da superfície externa dos ouriços foi realizado com 13 ouriços selecionados aleatoriamente e classificados de A à M. Inicialmente os ouriços foram lavados em água corrente em abundância, imersos em solução de hipoclorito 2% por 1 minuto e enxaguado em água corrente para a eliminação da comunidade epifítica contaminante. Em seguida cada ouriço foi depositado em um saco plástico esterilizado, contendo 400ml de solução salina estéril (cloreto de sódio – NaCl a 0,85%) e agitados manualmente por 5 minutos. Em condições assépticas, foi realizada a diluição seriada até a 10^{-4} . Foram semeados 100µL das diluições 10^{-10} , 10^{-8} e 10^{-3} em meio BDA (ágar batata dextrose, pH $5,8 \pm 0,2$ + 300 mg/L para o cultivo de fungos filamentosos) e também em AN (ágar nutriente, pH

7,0±0,2 + 100 mg/L Manfil para cultivo de bactérias) em triplicata e incubados a 28°C por 6 dias.

b) Isolamento comunidade de microrganismos da superfície externa da semente

Para o isolamento dos microrganismos associados à superfície externa das sementes, todas as castanhas dos ouriços (A à M) foram lavadas em água corrente, em seguida repetiu-se o procedimento de isolamento como descrito acima. As diluições utilizadas foram 10^{-6} , 10^{-4} e 10^{-2} nas mesmas condições de cultivo.

c) Isolamento da comunidade microbiana associada às amêndoas

A última etapa de isolamento foi realizada com as amêndoas. Inicialmente foi definida a média do peso total de sementes por ouriço e definida a amostragem de amêndoas por ouriço, sendo este número 8 sementes por ouriço. Em seguida realizou-se a desinfecção superficial das sementes através da lavagem com água e detergente neutro, seguida de enxágue em água corrente.

Na sequência, as sementes foram imersas em hipoclorito 2% por 5 minutos e enxaguadas com água destilada estéril. Para a abertura das sementes e obtenção das amêndoas utilizou-se de um alicate e uma faca (ambos devidamente esterilizados). As amêndoas foram novamente pesadas em condições estéreis e em seguida suspensas em 400mL de solução salina estéril (NaCl 0,85%) e agitadas manualmente por 5 minutos. Em condições assépticas, foi realizada a diluição seriada até a 10^{-5} . Foram semeados 100µL das diluições 10^{-5} e 10^{-3} em meio BDA (ágar batata dextrose, pH 5,8 ± 0,2 contendo 300 mg/L do antibiótico Cefalexina) em triplicata e incubados a 28°C por 6 dias.

Após o período de incubação, todas as placas foram avaliadas quanto ao número de ufc por diluição e os dados foram convertidos para ufc/g de amostra. Além disso, foram purificados os diferentes morfotipos por região do fruto analisada, com base nas características macroscópicas do crescimento da colônia fúngica (formato, tamanho e pigmentação).



Figura 3. Procedimentos metodológicos: A. ouriço em saco plástico estéril com salina (assepsia), B. diluição seriada C. semeio, utilizando alça de Drigalsky D. cultivo em estufa bacteriológica **Fonte:** Autorial (2020).

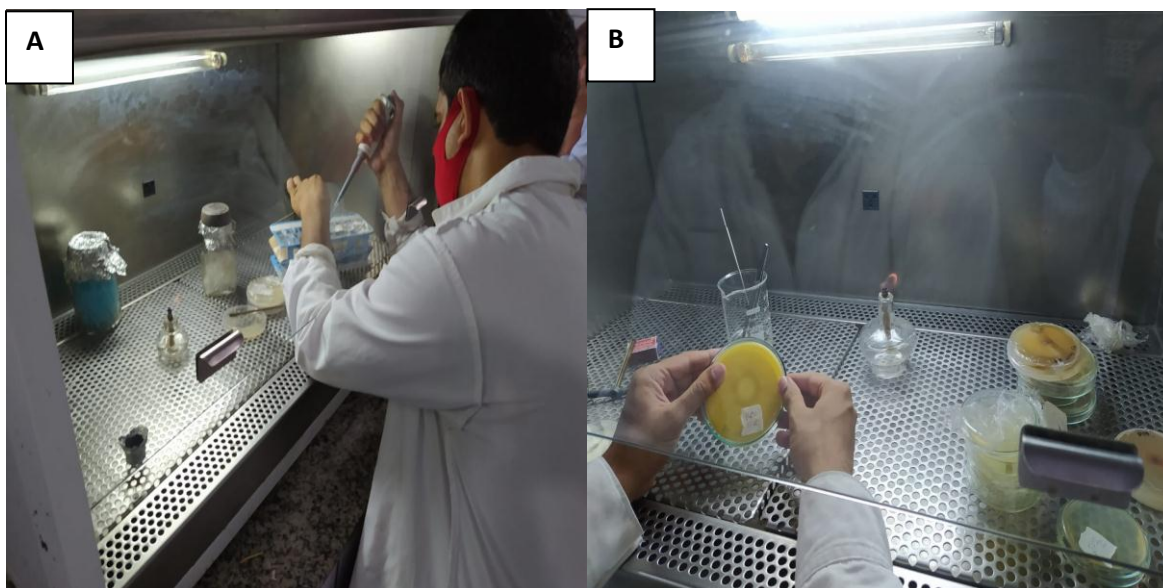


Figura 4: Cultivo de Fungos A. Repicagem, etapa de aplicação de antibiótico em uma placa contendo B.D.A para crescimento de fungo; B. Análise da Placa contendo fungo, visando evitar algum tipo de contaminação.

Fonte: Autorial, 2020

d) Confirmação de morfotipos de microorganismos

A técnica do microcultivo consiste em cultivar o microrganismo diretamente sob a lamínula, e assim obter melhor resultados na visualização do arranjo do micélio, das estruturas reprodutivos e esporos. A técnica auxilia na microscopia dos diferentes

morfotipos purificados com o objetivo de investigar a presença do mesmo morfotipo nas diferentes regiões do fruto (ouriço, semente e amêndoa)

Observação: Não foi possível ainda a realização da etapa de microscopia eletrônica, devido a Instituição UEPA (Universidade do Estado do Pará), até momento não permitir acesso à sala de microscopia, para realização desta etapa da pesquisa, devido a impossibilidade de acompanhamento da parte técnica desse laboratório da instituição, por isso este ainda permanece inativos devido a pandemia, as amostras estão armazenadas em glicerol, aguardando, o retorno das atividades para inicialização do micro cultivo em lamínula, portanto as amostras só estão no aguardo da liberação deste espaço para finalização desta etapa.

e) Descrição dos Morfotipos encontrados

Para a descrição macroscópica dos fungos foram utilizados os seguintes critérios: forma da colônia (puntiforme, circular, filamentosa e irregular), superfície da colônia (cotonosa, granulada e lisa), margem da colônia (ondulada, lobada e filamentosa), coloração (verso e reverso) e aspecto (seco e úmido) (Quadro 1).

Na descrição microscópica dos fungos os critérios utilizados para descrição foram: Hifa (septada, cenocítica), pigmentação (hialina e demácea), espessura da hifa (espessa e delgada), corpo de frutificação (blástico, esporângeo e tálico), esporo (conídeo e artroconídeo), formato do esporo (estérico, ovalado e alongado e arranjo dos esporos (isolados e em cadeias).

Observação: Para bactérias só haverá sugestão de gênero através de análise de microscópio eletrônico, procedimento ainda não realizado devido, a impossibilidade de acesso ao laboratório de microscopia, devido a pandemia.

Quadro 1. Critérios para descrição macro e microscópica dos fungos isolados se *Bertholletia excelsa* da FLONA Tapirapé-Aquiri, Pará, Brasil.

Descrição Macroscópica		Descrição Microscópica	
Critérios	Variações	Critérios	Variações
Forma da colônia	Puntiforme	Hifa	Septada
	Circular		Cenocítica
	Filamentosa	Pigmentação da hifa	Hialina
	Irregular		Demácea
Superfície da colônia	Cotonosa	Espessura da hifa	Espessa
	Granulada		Delgada
	Lisa	Corpo de frutificação	Blástico
Margem da colônia	Lisa		Esporângio
	Ondulada	Tálico	
	Lobada	Esporo	Conídio
	Filamentosa		Artroconídio
Coloração	Verso	Formato do esporo	Esférico
	Reverso		Ovalado
Aspecto	Seco		Arranjo dos esporos
	Úmido	Isolados	
			Cadeias

Fonte: Autoral (2019).

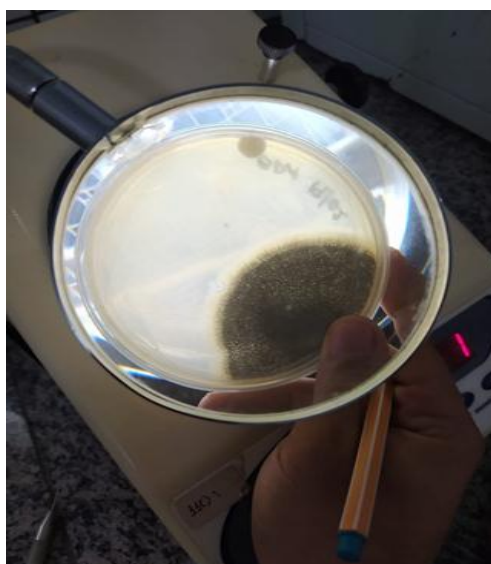


Figura 5: Identificação macroscópica para fungo filamentosso do gênero *Penicillium*.

Fonte: Autoral, 2020

4. Resultados

4.1 Morfologia de frutos e sementes

a) Frutos: Cápsula poricida simples, indeiscente, orbicular, em corte transversal apresenta-se arredondada, não estipitada. Pedúnculo em tons castanhos, homócromo, opaco, glabro, com retículos transversais. Fruto estenocárpico, subgloboso. Exocarpo castanho escuro, opaco, reticulado, glabro, fibroso; mesocarpo castanho claro, homócromo, mais espesso que o exocarpo, glabro, fibroso; endocarpo castanho escuro, semelhante ao exocarpo, opaco, rugoso, glabro, cartáceo, levemente fibroso e septado.

b) Sementes: (a) Descrição externa: estenospérmica; triangular angulosa; trisseriada; base, margem e ápice angulosos. Constituída por duas camadas de tegumento: a testa, mais externa, em tons castanhos, opaca, rugosa, glabra e lígnea; e a camada mais interna, o tégmen, é membranoso e castanho mais escuro que a testa. Hilo em depressão, subapical, grande, oblongo, rafe rígida e saliente, em tons castanhos escuros e homocroma. (b) Descrição interna: embrião atípico, triangular, conferruminado, não havendo distinção de cotilédones, eixo hipocótilo-radícula e plúmula.

Todas as descrições morfológicas dos frutos e sementes foram realizadas com base no trabalho de Santos et al. (2006).

Cavalcante (1996) refere-se ao fruto de *Bertholletia excelsa* como uma cápsula do tipo pixídio incompleto. Já Müller (1995) classifica-o como cápsula indeiscente. Oliveira e Daly (2001) classificam o fruto da castanha-do-pará como secundariamente indeiscente, devido ao diâmetro da abertura do fruto ser menor que o diâmetro da semente. O fruto de *Bertholletia* é uma cápsula poricida simples, indeiscente (por não liberar as sementes espontaneamente), de acordo com a classificação de Barroso et al. (1999), devido às características morfológicas do fruto dessa espécie.

4.2 Morfotipos isolados

O isolamento microbiano dos frutos de castanheira da FLONA do Tapirapé-Aquiri demonstrou que o número de ufc/g de bactérias foi maior na região da semente ($6,0 \cdot 10^3$), comparado às regiões ouriço ($4,8 \cdot 10^4$) e amêndoa ($3,5 \cdot 10^4$) as quais não diferiram entre si. A comunidade de fungos filamentosos foi mais numerosa na região do ouriço ($8,0 \cdot 10^3$), porém não diferiu estatisticamente da região amêndoa ($2,3 \cdot 10^3$).

Gráfico 1. Contagem de ufc/g nas regiões do fruto:

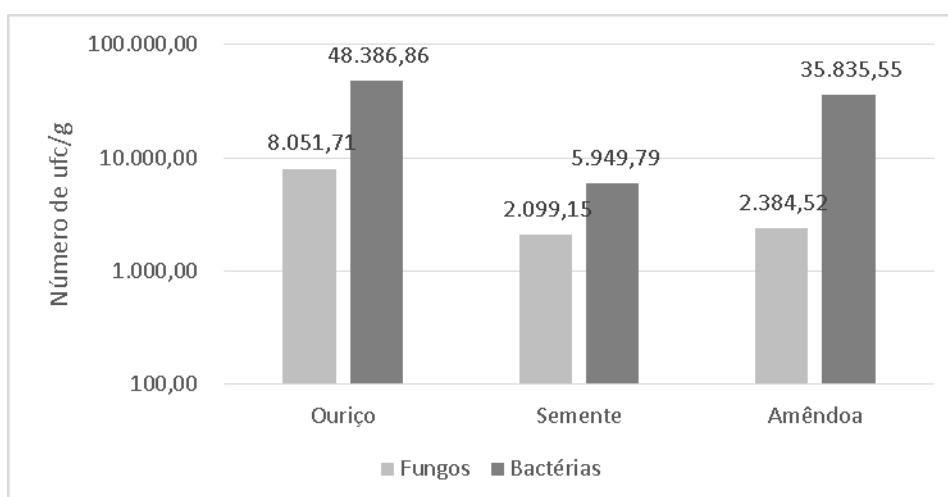


Gráfico 1. Contagem de ufc/g de microrganismos nas 3 regiões do fruto.

Fonte: Autoral, 2020.

Tabela 1. Teste de Tukey para o número de UFC nas regiões do fruto:

	Ouriço	Semente	Amêndoa
	Nº de ufc/g		
Bactérias	$4,8 \cdot 10^{4b}$	$6,0 \cdot 10^{3a}$	$3,5 \cdot 10^{4b}$
Coef. Var.	10,3	13	8,3
Fungos	$8,0 \cdot 10^{3a}$	$2,0 \cdot 10^{3b}$	$2,3 \cdot 10^{3ab}$
Coef. Var.	14	12	9,3

Tabela 1. As letras iguais na linha não diferem pelo teste de Tukey com $p < 0,05$.

Fonte: Autoral, 2020

A diversidade fenotípica foi decrescente do ouriço em direção a amêndoa. Foram isolados no total 29 morfotipos fúngicos e 34 morfotipos bacterianos, considerando as três regiões avaliadas.

Tabela 2. Diversidade fenotípica microbiana nos frutos de castanha da FLONA do Tapirapé-Aquiri.

Região do fruto	Fungo filamentoso	Bactéria
Ouriço	10	13
Semente	11	12
Amêndoa	8	9

Total isolado: 63

Legenda: O – Ouriço, S – Semente, A – Amêndoa.

Fonte: Autoral (2020).

A técnica delineada para a quantificação e isolamento da comunidade microbiana associada ao fruto foi eficiente para obtenção dos tipos morfológicos. A contagem de ufc/g de fungos filamentosos e é compatível com dados disponíveis na literatura assim como é observada para a contagem bacteriana. Os gêneros fúngicos *Aspergillus sp* e *Penicillium sp* observado macroscopicamente foram os mais frequentes com associação aos frutos de castanha-do-Brasil e encontrados nas três regiões do fruto avaliadas. O gênero *Fusarium sp* ocorreu em menor diversidade manifestando-se apenas 1 vez na região da semente.

Pacheco et al. (2010), analisando a microbiota em amêndoas de castanha do Brasil oriunda do município de Manaus (AM) também obtiveram a predominância de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, considerando-os gêneros nativos da microflora de castanheira. Em estudos com amêndoas de castanha-do-brasil, os gêneros mais frequentemente isolados foram *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*; além de *Acremonium*, *Poecilomyces*, *Absidia*, *Thichoderma*, entre outros (CASTRILLÓN; PURCHIO, 1988; BAYMAN et al., 2002, COSTA et al., 2009; PACHECO et al., 2010).

Os morfotipos fúngicos isolados por região foram registrados na Coleção de Referência de Microorganismos do Laboratório de Bioprodutos e Energia da Biomassa da UEPA sob os códigos FFT001 a BACT0A9 (Tabela 7) e foram descritos macroscopicamente (imagens representadas pela Figura do procedimento realizado 8 -A a O).

Quadro 2. Coleção de Referência de Microorganismos do Laboratório de Bioprodutos e Energia da Biomassa da UEPA:

1	T 0	Ouriço	Fungo	FFT001	33	T 0	Semente	Fungo	FFT0S10
2	T 0	Ouriço	Fungo	FFT002	34	T 0	Semente	Fungo	FFT0S11
3	T 0	Ouriço	Fungo	FFT003	35	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S1
4	T 0	Ouriço	Fungo	FFT004	36	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S2
5	T 0	Ouriço	Fungo	FFT005	37	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S3
6	T 0	Ouriço	Fungo	FFT006	38	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S4
7	T 0	Ouriço	Fungo	FFT007	39	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S5
8	T 0	Ouriço	Fungo	FFT008	40	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S6
9	T 0	Ouriço	Fungo	FFT009	41	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S7
10	T 0	Ouriço	Fungo	FFT0010	42	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S8
11	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT001	43	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S9
12	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT002	44	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S10
13	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT003	45	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S11
14	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT004	46	T 0	Semente	Bactéria	BACT0S12
15	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT005	47	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A1
16	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT006	48	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A2
17	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT007	49	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A3
18	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT008	50	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A4
19	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT009	51	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A5
20	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT0010	52	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A6
21	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT0011	53	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A7
22	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT0012	54	T 0	Amêndoa	Fungo	FFT0A8
23	T 0	Ouriço	Bactéria	BACT0013	55	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A1
24	T 0	Semente	Fungo	FFT0S1	56	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A2
25	T 0	Semente	Fungo	FFT0S2	57	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A3
26	T 0	Semente	Fungo	FFT0S3	58	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A4
27	T 0	Semente	Fungo	FFT0S4	59	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A5
28	T 0	Semente	Fungo	FFT0S5	60	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A6
29	T 0	Semente	Fungo	FFT0S6	61	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A7
30	T 0	Semente	Fungo	FFT0S7	62	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A8
31	T 0	Semente	Fungo	FFT0S8	63	T 0	Amêndoa	Bactéria	BACT0A9
32	T 0	Semente	Fungo	FFT0S9					

Total isolado

63

Fonte: Autoral (2020).

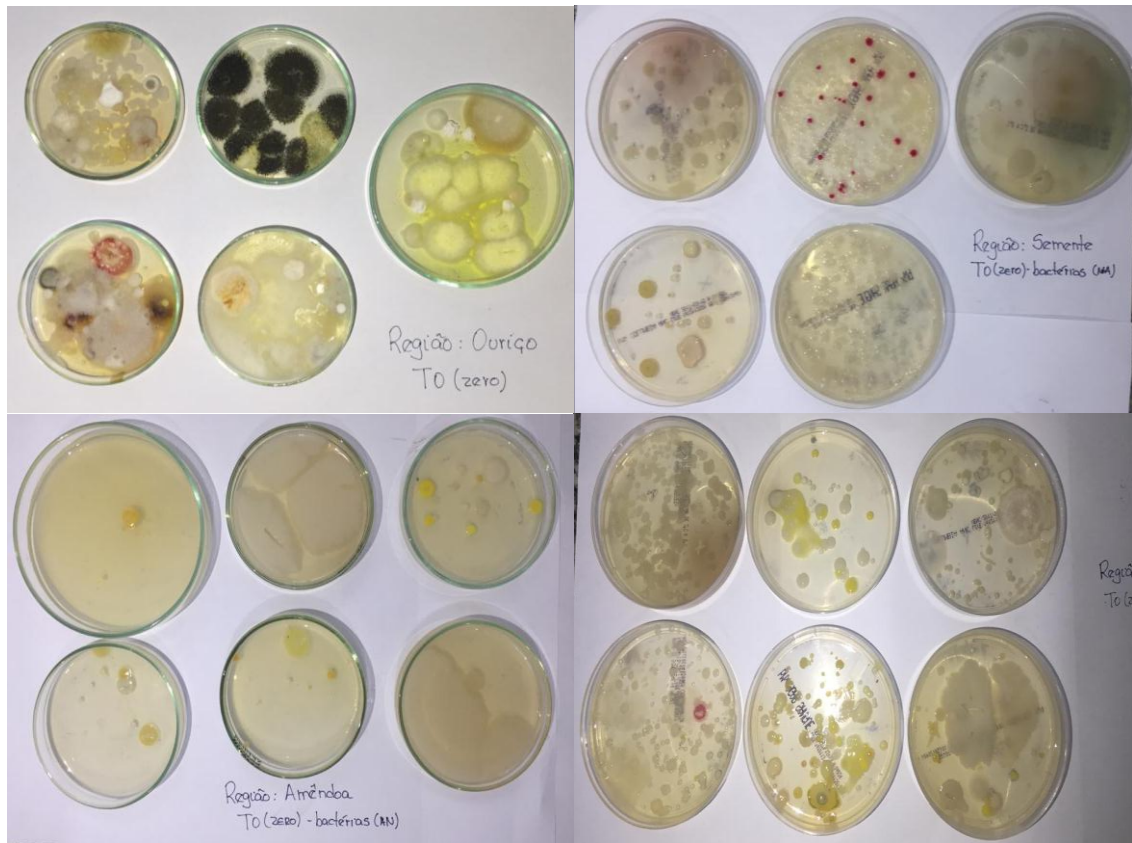


Figura 5. Placas contendo bactérias para contagem de ufc/g por amostra

Fonte: Autoral, 2020

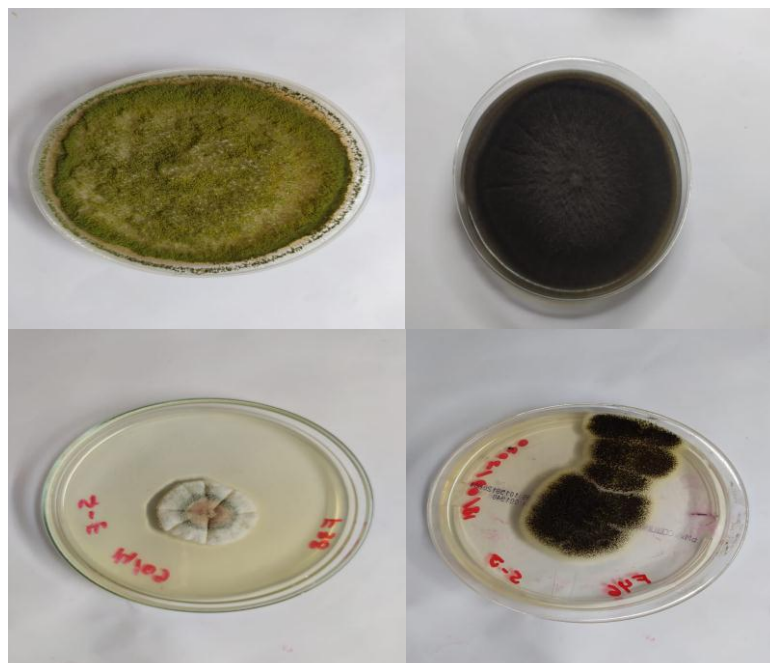


Figura 6. Placas contendo fungos filamentosos para contagem de ufc/g por amostra

Fonte: Autoral, 2020



Figura 7. Estoque de Microrganismos: A. Placas contendo os microrganismos estocados;
B. Conferência das placas.
Fonte: Autoral, 2020.

5. Discussão e Conclusões

A contagem de log de unidades de colônia por grama de amostra para Bactérias e Fungos não diferiu estatisticamente nas regiões da semente e amêndoa, porém diferiu no ouriço o que pode ser confirmado pela maior diferença de Coef. Var. encontrada. Esse fato pode está relacionado a questão da parte externa do fruto, está muito mais exposta ao meio comparado as outras regiões tornando a região que possui maior diversidade morfotipos e também em número de número de ufc/g (unidade formadora de colônia/grama), o que a torna suscetível a proliferação de diversos microrganismos, que não são comumente encontrados nas outras duas regiões mais internas também estudadas.

A castanha do Brasil é considerada um produto orgânico resultante do extrativismo da região Amazônica e não se faz uso de defensivos químicos para adubação e controle de pragas tornando a extração ambientalmente correta (ANDRADE, 2010). No entanto, se tem pouco controle dos padrões de qualidade devido a sua cadeia produtiva possuir baixo nível tecnológico, de manuseio e manejo da matéria-prima (LEITE, 2014).

As castanhas são bastante apreciadas nos mercados interno e externo, possuem elevado teor de lipídios e proteínas que juntamente com as condições climáticas da região amazônica na época de colheita (caracterizadas por temperatura média de 30°C e umidade relativa do ar em torno de 97%), aliadas às deficiências no processo de produção, são fatores que favorecerem o desenvolvimento de fungos produtores de micotoxinas, que são metabólitos secundários produzidos por algumas linhagens de fungos que aceleram a deterioração da castanha e podem impactar de forma negativa na saúde animal e humana (MARTINS; MARTINS 2011, BENNETT; KLICH 2003; HUSSEIN; BRASEL 2001; COSTA et al., 2009; MAZIERO; BERSOT 2010; GIORDANO, 2009).

As condições supracitadas propiciam o cultivo natural de fungos e bactérias dentre outros organismos. Presume-se que os ouriços ainda nas árvores são alvos de ataque (aves, roedores, prossímios e macacos) os quais podem deixar inóculos microbianos de fezes, regurgitações, saliva e mesmo do solo com suas patas, e também insetos, que contribuem para a riqueza da microbiota (ALMEIDA et al., 2009).

Um dos grandes problemas da exploração extrativista da castanha do Brasil está no sistema de coleta empregado, devido às questões de contaminação por bactérias e

fungos (SOUZA et al., 2008; BORÉM et al.,2009). Após a coleta, os ouriços muitas vezes são armazenados de forma indevida, sendo depositados em locais descobertos e em contato direto com o solo, propiciando a entrada de água no fruto, dessa forma, o teor de umidade presente no mesmo é elevado, favorecendo o desenvolvimento dos microrganismos e prejudicando a qualidade das sementes (SOUZA et al., 2004).

6. Conclusões

(a) Foram isolados 63 morfotipos ao todo, Foram isolados no total 29 morfotipos fúngicos e 34 morfotipos bacterianos, considerando as três regiões avaliadas.

(b) Todos os morfotipos isolados foram incluídos na Coleção de Referência de Fungos do Laboratório de Bioprodutos e Energia da Biomassa da UEPA.

(c) O isolamento microbiano demonstrou que o número de ufc/g de bactérias foi maior na região da semente ($6,0.10^3$), comparado às regiões ouriço ($4,8.10^4$) e amêndoa ($3,5.10^4$) as quais não diferiram entre si. A comunidade de fungos filamentosos foi mais numerosa na região do ouriço ($8,0.10^3$), porém não diferiu estatisticamente da região amêndoa ($2,3.10^3$). A diversidade fenotípica foi decrescente do ouriço em direção a amêndoa.

7. Recomendações para o manejo

A utilização de métodos para detecção de fungos e bactérias em sementes de florestais, visando o controle da qualidade de sementes e mudas produzidas, é estratégica para dificultar a introdução e disseminação de patógenos, e auxiliar no desenvolvimento de formas de combate de patógenos, que acometem as sementes. Carneiro (1986), afirma que os maiores problemas ligados às doenças ocorrem durante a germinação e formação de mudas em viveiro e, geralmente, são causados por microrganismos.

A qualidade fisiológica e sanitária é um dos mais importantes aspectos na produção de mudas, pois os microrganismos podem causar anormalidades e lesões nas plântulas, bem como deterioração de sementes, e identificar a causa do patógeno é o primeiro passo, para desenvolvimento de protocolos de desinfestação de agentes patogênicos e assim contribuir para programas de germoplasma e reflorestamento.

O reflorestamento por exercer importante função na proteção dos recursos hídricos e na recuperação de áreas degradadas, pode ser considerado como uma alternativa viável, do ponto de vista ecológico (TONINI; ARCO VERDE, 2004). Entre os principais critérios utilizados na seleção de espécies para reflorestamentos estão a adaptação em relação ao local de crescimento e a elevada produtividade (LAMPRECHT, 2000).

A castanheira da Amazônia é uma espécie promissora para a formação de sistemas agroflorestais (SAFS) e um importante componente para reabilitação de áreas abandonadas e degradadas na Amazônia Central (COSTA et al., 2009). Para estes mesmos autores, a espécie obteve valores significativos para as variáveis morfométricas, crescimento em altura, DAP, e produção volumétrica, confirmando um excelente desempenho silvicultural.

De acordo com Evangelista et al. (2013), cerca de 95% da produção total de castanha é oriunda de castanhais nativos, os quais passam por constante ameaça devido ao desmatamento. Para o autor, castanhais cultivados podem ser considerados como uma alternativa viável para o reflorestamento de áreas degradadas de pastagens, recomposição de reserva legal ou de cultivos anuais, ao lado de outras espécies florestais, a exemplo dos sistemas integrados de produção lavoura-pecuária-floresta.

Diante do cenário de desflorestamento na Amazônia e da necessidade de selecionar plantas e, em particular espécies arbóreas, que apresentem bom desempenho de crescimento em áreas degradadas, de modo que agreguem potencial produtivo as áreas a serem restauradas, investigou-se a espécie *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl., pertencente à família das Lecythydaceae (MORI, 1992). Verificou-se, na literatura especializada, que a mesma possui elevado valor econômico e apresenta boas características de produção em áreas de floresta nativa e altas taxas de crescimento, quando plantada sob sistemas agroflorestais ou povoamentos homogêneos (TONINI et al., 2008; COSTA et al., 2009).

A metodologia para cultivo de *B. excelsa* em larga escala foi desenvolvida por Müller e colaboradores na Embrapa Amazônia Oriental, na cidade de Belém, na década de 1980, (MÜLLER et al., 1980; MÜLLER, 1981). Existem plantios de castanheira em Sistemas Agroflorestais (SAFs) e em áreas contínuas de monocultivo de larga escala (CAVALCANTE et al., 2012).

Atualmente vem sendo discutida a economicidade do plantio de castanheiras em monocultivos, em SAFs ou na recomposição de Áreas de Reserva Legal e de Preservação Permanente, seja em pé franco ou com enxertia, devido a boa forma do fuste e a desrama natural, além de apresentar rusticidade, tolerância a luz e crescimento relativamente baixo (HOMMA et al., 2014; SALMAN et al., 2008; SOUZA et al., 2008). Com isso, o plantio da castanha-do-brasil tem sido estimulado, principalmente como componente agroflorestal para programas de reflorestamento, a fim de reincorporar áreas degradadas ao processo produtivo (COSTA et al., 2009).

8. Agradecimentos

Ao meu orientador André Luís Macedo Vieira, pelas contribuições necessárias ao enriquecimento do projeto, como também pela dedicação e atenção no decorrer do trabalho, minha sincera gratidão.

A toda equipe da base avançada da FLONA do Tapirapé-Aquiri de Marabá e Parauapebas em especial: Paloma Cristina Bezerra Campos e Vitória dos Santos Banina.

A toda equipe do LABBIM em especial Alisson Rangel Albuquerque, Milena Pupo Raimam.

Aos meus amigos e Bolsistas PIBIC/ICMBio Gleysla Gonçalves, Luana de Carmim pelo apoio prestado no desenvolvimento do projeto.

A empresa Salobo Metais S.A, subsidiária da Vale S.A, pois a origem dos recursos financeiros para elaboração do projeto é proveniente de compensação ambiental, coordenada pelo ICMBio junto a FUNTEC.

Ao ICMBio e CNPq por todo o suporte estrutural e técnico para execução deste trabalho.

Ao laboratório de Bioprodutos e Energia da Biomassa da Universidade do Estado do Pará pelo suporte durante as análises morfométricas e de teor de umidade.

9. Citações e referências bibliográficas

- ALMEIDA, S. S.; SOUSA, D. G.; DO VALE, N. C. **História natural, ecologia e técnicas de manejo em castanhais nativos do sul do Amapá.** In: KANZAKI, Luis Isamu Barros (Org.). Desenvolvimento sustentável em áreas de extrativismo da castanha-do-brasil no sul do Amapá. Belém: Banco da Amazônia, 2009. p. 11-48.
- ANDRADE, R. G. D. **Classificação das castanhas do Brasil por origem e seleção de suas amêndoas utilizando visão computacional.** 88 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 88 p.
- BARROS, A. C.; VERÍSSIMO, A. **A Expansão madeireira na Amazônia: impactos e perspectivas para o desenvolvimento sustentável no Pará.** Belém: Imazon, 2002. 166p.
- BAYMAN, P.; BAKER, J. L.; MAHONEY, N. E. *Aspergillus* on tree nuts: incidence and associations. **Mycopathologia**, v. 155, n. 3, p. 161-169, 2002.
- BAYMAN, P.; BAKER, J.; MAHONEY, N. *Aspergillus* on tree nuts. **Mycopathologia**, v.155, p.161-169, 2000.
- BENNETT J. W.; KLICH M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.
- BORÉM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. **Domesticação E Melhoramento: Espécies Amazônicas**, Viçosa, p. 297-317,2009.
- BORGES, P. **Do valor alimentar da castanha-do-pará.** Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura. Serviço de Informação Agrícola (Estudos Técnicos 39), 1967. 38 p.
- BORGES, F. A.; TONINI, H.; BALDONI, A. B.; BOTELHO, S. C. C. Tamanho da amostra para estimar produção de sementes de castanheiras nativas. **Nativa**, v.4, n.3, p.166-169, 2016.
- BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; GILBERTI, S.; CARVALHO, M. A. C.; Caracterização morfológica de sementes de castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess - Lecythydaceae). **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v.5, n.1, p.111-116, 2007.
- CAMARGO, I. P. **Estudos sobre a propagação da castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl.)**. 1997. 127 p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.
- CAMARGO, F. F.; COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; ROA, R. A. R.; RODRIGUES, N.B.; SANTOS, L.V.; FREITAS, A.C.A. Variabilidade genética para caracteres morfológicos de matrizes de castanha-do-brasil da Amazônia Mato-Grossense. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 40, n. 4, p. 705-710, 2010.
- CAMARGO, I. P.; DE CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Avaliação da deterioração em sementes de castanheira-do-brasil pelo teste do tetrazólio. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 32, n. 8, p. 835-839, ago. 1997
- CASTRILLON, A L.; PURCHIO, A. Fungos contaminantes e produtores de aflotoxinas em Castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*, Humb. e Bonpl 1808). **Acta Amazônica**, v. 18, n. 3-4, p. 173-183, 1988.
- CASTRO. F. **Coleta intensiva de castanha-do-pará é insustentável, diz estudo.** São Paulo: Agência USP de Notícias. 2003.

CAVALCANTE, M. C.; OLIVEIRA, F.; MAUÉS, M. M.; FREITAS, B. M. **Pollination requirements and the foraging behavior of potential pollinators of cultivated Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Bonpl.)**. Trees in Central Amazon Rainforest. *Psyche: A Journal of Entomology*, Article ID 978019, 2012.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 6. ed. Belém: CNPq, Museu Paraense Emílio Goeldi. 1996. 279 p. (Coleção Adolpho Ducke).

CLAY, J. W.; CLEMENT, C. R. **Selected species and strategies to enhance income generation from Amazonian forests**. Rome: Food and agriculture organization of the united nations, 1993.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Proposta de preços mínimos, produtos da sociebioidiversidade, v. 2, safra 2015/2016, Brasília, 2015.

CORNEJO, F. **Historia natural de la castaña (*Bertholletia excelsa* Humb & Bonpl.) y propuestas para su manejo**. Asociación para la Conservación de la Cuenca Amazónica (ACCA) Puerto Maldonado, Peru. 2003, 52p.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do brasil e da exótica cultivada**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, v. 2, p. 129-131, 1931.

COSTA, A. K. F, FREIRE, F. D. C. O., VIEIRA, I. G. P., ANDRADE, J. A., MENDES, F.N.P. Fungos associados à castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl) e ao amendoim (*Arachishypogaea* L.) comercializados em Fortaleza (Ceará). **Ciênc. Agron.**, v. 40, n. 3, p. 455-60. 2009.

COUTINHO, V. F.; BITTENCOURT, V. B.; COZZOLINO, S. M. F. **Effect of Supplementation with Brazil Nuts (CP, *Bertholletia Excelsa* HBR), in Capoeira Players on Selenium (Se) Concentration and Glutathione Peroxidase's Activity (GSH-Px, EC 1.11. 1.9)**. In: Trace Elements in Man and Animals 10. Springer, Boston, MA, p. 405-406. 2002.

CRUZ, E. **História de Belém**. 1ª edição. Belém, Editora da UFPA, vol. 2. ([1970] 1992). Ruas de Belém: significado histórico de suas denominações. 1973.

CYMERYS, WADT L.; KAINER K.; ARYOLO V.; (2005) Castanheira: *Bertholletia excelsa* H. & B. In Shanley P, Medina G (eds). **Frutíferas e plantas úteis à vida amazônica**. Belém, CIFOR, Imazon, 300p.

DA LIMA J. R.; M. D. J. **Manual de procedimentos para análise de sementes florestais**. 2010.

DA ROCHA, V. D.; ROSSI, A. A.; COCHEV, J. S. Caracterização biométrica de frutos e sementes de castanha-do-brasil na Amazonia Marogrossense. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 13, n. 24, p. 186-196, 2016.

DE CAMARGO, I. P.; DE CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. D. G. G. C. Avaliação da deterioração em sementes de castanheira-do-brasil pelo teste de tetrazólio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 8, p. 835-839, 1997.

DE SOUZA, J.M.L.D., DA CUNHA C.C.B., LEITE, F.M.N., & SOUZA, L.M. **Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da Castanha do Brasil**, 2004.

DOS SANTOS, J. C.; SENA, A.L.D. S.; DA ROCHA, C. I. L. **Competitividade brasileira no comércio internacional de castanha-do-brasil**. In: Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em

anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 48., 2010, Campo Grande, MS. Tecnologias, desenvolvimento e integração social. Campo Grande, MS: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2010. SOBER., 2010.

DUMONT, E.; DE PAUW, L.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Speciation of Se in *Bertholletia excelsa* (Brazilnut): A hard nutto crack? **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 684–692, 2006.

EMBRAPA. **Manual de segurança e qualidade para altura de castanha-do-Brasil**. Informação tecnológica, campo PAS, 61 p, (qualidade e segurança dos alimentos), 2004.

EVANGELISTA, J. S.; NEVES, E. D. S.; AZEVEDO, V. R.; WADT, L. D. O. **Germinação de sementes de castanheira para produção de mudas**. In *Embrapa Acre-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA ACRE, 1., 2013, Rio Branco. Anais... Rio Branco: Embrapa Acre, 2013.

FIGUEIREDO, F. J. C.; CARVALHO, J. E. U. **Avaliação de características recalcitrantes de sementes de castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1994. 17p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 154).

FIGUEIREDO, F. J. C.; CARVALHO, J. E. U.; FRAZÃO, D.A.C. **Nível crítico de umidade e seus efeitos sobre a emergência de plântulas de castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1990 p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 113).

FREIRE, F. D. C. O.; KOZAKIEWICZ, Z.; Paternson, R. M. Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts. **Mycopathologia**, Netherlands, v. 149, p.13-19, 2000.

FREITAS, S. C.; Gonçalves, E. B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I. Meta-análise do teor de selênio em castanha-do-Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 54–62, mar. 2008.

GIORDANO, B. N. E. **Efeito do ozônio sobre a microflora e aflatoxinas durante a armazenagem de castanha-do-Brasil com casca (*Bertholletia excelsa* H.B.K)**. 2009. 193 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos), Centro de Ciências Agrária da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2009. 193 p.

GONÇALVES, J. S.; FERRACIN, L. M.; CARNEIRO VIEIRA, M. L.; IAMANAKA, B. T.; TANIWAKI, M. H.; PELEGRINELLI FUNGARO, M. H. 2012. Molecular analysis of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Brazil nuts. **World journal of microbiology & biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1817–25. 2012a.

GONÇALVES, J. S.; FERRACIN, L. M.; CARNEIRO VIEIRA, M. L.; IAMANAKA, B. T.; TANIWAKI, M. H.; PELEGRINELLI FUNGARO, M. H. 2012. Molecular analysis of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Brazil nuts. **World journal of microbiology & biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1817–25. 2012b.

HOMMA, A. K. O.; MENEZES, A. J. E. A.; MAUÉS, M. M. Castanheira-do-Pará: os desafios do extrativismo para plantios agrícolas. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Ciências Naturais**, v. 9, n. 2, p. 293-306, 2014.

HONTANAYA, C.; MECA, G.; LUCIANO, F. B.; MAÑES, J.; FONT, G. Inhibition of aflatoxin B1, B2, G1 and G2 production by *Aspergillus parasiticus* in nuts using yellow and oriental mustard flours. **Food Control**, v. 47, p. 154-160, 2015.

HUBER, J. Matas e madeira amazônicas. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 6, p. 91-225, 1910.

HUSSEIN, H. S.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v.167, n. 2, p:101-34, 2001.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Estados @**. IBGE, Brasília. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/estadosat>>. Acesso em 20 out. 2018.

KAINER, K. A.; WADT, L. H. O.; STAUDHAMMER, C. L. Explaining variation in Brazil nut fruit production. **Forest Ecology and Management**, v. 250, n. 3, p. 244 255, out. 2007.

KAINER, K.A.; MALAVASI, M.D.; DURYEY, M.L.; SILVA, E. Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) seed characteristics, preimbibition and germination. **Seed Science and Technology**, v.27, p.731-745, 1999.

LAMPRECHT, H. **Silvicultura nos trópicos: ecossistemas florestais e respectivas espécies arbóreas possibilidades e métodos de aproveitamento sustentado**. Dt. Ges. Für Techn. Zusammenarbeit, Rossdorf, República Federal da Alemanha. 2000, 343 p.

LEITE, G.A. **Modelagem conceitual em biossensor para detecção de aflatoxina em castanha-do-Brasil**. 101 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Mecatrônicos), Faculdade de Tecnologia da Universidade de Brasília, Brasília. 2014. 101 p.

LIMA, L.M.D.S.; WADT, L.D.O.; DA SILVA, L.M.; RIGAMONTE A. V.; & MAUÉS, M. **Biologia reprodutiva de castanheira (Bertholletia Excelsa Bonpl) em um plantio no Acre**. Anais do III Congresso Latino Americano de Ecologia, 10 a 13 de setembro de 2009, São Lourenço – MG.

LOCATELLI, M.; VIEIRA, A. H.; BENTES - GAMA, M. M.; FERREIRA, M. G. R.; MARTINS, E. P.; SILVA-FILHO, E. P.; SOUZA, V. F.; MACEDO, R. S. **Cultivo da castanha - do - Brasil em Rondônia**. Sistemas de Produção 7. Embrapa Rondônia, Porto Velho, 2005.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**, 4. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, v.1. 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4 ed. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, v. 1. 2002. 384 p.

MAPA. **Projeto de monitoramento da castanheira do Brasil**. Relatório de atividades, Brasília, 2002, 60 p.

MAPA. **Caderno de boas práticas para o extrativismo sustentável orgânico da castanha-do-Brasil**. Série: Cadernos de Boas Práticas para o Extrativismo Sustentável Orgânico. Brasília: MAPA/ACS, 2014. 41 p.

MATOS, F.S.; NUNES, Y.R.F.; SILVA, M.A.P.; OLIVEIRA, I.S.; Variação biométrica de diásporos de buriti (*Mauritia flexuosa* L.f. – Arecaceae) em veredas em diferentes estágios de conservação. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.24, n.4, p. 833-842, 2014.

MARTINS, L. M. O.; MARTINS, W. M. O. Parâmetros de qualidade de amêndoas de castanha-do-Brasil comercializadas em Rio Branco, Acre. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v.5, n.2, p. 542-549. 2011.

MASSI, F. P.; VIEIRA, M. L. C.; SARTORI, D.; PENHA, R. E. S.; MUNHOZ, C.D. F.; FERREIRA, J. M.; IAMANAKA, B. T.; TANIWAKI, M. H.; FRISVAD, J.C.; FUNGARO, M. H. P. Brazil nuts are subject to infection with B and G aflatoxin-producing fungus, *Aspergillus pseudonomius*. **International journal of food microbiology**, v.186, p.14-21, 2014.

MAUÉS, M. M. **Reproductive phenology and pollination of the Brazil nut tree (*Bertholletia excels* Humb. & Bonpl. Lecythidaceae) in Eastern Amazonia**. IN: Kevan P & Imperatriz Fonseca VL (Eds.) – Pollinating Bees – The Conservation Link Between Agriculture and Nature – Ministry of Environmente, Brasília. p. 245-254. 2002.

MAUÉS, M. M.; KRUG, C.; WADT, L.; DRUMOND, P.; CAVALCANTE, M.; DOS SANTOS, A. C. S. **A castanha-do-brasil: avanços no conhecimento das práticas amigáveis à polinização**. Fumbio Rio de Janeiro. 2015.

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.

MELLO, F. R.; SCUSSEL, V. M. Characteristics of in shell brazil nuts and their relationship to aflatoxin contamination: criteria for sorting. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 9305-9310, 2007.

MOORE, R. P. Interpretation of color differences in tetrazolium testing. **Seed Technologist News**, Louisville, v.44, n.3, p.22-24, 1972.

MOORE, R.P. Tetrazolium test for diagnosing causes for seed weariness and for predicting and understanding performance. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lincoln, v.56, p.70-73, 1966.

MORI, S. A. **The Brazil nut industry-past, present and future**. Sustainable harvest and marketing of rain forest products, p. 241-251, 1992.

MORI, S. A.; PRANCE, G. T. **Taxonomy, ecology and economic botany of the Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, Humb & Bonpl: Lecythidaceae)**. In: Prance, G. T.; Balick, M. J. (Eds.). *New directions in the study of plants and people: research contributions from the Institute of Economic Botany*. New York: The New York Botanical Garden, v. 8, p.130-150, 1990.

MÜLLER, C. H. **A cultura da castanha-do-brasil**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Coleção Plantar, 23). Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental, Brasília, 1995. 65 p.

MÜLLER, C. H., RODRIGUES, G. T.; BOLTEN, A. B. **Castanha-do-brasil: resultados de pesquisa**. Embrapa Amazônia Oriental-Séries anteriores (INFOTECA-E), 1980.

MÜLLER, C. H. **Castanha-do-brasil: estudos agronômicos**. Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E), 1981.

MÜLLER, C. H. **Quebra da dormência da semente e enxertia em castanha-do-brasil**. Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E), 1982.

MÜLLER, C. H. **A cultura da castanha-do-brasil**. Brasília: EMBRAPA-SPI. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental. 1995. 65 p. (Coleção Plantar, 23).

NASCIMENTO, W.M.O.; Carvalho, J.E.U.; Müller, C.H. **Castanha-do-Brasil**. Jaboticabal, FUNPE, 2010. 41p.

- NELSON, B. W.; ABSY, M. L.; BARBOSA, E. M.; PRANCE, G. T. Observations on flower visitors to *Bertholletia excelsa* H.B.K. and *Couratari tenuicarpa* A.C. Sm. (Lecythidaceae). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 15, p. 225-234, 1985.
- OLIVEIRA, D.M.D.; ARNEZ, R.I.T.; MOREIRA, P.N.C.; SANTOS, Z.T.; BORIS, M.; RODRIGUES, M. **A importância comercial da castanha-da-Amazônia para a região norte e o mercado externo**. Campo Grande, 2010.
- OLIVEIRA, A. A.; DALY, D. C. 2001. **Florestas do Rio Negro**. São Paulo: Editora Científica, Companhia das Letras.
- OLSEN, M.; JOHNSON, P.; MOLLER, T.; PALADINO, R.; LINDBLAD, M. *Aspergillus nomius*, an important aflatoxin producer in Brazil nuts? **World Mycotoxin Journal**, v. 1, n. 2, p. 123-126, 2008.
- PACHECO, A. M.; LUCAS, A.; PARENTE, R.; PACHECO, N. Association between aflatoxin and aflatoxigenic fungi in Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Ciência Tecnologia de Alimentos Campinas**, v. 30, n. 2, 330–334, 2010.
- PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the amazon basin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, n. 26, p. 11087–11092, Dec. 2007.
- PACHECO, A.; SCUSSEL, V. M. **Castanha-do-Brasil: da floresta tropical ao consumidor**. Florianópolis: Editograf, 2006.
- PERES, C. A.; BAIDER, C. Seed dispersal, spatial distribution and population structure of Brazil nut trees (*Bertholletia excelsa*) in southeastern Amazonia. **Journal of Tropical Ecology**, v. 13, n. 1, p: 595-616, 1997.
- PERES, C. A.; BAIDER, C.; ZUIDEMA, P. A.; WADT, L. H.; KAINER, K. A.; GOMES-SILVA, D. A.; SALOMÃO, R. P.; SIMÕES, L. L.; FRANCIOSI, E. R.; CORNEJO, V. F.; GRIBEL, R.; SHEPARD, G. H. JR.; KANASHIRO, M.; COVENTRY, P.; YU, D. W.; WATKINSON, A. R.; FRECKLETON, R. P. Demographic threats to the sustainability of Brazil nut exploitation. **Science**, New York, v. 302, n. 5653, p. 2112- 2114, 2003.
- RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **Lancet**, Londres, v. 379, n. 9822, p. 1256–1268, mar. 2012.
- REIS, G.G. dos; CARVALHO, LEU.; MÜLLER, C.H. **Calibração do teste de tetrazólio para sementes de castanha-do-brasil**. Belém: Embrapa-CPATU, 1979. 9p. (Embrapa-CPATU. Comunicado Técnico, 17).
- RIBEIRO, F. V.; WANDELLI, E. V. **Castanheira (*Bertholletia excelsa*) em sistemas agrofloretais implantadas em áreas de pastagens degradadas na Amazônia Ocidental**. In: Embrapa Amazônia Ocidental-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 4. 2002, Ilhéus. Sistemas agrofloretais, tendência da agricultura ecológica nos trópicos: sustento da vida e sustento de vida. Anais. Ilhéus: CEPLAC: UESC, 2002. 1 CD-ROM.
- RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M. D.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCOPIO, L. C. **Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônica Central**. Manaus: INPA. DFID, 1999. 816 p.

ROSSETTO, C. A. V.; SILVA, O. F.; ARAÚJO, A. E. D. S. Influência da calagem, da época de colheita e da secagem na incidência de fungos e aflatoxinas em grãos de amendoim armazenados. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 309-315, 2005.

SALMAN, A. K. D.; ZAMORA LÓPEZ, G. F.; BENTES-GAMA, M. M.; SOARES, C. M. A. **Espécies arbóreas nativas da Amazônia ocidental brasileira com potencial para arborização de pastagens**. Embrapa Rondônia-Documentos (INFOTECA-E), 2008.
SALOMÃO, R. P.; ROSAN, A.; NEPSTAD, D. C.; BAKK, A. Estrutura populacional e breve caracterização ecológica – econômica de 108 espécies arbóreas da floresta amazônica brasileira – I. **Interciência**, v. 20, n. 1, p. 20-29, 1995.

SALOMÃO, R. P.; ROSA, N. A.; CASTILHO, A.; MORAIS, K. A. C. Castanheira do Brasil recuperando áreas degradadas e provendo alimento e renda para comunidades da Amazônia Setentrional. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v.1, p.65-78, 2006.

SANTOS C. C. M.; LOPES, M. R. V.; KASSEKI, S, Y. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializadas na região de São José de Rio Preto/SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.**, v. 60, n. 2, p. 153-157, 2001.

SANTOS, J. U. M.; BASTOS, M. N. C.; CARVALHO, A. C. M. *Bertholletia excelsa* Humboldt & Bonpland (Lecythidaceae): aspectos morfológicos do fruto, da semente e da plântula. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, Belém, v. 1, n. 2, p. 103-112, mai-ago. 2006.

SANTOS, F.S.; PAULA, R.C.; SABONARO, D.Z.; VALADARES, J. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 82, p.163-173, 2009.

SANTOS, O. V. **Estudo das potencialidades da castanha-do-Brasil: produtos e subprodutos**. 2012 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutico). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 214 p.

SERRANO, R. O.P. **Regeneração e estrutura populacional de *Bertholletia excelsa* H.B.K. em áreas com diferentes históricos de ocupação no vale do Rio Acre (Brasil)**. 59 f. 2005. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos Florestais). Universidade Federal do Acre. Rio Branco, 2005. 59p.

SILVA, A. N. D.; COELHO, M. D. F. B.; GUIMARÃES, S.C.; DE FIGUEIREDO, M.C. Germinação de sementes de castanheira do para armazenadas em areia úmida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.11, p.1431-1436, nov. 2009.

SMITH, J. E.; ROSS, I.C. **The toxigenic *Aspergillus***. In: SMITH, J. E.; HENDERSON, S. *Mycotoxins and Aniaml Foods*. London: CRC Press, 1991. P. 31-61.

SOUZA, C. R. D. **Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Humn. & Bonpl.)**. Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos (INFOTECA-E), 2008.

SOUZA, E. C. D.; AZEVEDO, V. R.; WADT, L. D. O.; CAMPOS, T. D. **Análise do sistema reprodutivo de *Bertholletia excelsa***. In: Embrapa Acre-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 10. 2015, Rio Branco. Anais... Rio Branco: Rio Branco: Ifac; Conif, 2015.

TONINI H.; KASMINSK, P. E.; DA COSTA, P. Relação da produção de sementes de castanha-do-Brasil com características morfométricas da copa e índices de competição. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.43, n.11, p.1509-1516, nov. 2008.

TONINI, H.; ARCO-VERDE, M. **O crescimento da Castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) em Roraima.** Comunicado Técnico 05, Embrapa Roraima, Boa Vista. 2004.

TRIVED, M. R.; CORNEJO, F. H.; WATKINSON, A. R. Seed predation on brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) by macaws (Psittacidae) in Madre de Dios, Peru. **Biotropica**, v. 36, n. 1, p. 118-122. 2004.

VAUGUAN, J.C. **The structure and utilization of oil seeds.** London: Chapman & Hall Ltd., 1970. 279p.

VIEIRA, A. H.; BENTES-GAMA, M.M.; ROCHA, R.B.; LOCATELLI, M.; & OLIVEIRA, A. **Fenologia reprodutiva de castanha-do-Brasil, (*Bertholletia excelsa* Humb. Bompl.),** em Porto Velho/RO. Embrapa Rondônia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 2009.

WADT, L. H. O.; KAINER, K. A.; GOMES-SILVA, D. A. P. Population structure and nut yield of a *Bertholletia excelsa* stand in Southwestern Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v.211, n. 1, p: 371 384, 2005.

WADT, L. H. O.; KAINER, K. A.; NUNES, G. M.; LEITE, F. M. N. E. **Manejo da castanha (*Bertholletia excelsa*) para a produção de castanha-do brasil.** Rio Branco: Secretaria de Extrativismo e Produção Familiar. 42p il. Seprof documento técnico, n. 3. 2005.

WADT, L. H. O.; KAINER, K. A. **Domesticação e melhoramento de castanha.** In: Borém, A.; Lopes, M.T.G.; Clement, C.R. (Ed.). Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, p. 301-321, 2009.

ZUFFO, A.M.; ANDRADE, F.R.; ZUFFO JÚNIOR, J.M.; Caracterização biométrica de frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.) na região leste de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, n.4, p.463-471, 2014.

ZUIDEMA, P.A.; BOOT, R.G.A. Demography of the Brazil nuttree (*Bertholletia excelsa*) in the Bolivian Amazon: impact of seed extraction on recruitment and population dynamics. **Journal of Tropical Ecology**, v.18, p.1-31, 2002.