

Manaus, AM / Dezembro, 2024

Uso de óleos essenciais no tratamento de *Piscinoodinium pillulare* nas brânquias de tambaqui

Francisco Célio Maia Chaves e Edsandra Campos Chagas

Pesquisadores, Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.



Introdução

O parasito dinoflagelado *Piscinoodinium pillulare* é o agente causador da doença do veludo ou doença de ferrugem, assim chamada devido ao brilho dourado com aspecto aveludado na pele dos peixes, bem como à coloração esverdeada a amarronzada na região lombar e próximo ao opérculo dos peixes afetados (Noga, 2010). Esse parasito possui ciclo de vida direto, formato de saco ou pera, presença de cloroplasto entre as suas organelas e um disco de fixação composto de rizocistos, que penetram nas células dos hospedeiros (Noga, 2010). Altas infecções por *P. pillulare* em peixes podem promover o aumento da produção de muco, bem como alterações branquiais, que incluem hiperplasia e fusão das lamelas branquiais, além de inflamação, hemorragias e necrose dessas células, levando a um quadro grave de problemas respiratórios e com registros de mortalidade (Martins et al., 2015; Maciel-Honda et al., 2023).

O parasito *P. pillulare* é reconhecido mundialmente pelos surtos provocados, em grande escala, nas pisciculturas comerciais de peixes continentais e apresenta baixa especificidade de hospedeiro, com registros em diferentes espécies de peixe, tais como: tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), carpa comum (*Cyprinus carpio*), “jelawat” (*Leptobarbus*

hoevenii), “lampam jawa” (*Puntius gonionotus*), “Arulius barb” (*Dawkinsia arulius*) (Shaharom-Harrison et al., 1990; Martins et al., 2001; Sudhagar et al., 2022). No Brasil, a ocorrência de *P. pillulare* é registrada principalmente em peixes redondos, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), a pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e seus híbridos, com taxas de mortalidade entre 40 e 90% (Martins et al., 2001; Sant’Ana et al., 2012; Ferreira Júnior et al., 2018; Maciel-Honda et al., 2023).

Na criação de tambaquês, vários surtos de *P. pillulare* já foram registrados, com descrição de sinais clínicos e alterações comportamentais (Martins et al., 2001; Ferreira Júnior et al., 2018; Gomes et al., 2018; Arbildo-Ortiz et al., 2020; Maciel-Honda et al., 2023). Dentre os fatores predisponentes para ocorrência de alta infecção, destacam-se a elevada densidade de estocagem e transparência na água dos tanques de cultivo, além do excesso de matéria orgânica no fundo dos tanques e redução de temperatura (Maciel-Honda et al., 2023). Entretanto, apesar dos efeitos deletérios nos peixes infectados, esse parasito tem sido frequentemente negligenciado (Sudhagar et al., 2022), particularmente na geração de informações sobre protocolos de controle da piscinodinfase em tambaquês.

Para o controle de *P. pillulare* são recomendados banhos terapêuticos com cloreto de sódio (Arbildo-Ortiz et al., 2020), extrato seco de *Terminalia catappa* (Claudiano et al., 2009) e óleo essencial de *Mentha piperita* L. (Ferreira et al., 2019). Há ainda alguns estudos com outros compostos químicos para o controle do parasito, mas estes não são regulamentados para o uso na aquicultura, e o uso off-label pode levar à resistência dos patógenos, supressão imunológica nos peixes, à poluição ambiental e a problemas de segurança alimentar, uma vez que resíduos químicos podem se depositar na carne do peixe (Maciel-Honda et al., 2023).

Desta forma, se fazem necessárias novas alternativas aos tratamentos convencionais que sejam ambientalmente corretos, com menor custo e de baixo risco aos manipuladores (Zhu, 2020). Neste sentido, estudos têm investigado o potencial dos óleos essenciais (OEs) no tratamento de *P. pillulare*; e dentre as plantas promissoras, com base em sua atividade biológica, destacam-se as espécies *Aloysia triphylla* (L'Herit), *Lippia gracilis* e *Piper aduncum*.

A espécie *A. triphylla* pertence à família Verbenaceae, possui os nomes populares: cidrão, erva-cidreira, cidró, cidró-pessegueiro, erva-luísia e cidrozinho. É um arbusto grande, de 2 a 3 m de altura, muito ramificado e ereto. Suas folhas têm uso na medicina tradicional como energético, infusão para insônia, ansiedade, analgésico, sedativo, entre outros (Lorenzi; Matos, 2008). Na aquicultura, investigou-se seu potencial anestésico, como aditivo alimentar, antioxidante, antibacteriano e antiparasitário em peixes (Zeppenfeld et al., 2014, 2017; Santos et al., 2017a, 2017b; Junior et al., 2018; Parodi et al., 2020; Brandão et al., 2021).

Lippia gracilis pertence à família Verbenaceae, conhecida como alecrim-da-chapada ou alecrim-de-tabuleiro, e é caracterizada por ser arbusto caducifólio, ramificado, com caule quebradiço, de até 2 m de altura. É bastante usada, na medicina popular, como antisséptico e antimicrobiano e para tratar problemas respiratórios. Na aquicultura, o óleo essencial de *L. gracilis* apresenta eficácia antiparasitária (Oliveira et al., 2024) e bactericida (Sutili et al., 2015).

Piper aduncum pertence à família Piperaceae, popularmente conhecida como pimenta-de-macaco, erva-de-soldado, pimenta-longa, pimenta-de-fruto-ganchoso, aperta-ruão, tapa-buraco e falso-jaborandi (Lorenzi; Matos, 2008). O óleo essencial de *P. aduncum* é considerado fonte para o desenvolvimento de novos produtos naturais, com grande potencial antiparasitário, incluindo antiprotozoário e anti-helmíntico em peixes (Bakkali et al., 2008; Corral et al., 2018).

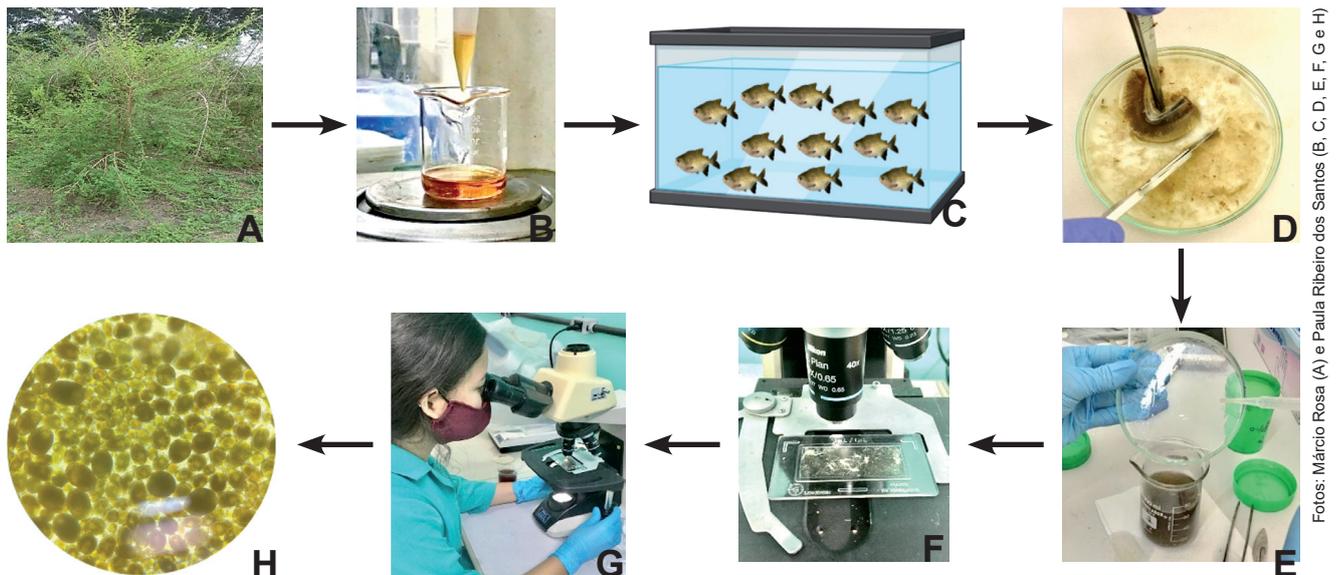
Esta publicação apresenta a descrição de um protocolo de banhos terapêuticos para o controle da doença parasitária causada por *P. pillulare* em tambaquis, com emprego de óleos essenciais de plantas da biodiversidade brasileira ou aclimatadas. Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética de Experimentação Animal da Embrapa Amazônia Ocidental (protocolo nº 02/2019).

Preparo dos óleos essenciais e aplicação em banhos terapêuticos

Folhas e inflorescências das plantas de *A. triphylla*, *L. gracilis* e *P. aduncum* foram coletadas do setor de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas, Brasil. Após secagem do material, em temperatura ambiente, iniciou-se a extração dos óleos essenciais desses materiais pelo método de hidrodestilação, em aparelho de Clevenger, por cerca de 2 horas (Majolo et al., 2016). Para o preparo das concentrações de OE a serem utilizadas no experimento, os óleos foram diluídos em álcool etílico, na proporção de 1:10 (Chagas et al., 2015).

Os OEs extraídos foram primeiramente utilizados para avaliar a tolerância do tambaqui a eles, e, com base nessas informações, estabeleceram-se as concentrações que foram utilizadas no protocolo de banhos terapêuticos, a saber: OE de *A. triphylla*, 40 e 50 mg L⁻¹; OE de *L. gracilis*, 20 e 30 mg L⁻¹; e OE de *P. aduncum*, 10 e 20 mg L⁻¹.

Antes da aplicação dos banhos terapêuticos, foram capturados 20 tambaquis e realizadas a visualização dos sinais clínicos e a análise de suas brânquias em microscópio óptico, para confirmação da infecção natural por *P. pillulare*. Confirmada a infecção, os tambaquis (n = 230, 272,43 ± 84,08 g; 25,38 ± 2,73 cm) foram transferidos para tanques com o volume fixo de 60 L. Nesses tanques foram adicionados os óleos essenciais de *A. triphylla*, *L. gracilis* e *P. aduncum* nas concentrações preparadas anteriormente. Os banhos terapêuticos com os OEs foram conduzidos durante 15 minutos, por 3 dias seguidos, em intervalo de 24 horas. Após a aplicação do terceiro banho com OEs, foram coletadas as brânquias de 30 peixes por tratamento (dez peixes de cada repetição), e estas foram fixadas em formol 5% para posterior quantificação de *P. pillulare*, em câmara de Sedgewick Rafter, com auxílio de microscópio óptico (Figura 1). Com esses resultados, calculou-se a eficácia dos banhos terapêuticos com OEs de *A. triphylla*, *L. gracilis* e *P. aduncum*, de acordo com recomendações de Oliveira et al. (2024).



Fotos: Márcio Rosa (A) e Paula Ribeiro dos Santos (B, C, D, E, F, G e H)

Figura 1. Etapas do protocolo de banhos terapêuticos para controle da piscinodiníase em tambaquis: (A e B) obtenção e preparo dos óleos essenciais; (C) aplicação dos óleos essenciais em banhos terapêuticos; (D e E) coleta e raspagem das brânquias (F e G) e contagem do parasito; (H) visualização do parasito em microscópio.

Eficácia dos banhos terapêuticos para controle da piscinodiníase

Antes da aplicação dos banhos terapêuticos, todos os peixes estavam parasitados por *P. pillulare*, ou seja, com 100% de prevalência. Quanto à abundância média, isto é, o número médio de parasitos nos peixes, esta foi de $18.600 \pm 1.837,38$. Os peixes apresentavam o corpo com coloração esverdeada a amarronzada, com pontos hemorrágicos na superfície corporal e intensa produção de muco (Figura 2).

Após a aplicação dos banhos terapêuticos com os OEs em tambaquis, observou-se boa eficácia desses óleos no controle da piscinodiníase. As eficácias obtidas foram: 63,8% e 65,5% com *L. gracilis* nas concentrações de 20 e 30 mg L⁻¹; 71,8% e 78,4% com *A. triphylla* nas concentrações de 10 e 20 mg L⁻¹ e 80,7% e 83,3% com *P. aduncum* nas concentrações de 10 e 20 mg L⁻¹, respectivamente (Figura 3). Adicionalmente, não foram observadas mortalidades dos peixes durante ou após a aplicação dos banhos terapêuticos com OEs.

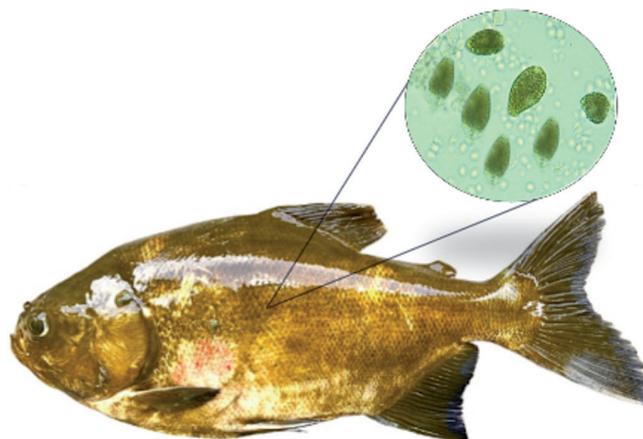


Figura 2. Exemplar de tambaqui com sinais clínicos de piscinodiníase, representados por alterações no padrão de coloração e hemorragias na superfície corporal. Em destaque, imagens do parasito *Piscinoodinium pillulare* sob microscopia.

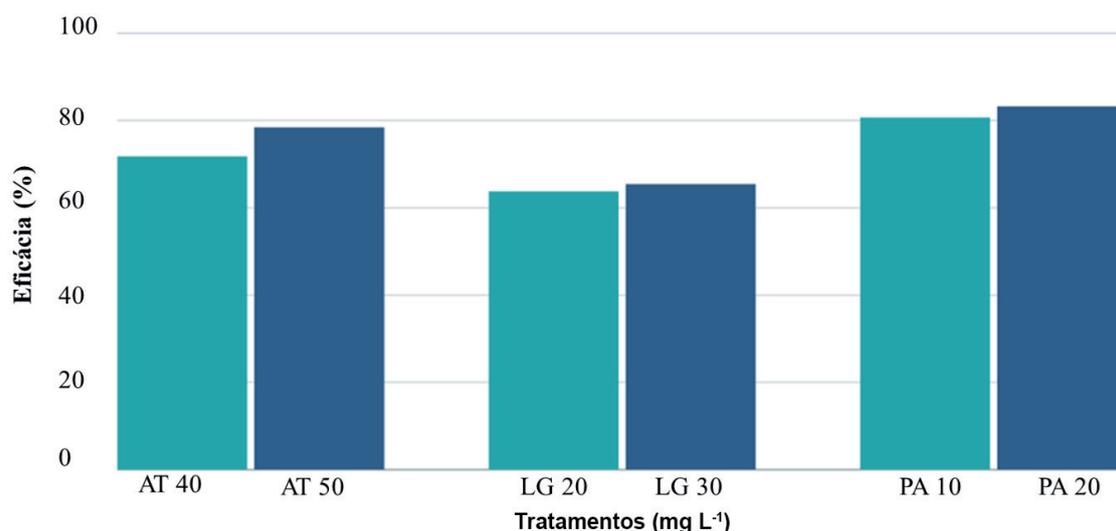


Figura 3. Eficácia dos óleos essenciais de *Aloysia triphylla* (AT), *Lippia gracilis* (LG) e *Piper aduncum* (PA) no controle de *Piscinoodinium pillulare* em tambaqui.

Diante dos crescentes relatos de ocorrência de piscinodiniase em tambaquis (Maciel-Honda et al., 2023), alternativas para o tratamento dessa parasitose, que incluem o uso de OEs, são de grande importância, visto que alguns dos tratamentos com produtos químicos, descritos na literatura, apresentam efeitos nocivos à saúde humana e ao ambiente aquático (Tavares-Dias, 2018). Portanto, neste documento, descreve-se um protocolo eficaz para o tratamento da piscinodiniase, contribuindo assim com ações para promoção da aquicultura sustentável.

As ações implementadas neste trabalho possuem alinhamento com os seguintes Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030: 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável, 8 – Trabalho Decente e Crescimento Econômico, 9 – Indústria, Inovação e Infraestrutura, 12 – Consumo e Produção Responsáveis e 14 – Vida na Água.

Considerações finais

A aplicação do protocolo de banhos terapêuticos, com duração de 15 minutos por 3 dias consecutivos, em intervalos de 24 horas, com os óleos essenciais de *A. triphylla*, *L. gracilis* e *P. aduncum*, é recomendável para uso na piscicultura, uma vez que reduz consideravelmente a infecção por *P. pillulare* em tambaquis, com eficácias variando de 63,8 a 83,8% e sem efeitos adversos do tratamento na saúde dos peixes. Dentre os OEs avaliados, o de *P. aduncum* alcançou os melhores índices de eficácia (80,7% e 83,3%) em concentrações mais baixas (10 e 20 mg L⁻¹), o que pode ser mais atrativo para a composição

de um produto bioativo para o controle da piscinodiniase em tambaquis.

Referências

- ARBILDO-ORTIZ, H.; ALVEZ-ROBLEDO, J.; GUARDIA, C. C.; SOUZA, A. K. S. Primer registro de infestacion de *Piscinoodinium pillulare* (Dinoflagellida) en juveniles de *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalimidae) en cultivo semi-intensivo en Loreto, Perú. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 31, p. 1-7, 2020.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, S.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BRANDÃO, F. R.; FARIAS, C. F. S.; SOUZA, D. C. M.; OLIVEIRA, M. I. B.; MATOS, L. V.; MAJOLO, C.; OLIVEIRA, M. R.; CHAVES, F. C. M.; O'SULLIVAN, F. L. A.; CHAGAS, E. C. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 534, p. 736-275, 2021.
- CHAGAS, E. C.; MACIEL, P. O.; PORTO, S. M. de A.; MAJOLO, C.; BOIJINK, C. de L. **Protocolos para emprego de óleos essenciais no controle de monogenoides, parasitas de brânquias de peixes**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2015. 27 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 119). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144203/1/Doc-119.pdf>. Acesso em: 26 out. 2024.
- CLAUDIANO, G. S.; DIAS NETO, J.; SAKABE, R.; CRUZ, C. da; SALVADOR, R.; PILARSKI, F. Efficacy of aqueous extract of *Terminalia catapa* in tambaqui juveniles

parasitized by Monogenea and protozoan. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 625-636, 2009.

CORRAL, A. C. T.; QUEIROZ, M. N.; ANDRADE-PORTO, S. M.; MOREY, G. A. M.; CHAVES, F. C. M.; FERNANDES, V. L. A.; ONO, E. A.; AFFONSO, E. G. Control of *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Anisakidae) in juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) by the oral application of essential oil of *Piper aduncum*. **Aquaculture**, v. 494, p. 37-44, 2018.

FERREIRA, L. C.; CRUZ, M. G.; LIMA, T. B. C.; SERRA, B. N. V.; CHAVES, F. C. M.; CHAGAS, E. C.; VENTURA, A. S.; JERONIMO, G. T. Antiparasitic activity of *Mentha piperita* (Lamiaceae) essential oil against *Piscinoodinium pillulare* and its physiological effects on *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Aquaculture**, v. 512, p. 734-743, 2019.

FERREIRA JÚNIOR, J. A.; SOUSA, E. M.; ARAÚJO, D. P.; MACEDO, J. T. S. A.; PEDROSO, P. M. O. Surto de infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Trichodina* spp. em tambaquis (*Colossoma macropomum*), pirapitingas (*Piaractus brachypomus*) e tilápias (*Oreochromis niloticus*) no Distrito Federal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, p. 293, 2018.

GOMES, A. L.; COSTA, J. I.; NOVAES, M. L. F.; BERNARDINO, B. G.; BELÉM-COSTA, A. A fast and practical method for initial diagnosis of *Piscinoodinium pillulare* outbreaks: piscinootest. **Ciência Rural**, v. 48, n. 7, e20170680, 2018.

JUNIOR, G. B.; ABREU, M. S.; ROSA, J. G. S. da; PINHEIRO, C. G.; BERTA, M. H.; CARON, B. O.; BALDISSEROTTO, B.; BARCELLOS, L. J. G. *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* essential oils are anxiolytic without inducing aversiveness in fish. **Aquaculture**, v. 482, p. 49-56, 2018.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MAJOLO, C.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; BIZZO, H. R.; ROCHA, S. I. B. da; OLIVEIRA, S. R. N. de; OLIVEIRA, M. A. S. de. **Composição química e atividade antibacteriana de óleos essenciais**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2016. 32 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 126). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/153557/1/Doc-126-fechado.pdf>. Acesso em: 26 out. 2024.

MACIEL-HONDA, P. O.; SOUSA NETO, E. M.; COSTA-FERNANDES, T. O.; JESUS, F. H. R.; CHAGAS, E. C.; TAVARES-DIAS, M. First record of *Neoechinorhynchus buttnerae* and *Piscinoodinium pillulare* infection in *Colossoma macropomum* in the state of Tocantins, Brazil.

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 32, e013622, 2023.

MARTINS, M. L.; CARDOSO, L.; MARCHIORI, N.; PÁDUA, S. B. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 1-20, 2015.

MARTINS, M. L.; MORAES, J. R. E.; ANDRADE, P. M.; SCHALCH, S. H. C.; MORAES, F. R. D. *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from the northeast region of São Paulo state, Brazil: Parasitological and pathological aspects. **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, p. 639-644, 2001.

NOGA, E. J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. 2nd. ed. Ames: Iowa State University Press, 2010. p. 147-148.

OLIVEIRA, M. I. B.; BRANDAO, F. R.; TAVARES-DIAS, M.; BARBOSA, B. C. N.; ROCHA, M. J. S.; MATOS, L. V.; SOUZA, D. C. M.; MAJOLO, C.; OLIVEIRA, M. R.; CHAVES, F. C. M.; CHAGAS, E. C. Essential oils of *Ocimum gratissimum*, *Lippia grata* and *Lippia origanoides* are effective in the control of the acanthocephalan *Neoechinorhynchus buttnerae* in *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 578, Art. 740043, 2024.

PARODI, T. V.; GRESSLER, L. T.; SILVA, L. L.; BECKER, A. G.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Chemical composition of the essential oil of *Aloysia triphylla* under seasonal influence and its anaesthetic activity in fish. **Aquaculture Research**, v. 51, p. 2515-2524, 2020.

SANT'ANA, F. J.; OLIVEIRA, S. L.; RABELO, R. E.; VULCANI, V. A.; SILVA, S. M.; FERREIRA JÚNIOR, J. A. Surtos de infecção por *Piscinoodinium pillulare* e *Henneguya* spp. em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) criados intensivamente no Sudoeste de Goiás. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 121-125, 2012.

SANTOS, A. C. dos; JUNIOR, G. B.; ZAGO, D. C.; ZEPPEFELD, C. C.; SILVA, D. T. da; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B.; CUNHA, M. A. da. Anesthesia and anesthetic action mechanism of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Cymbopogon flexuosus* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 44, p. 106-113, 2017a.

SANTOS, A. C.; SUTILI, F. J.; HEINZMANN, B. M.; CUNHA, M. A.; BRUSQUE, I. C.; BALDISSEROTTO, B.; ZEPPEFELD, C. C. *Aloysia triphylla* essential oil as additive in silver catfish diet: blood response and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 62, p. 213-216, 2017b.

SHAHAROM-HARRISON, F. M.; ANDERSON, I. G.; SITI, A. Z.; SHAZILI, N. A. M.; ANG, K. J.; AZMI, T. I. Epizootics of Malaysian cultured fresh water pond fishes

by *Piscinoodinium pillulare* (Schaperclaus 1954) Lom 1981. **Aquaculture**, v. 86, n. 2-3, p. 127-138, 1990.

SUDHAGAR, A.; SUNDAR RAJ, N.; MOHANDAS, S. P.; SERIN, S.; SIBI, K. K.; SANIL, N. K.; RAJA SWAMINATHAN, T. Outbreak of parasitic dinoflagellate *Piscinoodinium* sp. Infection in an endangered fish from India: Arulius Barb (*Dawkinsia arulius*). **Pathogens**, v. 11, n. 11, Art. 1350, 2022.

SUTILI, F. J.; CUNHA, M. A.; ZIECH, R. E.; KREWER, C. C.; ZEPPENFELD, C. C.; HELDWEIN, C. G.; GRESSLER, L. T.; HEINZMANN, B. M.; VARGAS, A. C.; BALDISSEROTTO, B. *Lippia alba* essential oil promotes survival of silver catfish (*Rhamdia quelen*) infected with *Aeromonas* sp. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 1, p. 95-100, 2015.

TAVARES-DIAS, M. Current knowledge on use of essential oils as alternative treatment against fish parasites. **Aquatic Living Resources**, v. 31, p. 1-13, 2018.

ZEPPENFELD, C. C.; SACCOL, E. M. H.; PÊS, T. S.; SALBEGO, J.; KOAKOSKI, G.; SANTOS, A. C. dos; HEINZMANN, B. M.; CUNHA, M. A. da; BARCELLOS, L. J. G.; PAVANATO, M. A.; CARON, B. O.; BALDISSEROTTO, B. *Aloysia triphylla* essential oil as food additive for *Rhamdia quelen*: stress and antioxidant parameters. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, p. 1362-1367, 2017.

ZEPPENFELD, C. C.; TONI, C.; BECKER, A. G.; MIRON, D. S.; PARODI, T. V.; HEINZMANN, B. M.; BARCELLOS, L. J. G.; KOAKOSKI, J.; ROSA, J. G. S.; LORO, V. L.; CUNHA, M. A.; BALDISSEROTTO, B. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418-419, p. 101-107, 2014.

ZHU, F. A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. **Aquaculture**, v. 526, p. 735422, 2020.

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29
Estrada Manaus/Itacoatiara
69010-970 Manaus, AM
www.embrapa.br/amazonia-ocidental
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Kátia Emídio da Silva*

Secretária-executiva: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Luiz Antônio de Araújo Cruz, Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa e Maria Perpétua Beleza Pereira*

Comunicado Técnico 176

ISSN 1517-3887 / e-ISSN 2965-7636
Dezembro, 2024

Edição executiva: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Revisão de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa* (CRB-11/420)

Projeto gráfico: *Leandro Sousa Fazio*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Publicação digital: PDF



Ministério da
Agricultura e Pecuária

Todos os direitos reservados à Embrapa.