

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DIETAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ocimum basilicum* PARA PIRARUCU E
Zingiber officinale PARA TAMBAQUI E TILÁPIA DO NILO: CRESCIMENTO E
METABOLISMO**

SAMANTHA CHUNG

SALVADOR - BAHIA
AGOSTO- 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DIETAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ocimum basilicum* PARA PIRARUCU E
Zingiber officinale PARA TAMBAQUI E TILÁPIA DO NILO: CRESCIMENTO E
METABOLISMO**

SAMANTHA CHUNG

Zootecnista

SALVADOR - BAHIA

AGOSTO - 2020

SAMANTHA CHUNG

Dietas com óleos essenciais de *Ocimum basilicum* para pirarucu e *Zingiber officinale* para tambaqui e tilápia do Nilo: crescimento e metabolismo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti
Co-orientadora: Prof. Dra. Karina Ribeiro

SALVADOR - BA
AGOSTO – 2020

**Ficha catalográfica elaborada pelo sistema
Universitário de Bibliotecas (SIBI – UFBA)**

C483d Chung, Samantha

Dietas com óleos essenciais de *Ocimum basilicum* para pirarucu e *Zingiber officinale* para tambaqui e tilápia do Nilo: crescimento e metabolismo / Samantha Chung — Salvador, 2020

124 f. : il

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti

Coorientador: Prof. Dra. Karina Ribeiro

Tese (Doutorado - Programa de Pós-graduação em Zootecnia) -- Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2020.

1. Aditivo alimentar. 2. histologia. 3. Resíduos de frutas. 4. Linalol. 5. resposta metabólica I. Copatti, Carlos Eduardo. II. Ribeiro, Karina. III. Título.

CDU: 639.3.043

DIETAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ocimum basilicum* PARA PIRARUCU E *Zingiber officinale* PARA TAMBAQUI E TILÁPIA DO NILO: CRESCIMENTO E METABOLISMO

Samantha Chung

Tese defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 20 de Agosto de 2020

Salvador, de de 2020

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti
UFBA
Orientador/Presidente

Prof. Dr. Luiz Vitor Oliveira Vidal
Membro da Banca Examinadora
UFBA

Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva
Membro da Banca Examinadora
UFBA

Prof. Dr. André Luis da Cruz
Membro externo da Banca Examinadora
UFBA

Prof. Dr. Luciano Garcia
Membro externo da Banca Examinadora
FURG

Este trabalho é dedicado aos meus amados pais Isaias e Chiu Shan, pelo carinho e amor dedicados.

Aos meus queridos irmãos que tanto amo, Isaias e Susan.

À minha linda sobrinha Julliana.

À Daniel, meu esposo, pelo carinho, ajuda, atenção, paciência e amor em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu Pai todo poderoso, por me conduzir nessa trajetória e por permitir concluir mais uma etapa na minha vida.

A toda a minha família (pais, irmãos, sobrinha e esposo), que em alguns momentos difíceis mesmo que distante, estavam sempre me apoiando e incentivando a continuar nessa longa caminhada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo provimento da bolsa de Doutorado.

A Universidade Federal da Bahia – UFBA, aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos, dedicação e contribuição na minha formação profissional.

Aos membros da banca examinadora Prof. Dr. Luiz Vitor Oliveira Vidal, Prof. Dr. Rodrigo Fortes, Prof. Dr. André Luis da Cruz, Prof. Dr. Luciano Garcia pelas sugestões e críticas que foram fundamentais para enriquecer as informações nessa tese.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti, por todos os ensinamentos, paciência, total comprometimento e disponibilidade em ajudar.

A todos os colegas e integrantes do Laboratório de Estudo e Fisiologia de Fauna Aquática -LEFFA (Crislaine, Carlos Henrique, Iara, Altiery) e aos que já perteceram (Renilde e Elizângela).

A minha Co-orientadora Profa. Dra. Karina Ribeiro pela atenção, confiança e contribuição, além de permitir integrar em sua equipe, cedendo o laboratório e instalações para execução dos experimentos. Nesse mesmo sentido, aos integrantes que compõem o laboratório – Pet Conexões Água Viva (Rony, Carlos Henrique, Rosalba, Neydson, Janille e o Émerson) e aos que não fazem mais parte do laboratório mas que de alguma forma também fizeram parte e deram toda a sua contribuição na realização desse projeto

(Eulani, Débora, Djalma, Piedade e Franciele).

Ao Prof. Rodrigo Fortes por ceder as instalações para execução de um dos experimentos e ao pessoal do seu Laboratório de Nutrição e Comportamento de Peixes da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia que foram bastante prestativos nos ajudando no experimento (Charlle, Cherlle, Angela, Zé, Vanessa, Luciano).

A empresa Guaraves Alimentos, pela doação de alguns ingredientes para composição das rações.

A todos os técnicos dos laboratórios que nos ajuram nas análises: Laboratório de Farmácia (UFBA), o Laboratório de Nutrição Animal (UFRN), laboratório escola de Biomedicina (UFRN), laboratório de histologia (UFRN) e o Laboratório do Prof. André que ajudou na realização das microfotografias das lâminas histológicas.

Aos colegas de curso que foram fundamentais nessa jornada.

E finalmente, muito obrigada a todos que fizeram e fazem parte da minha caminhada!

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Página

- Figura 1. Secções histológicas transversais das vilosidades intestinais de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO), coradas em HE e PAS. Em mL kg dieta⁻¹: A: 0,0 (controle); B: 0,5; C: 1,0; D: 1,5 e; E: 2,0. Aumento: 40x. Traço indicam pinocitose; quadrado indica microvilosidades; traço tracejado indica células caliciformes; seta indica o epitélio simples colunas, fibras musculares lisas, borda em escova; círculo indica interior das vilosidades; retângulo indica a muscular da mucosa e camada submucosa, enterócitos..... 76
- Figura 2. Secções histológicas transversais de células hepáticas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO), coradas em HE e PAS. Em mL kg dieta⁻¹: A: 0,0 (controle); B: 0,5; C: 1,0; D: 1,5 e; E: 2,0. Aumento: 40x. Estrelas indicam congestão sanguíneas, Setas indicam capilares sinusoides; traços indicam vesículas no interior dos hepatócitos; quadrados indicam hepatócitos binucleados; asterisco indica necrose de hepatócitos..... 78

Capítulo 3

Efeito do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tilápia do nilo

Figura 1. Secções histológicas transversais das vilosidades intestinais de juvenis

de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale*, coradas em HE e PAS. Em mL kg dieta⁻¹: A: 0,0 (controle); B: 0,5; C: 1,0; D: 1,5 e; E: 2,0. Aumento: 40x. Traços indicam vilosidades; retângulo indica interior das vilosidades; asteriscos indicam enterócitos; seta indica borda em escova e; círculo indica células caliciformes. n = 8 peixes por tratamento..... 108

Figura 2. Secções histológicas transversais de células hepáticas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale*, coradas em HE e PAS. A) 0,0 - Controle, B) 0,5 mL kg⁻¹, C) 1,0 mL kg⁻¹, D) 1,5 mL kg⁻¹, E) 2,0 mL kg⁻¹. Aumento: 40x. Seta indica hepatócitos binucleados; estrela indica presença de ductos biliares; quadrados indicam hepatócitos com núcleo picnótico; setas indicam vesículas no interior dos hepatócitos; asteriscos indicam hepatócitos com núcleo picnótico em posição marginal; círculo indica esteatose hepática e necrose dos hepatócitos; retângulo indica congestão dos capilares sinusoidais e aumento dos linfócitos..... 110

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Óleos essenciais:

	Página
Tabela 1. Estudos envolvendo a utilização de óleos essenciais como promotores de crescimento, anestésico, toxicidade e sanidade em peixes.....	20

Capítulo 1

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* melhora o desempenho do crescimento e não altera as variáveis bioquímicas relacionadas ao estresse no pirarucu (*Arapaima gigas*)

Tabela 1. Composição química de óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> determinado via GC-MS. IRC: Índice de retenção calculado; IRL: Índice de retenção da literatura (NIST, 2008; ADAMS, 2009).....	45
Tabela 2. Desempenho (média \pm erro padrão) de juvenis de pirarucu alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de OEOb. GP = ganho de peso. CP = comprimento final. TCE = taxa de crescimento específico, é expresso em % por dia. FC = fator de condição, é expresso em $g / cm * 100$. TCA = taxa de conversão alimentar.....	49
Tabela 3. Variáveis bioquímicas plasmáticas (média \pm erro padrão) de pirarucu alimentados com dietas contendo diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> (OEOb).....	50

Capítulo 2

Óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Tabela 1. Composição química de óleo essencial de <i>Zingiber officinalis</i> determinado via cromatografia gasosa de alta resolução (NIST, 2008).....	67
Tabela 2. Composição das dietas experimentais fornecida aos juvenis de tambaqui AAC = Análise Aproximada da Composição.....	69
Tabela 3. Desempenho de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).	74
Tabela 4. Variáveis hematológicas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).	74
Tabela 5. Variáveis bioquímicas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).....	75
Tabela 6. Histomorfometria das vilosidades intestinais de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).....	77
Tabela 7. Histomorfometria das células hepáticas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).....	78

Capítulo 3

Efeito do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tilápia do nilo

Tabela 1. Composição química de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> determinado via cromatografia gasosa de alta resolução. IRL: Índice de Retenção de Literatura (NIST, 2008).....	98
Tabela 2. Composição das dietas experimentais fornecida aos juvenis de tilápia. AAC = Análise Aproximada da Composição.....	100
Tabela 3. Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).....	105
Tabela 4. Variáveis hematológicas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO)	106
Tabela 5. Variáveis bioquímicas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).....	107
Tabela 6. Histomorfometria das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).....	109
Tabela 7. Histomorfometria das células hepáticas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (OEZO).....	111

SUMÁRIO

	Página
Introdução geral.....	16
Revisão de literatura.....	19
Óleos essenciais.....	19
Mecanismos de ação.....	21
Microbiota Intestinal.....	21
Imunomoduladores.....	21
Antimicrobianos.....	23
Promotores de crescimento.....	23
Óleo essencial de manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i>).....	24
Óleo essencial de gengibre (<i>Zingiber officinale</i>).....	25
Pirarucu (<i>Arapaima gigas</i>).....	26
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	26
Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	27
Referências.....	27

Capítulo 1

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* melhora o desempenho do crescimento e não altera as variáveis bioquímicas relacionadas ao estresse no pirarucu (*Arapaima gigas*)

	Página
Resumo.....	40
Abstract.....	41
Introdução.....	42
Materiais e Métodos.....	44
Óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	44
Animais.....	45
Procedimento experimental.....	46
Desempenho de crescimento.....	47
Coleta e análise de amostra.....	47

	14
Análise estatística.....	48
Resultados.....	48
Discussão.....	50
Conclusão.....	54
Referências.....	54

Capítulo 2

Óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

	Página
Resumo.....	63
Abstract.....	64
Introdução.....	65
Material e Métodos.....	66
Óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	66
Localização, animais e condições experimentais.....	68
Dietas experimentais e desempenho zootécnico.....	68
Avaliação de crescimento.....	70
Coleta de amostras.....	70
Análises sanguíneas e plasmáticas.....	71
Análise histológica do intestino e fígado.....	72
Análise estatística.....	73
Resultados.....	73
Desempenho de crescimento.....	73
Variáveis hematológicas.....	74
Variáveis bioquímicas.....	75
Histomorfometria das vilosidades intestinais.....	76
Histomorfometria das células hepáticas.....	77
Discussão.....	79
Conclusão.....	83
Referências.....	84

Capítulo 3

Efeito do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tilápia do nilo

	Página
Resumo.....	94
Abstract.....	95
Introdução.....	96
Material e Métodos.....	97
Óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	97
Localização, animais e condições experimentais.....	99
Dietas experimentais e desempenho de crescimento.....	100
Avaliação de crescimento.....	101
Coleta de amostras.....	102
Análises sanguíneas e plasmáticas.....	102
Análise histológica do intestino e fígado.....	103
Análise estatística.....	104
Resultados.....	105
Desempenho de crescimento.....	105
Variáveis hematológicas.....	106
Variáveis bioquímicas.....	107
Histomorfometria das vilosidades intestinais.....	108
Histomorfometria das células hepáticas.....	109
Discussão.....	111
Conclusão.....	115
Referências.....	116
Considerações finais e implicações.....	125

INTRODUÇÃO GERAL

A intensificação da produção nos cultivos de peixes tem gerado um aumento na produtividade. Diante dessa situação, visando a otimização dos sistemas de criação de peixes e a busca pela máxima eficiência alimentar, piscicultores tem feito o uso de promotores de crescimento com a possibilidade de controlar agentes patogênicos e beneficiar o incremento dos índices zootécnicos.

Com a produção em densidades de estocagem elevadas visando minimizar o estresse e promover alta produtividade, são empregados aditivos sintéticos. Porém, a aplicabilidade indiscriminada pode acarretar elevado custo, bem como produzir efeitos indesejáveis nos ambientes aquáticos, como acúmulo de resíduos químicos na água ou tornando os patógenos resistentes a antimicrobianos (HARIKRISHNAN et al., 2011a; CATALAN et al., 2012).

Os aditivos sintéticos alimentares podem ser incorporados à ração tanto no momento do processamento como por técnicas como microencapsulação e spray drier, sendo classificados como ingredientes não nutritivos introduzidos na dieta, que influenciam o desempenho dos peixes e/ou a qualidade do produto final (BARROWS, 2000). Além disso, possuem diversas finalidades, como complementação de nutrientes, palatilizantes, conservantes, quimioterápicos, imunoestimulantes, antioxidantes, probióticos e prebióticos. Assim, o uso de aditivos alimentares como promotores de crescimento tem sido uma alternativa para aumentar a eficiência do uso de nutrientes dietéticos para peixes, além de minimizar as perdas e aumentar a produtividade (NRC, 2011).

Devido às restrições a aditivos sintéticos, agências internacionais sugerem seu uso de forma restritiva para fins terapêuticos. Em função disso, com a finalidade de

promoção de crescimento em peixes, a aplicação de aditivos naturais de origem vegetal como os óleos essenciais (OE) tem sido um grande potencial para serem utilizados na aquicultura devido aos seus efeitos benéficos para produção animal, como melhorias na digestibilidade e absorção dos nutrientes, além dos diversos mecanismos de ação antimicrobiana, antioxidante, imunomoduladores e imune estimulante (SANTOS et al., 2009; HARIKRISHNAN et al., 2011a; PUTRA et al., 2013; SACCOL et al., 2013).

O óleo essencial de manjeriço *Ocimum basilicum* (OEOb) na dieta de peixes como em carpa comum, tambacu e tilápia do Nilo, tem demonstrado benefícios no desempenho, ação antimicrobiana, anestésico e antioxidantes, como descrito em estudos anteriores (AMIRKHANI e FIROUZBAKHS, 2015; SNOUSSI et al., 2016; LIMMA-NETTO et al., 2017; DE SOUZA et al., 2019b).

O uso do gengibre em pó ou na forma de extrato já foi demonstrado como eficaz na suplementação de dietas para peixes (NYA e AUSTIN, 2009; TALPUR et al., 2013). Nesse sentido, efeitos semelhantes no desempenho, no sistema imunológico e fisiológico também foram encontrados com o uso do óleo essencial de *Zingiber Officinale* (OEZO) (BRUM et al., 2017).

Em 2018, o valor de produção do pescado em cativeiro no Brasil foi de quase 05 bilhões de reais, sendo o Nordeste responsável por 39,8% desse valor. Apesar do país possuir um grande potencial para a produção de grande diversidade de espécies, a tilápia é a mais cultivada, com 55,4% do volume de produção o que faz do país o quinto maior produtor de tilápia do mundo (IBGE, 2019). A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nativa da África, mas introduzido em vários países subtropicais e tropicais como o Brasil, é considerado uns dos peixes de água doce mais cultivados no mundo. Isso se deve as suas altas taxas de crescimento, adaptabilidade a diversas condições ambientais e alimentação onívora (EL-SAYED, 2006; LIMA et al., 2011).

Entretanto, espécies nativas como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), peixe nativo da região Amazônica e de fácil adaptação ao cultivo em várias regiões do Brasil, tem se mostrado uma boa alternativa para a piscicultura. Em 2018 foi produzido cerca de 110 mil toneladas de pescado sendo que toda a produção foi absorvida principalmente pelas regiões Norte e Nordeste do país (IBGE, 2018 e ETENE, 2019). O sucesso dessa espécie se deve a características como boa conversão alimentar, rápido crescimento e fácil aceitação a dietas comerciais (GOULDING & CARVALHO, 1982; ARAUJO-LIMA & GOMES, 2005).

Outra espécie, o pirarucu (*Arapaima gigas*) também demonstra ser importante para aquicultura brasileira. Ele tem despertado o interesse comercial, devido a características como rusticidade, carne saborosa, boa conversão alimentar e ganho de peso e adaptação a dietas comerciais (MARINHO et al., 2013; MALHEIROS et al., 2016). Apesar da produção em cativeiro do pirarucu ainda ser pequena diante da demanda do mercado, em 2018 foi produzido aproximadamente 02 ton. desse pescado, sendo que sua produção vem aumentando a partir do domínio das técnicas de reprodução genética e alimentação (IBGE, 2018; Panorama da Aquicultura, 2017).

Dentre as principais preocupações do agronegócio destacamos o aumento da produtividade, melhoria na quantidade e qualidade do produto final, diminuição no tempo de abate e minimização dos impactos ambientais da produção. De acordo com isso, a utilização de aditivos alimentares pode ser uma alternativa para aumentar a produtividade dos animais cultivados (IWASHITA et al., 2014). Desta forma, o presente estudo tem por objetivo avaliar desempenho zootécnico e a saúde do tambaqui e da tilápia do Nilo alimentados com OE de *Zingiber Officinale*, e pirarucu alimentados com OE de *Ocimum Basilicum*.

REVISÃO DE LITERATURA

Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OE) são compostos aromáticos voláteis (metabólicos secundários) que podem ser extraídos de partes de plantas, como raízes, sementes, flores, frutos, ou de plantas inteiras. Os métodos de extração podem ser obtidos por diversos processos, como extração e compressão, uso de dióxido de carbono líquido ou micro-ondas e pelo processo de destilação (BURT, 2004; BAKKALI et al., 2008).

A qualidade dos OE é diretamente dependente das condições climáticas, da duração do dia, irradiação solar, temperatura, fornecimento da água e épocas de colheita (DE SOUZA et al., 2019a, b). São formados por complexas misturas naturais e, em geral, contém de 20 a 60 compostos em diferentes concentrações, sendo considerados lipofílicos. Eles conseguem penetrar a barreira celular e a membrana citoplasmática, rompendo a estrutura de diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios (BAKKALI et al., 2008). Seus componentes geralmente incluem compostos como alcaloides, aldeídos, cetonas, quinonas, lectinas, fenóis, terpenoides, dentre outros (HARIKRISHNAN et al., 2011).

A utilização de fitoterápicos obtidos de plantas medicinais e extratos vegetais é uma prática antiga exercida a milhares de anos e sendo usada para a prevenção e tratamento de diversas doenças. Sua origem foi no Egito Antigo, sendo difundida mais tarde na China, Índia e Grécia (SOUZA et al., 2007). Atualmente, a aplicabilidade dos OE pode ser verificada em diversos segmentos comerciais, como: perfumes, cosméticos, produtos sanitários, odontológicos, conservantes, solventes industriais, remédios, aromaterapia, etc (BURT, 2004).

Diversas são as pesquisas realizadas testando diferentes aditivos naturais, vegetais e herbais na dieta para peixes, conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1. Estudos envolvendo a utilização de óleos essenciais como promotores de crescimento, anestésico, toxicidade e sanidade em peixes.

Óleo essencial	Espécie de peixe	Principais resultados	Autores
<i>Lippia alba</i>	Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	Diminuição da peroxidação lipídica, aumento das reservas de glicogênio e lactato e ação antioxidante	Saccol et al. (2013)
	Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Melhorias na taxa de conversão alimentar e no fator de condição, aumento da atividade da lisozima plasmática e diminuição dos níveis de globulina plasmática	De Souza et al. (2019a)
<i>Citrus aurantium</i>	Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	Melhorias nos parâmetros de crescimento, bioquímicos e antioxidantes	Lopes et al. (2018)
<i>Aloysia triphylla</i>	Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	Melhorias no peso corporal, ganho de peso e taxa de crescimento específico	Zeppenfeld et al. (2015)
<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	Melhorias na deposição de proteína e na produtividade da carcaça	Rampelotto et al. (2018)
<i>Ocimum basilicum</i>	Tilápia híbrida (<i>O. niloticus</i> x <i>O. aureus</i>)	Melhorias na digestibilidade da proteína e energia, crescimento e eficiência alimentar	El-Dakar et al. (2008)
	Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Melhorias no desempenho de crescimento, aumento das variáveis hematológicas e atividades das enzimas intestinais	De Souza et al. (2019b)
<i>Origanum heracleoticum</i>	Bagre do canal (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Aumento do ganho de peso, fator de condição corporal, atividade antioxidante, melhora na conversão alimentar e redução na mortalidade por <i>Aeromonas hydrophila</i>	Zheng et al. (2009)
<i>Citrus limon</i>	Tilápia moçambicana (<i>Oreochromis mossambicus</i>)	Melhorias em parâmetros imune inespecífico e desempenho de crescimento e diminuição da taxa de mortalidade	Baba et al. (2016)
<i>Salvia officinalis</i> <i>Mentha spicata</i> <i>Thymus vulgaris</i>	Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Melhorias na conversão alimentar, sobrevivência, crescimento e atividade enzimática	Sönmez et al. (2014)

Como visto, apesar de existirem diversos estudos com a inclusão de OE na dieta

para melhorar a produção de peixes, a diversidade de resultados pode estar associada a vários aspectos como: a heterogeneidade dos OE, variedade da planta, método de extração do OE, tempo e condições de experimentação, nível de inclusão, composição nutricional das dietas, fase de desenvolvimento do peixe, dentre outros fatores (GOVINDARAJAN e CONNELL, 1983; BEVILAQUA et al., 2007).

Mecanismo de ação

Os possíveis mecanismos de ação apresentados nos diversos estudos com a utilização dos fitoaditivos no organismo dos peixes são alterações na microbiota intestinal, estímulos na digestão através do aumento da digestibilidade, absorção de nutrientes, aumento na resistência ao estresse, inibição do desenvolvimento de patógenos, além de efeitos imunomoduladores e antimicrobianos (HARIKRISHNAN et al., 2011a; CAMPAGNOLO et al., 2013).

- *Microbiota intestinal:*

Os efeitos dos fitoaditivos no que diz respeito a microbiota intestinal compreende a redução da capacidade dos micro-organismos patogênicos a camada do epitélio intestinal e a sua parte hidrofóbica, relacionando a afinidade dos lipídios da membrana plasmática das bactérias, o que irá interferir na permeabilidade da membrana (DORMAN e DEANS, 2000).

- *Imunomoduladores:*

Os imunoestimulantes são responsáveis por ativar os mecanismos de defesa do sistema imunológico (inata e adaptativa), tornando o animal mais resistente contra as doenças (ANDERSON, 1992).

Os parâmetros hematológicos são indicativos de estresse ou doença para peixes,

por isso são frequentemente sugeridos, principalmente alterações nos níveis de glóbulos vermelhos, hematócrito, hemoglobina e eritrócitos são índices importantes para detecção do estado de saúde dos órgãos (TEWARY e PATRA, 2011).

Os leucócitos são responsáveis pela função fagocítica na regulação do sistema imune e pela lisozima. A fagocitose é um dos mediadores da imunidade inata contra diversos patógenos (bactérias, vírus e parasitas) (HARIKRISHNAN et al., 2011b).

Segundo Awad e Awaad (2017), comentam que o uso de plantas e seus derivados quando suplementados na dieta de peixes podem melhorar ou suprimir o sistema imunológico, ainda assim, diversos estudos comprovam que a dieta auxilia no fortalecimento do sistema imunológico e melhora na resistência a doenças.

Os componentes ativos presentes nos extratos, podem atuar bloqueando ou inibindo o crescimento de patógenos nas células, diminuindo a replicação do patógeno e estimulando o sistema imunológico (inato) (CITARASSU, 2010).

Sivaran et al. (2004), relataram melhorias significativas nos parâmetros imunológicos (atividade fagocitária, atividade bactericida, relação albumina/globulina, leucócitos e sobrevivência de juvenis de garoupa (*Epinephelus tauvina*) desafiado por *Vibrio harveyi* usando *Ocimum sanctum* (tulasi), *Withania somnifera* (ginseng indiano) e *Myristica fragrans* (noz-moscada). No caso dos estudos de Yin et al. (2006) foi observado uma maior atividade da lisozima em tilápia-do-nilo quando suplementadas com os extratos de *Astragalus radix* (astragalus) e *Scutellaria radix* (skullcaps).

A suplementação com *Allium sativum* elevou o número de eritrócitos, leucócitos, hemoglobina, hematócrito, atividade fagocítica, lisozima, atividade anti-protease e bactericida, indicando uma melhora na imunidade e tornando mais resistente ao *V. Harvey* (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012).

Tawwab et al. (2015), utilizando o grão de café em dietas (0,5; 1,0; 2,5%) para

carpas, mostraram um decréscimo no desempenho, porém mostrou um aumento na resposta imune.

Resultados semelhantes relacionados ao aumento da resposta imune de peixes contra doenças podem ser encontrados nos estudos de Dugenci et al. (2003), Harikrishnan et al. (2009), Aly e Mohamed (2010), Ahmad et al. (2011), Bilen et al. (2011), Guz et al. (2011), Baba et al. (2016), Altunoglu et al. (2017).

- Antimicrobianos:

A ação bactericida de alguns princípios ativos de óleos essenciais se dá através da alteração da permeabilidade da membrana celular decorrente da característica hidrofóbica dos óleos essenciais. Esses princípios ativos agem realizando a desestruturação das membranas celular e mitocondrial das bactérias, tornando-as permeáveis e causando danos tais como, as proteínas de membrana e perda de íons e metabólitos celulares (LAMBERT et al., 2001).

Em piscicultura, os principais agentes causadores de enfermidades são as bactérias do tipo, *Streptococcus agalactiae*, *Aeromonas hydrophila*, *Flavobacterium columnare*, causando altas taxas de mortalidade e deixando os peixes susceptíveis a vários organismos patogênicos (fungos, parasitas, vírus, bactérias) (FIGUEIREDO et al., 2006).

- Promotores de crescimento:

Abdel-Latif e Khalil (2014), relatam que os efeitos de promoção de crescimento obtidos por alguns óleos essenciais poderiam estar relacionados ao seu aroma, tornando um aperitivo e aumento o consumo instintivo, resultando em efeitos positivos no ganho de peso. Ainda assim, os compostos bioativos que estão presente nas plantas liberam enzimas digestivas que possibilitam na adição do consumo e absorção de nutrientes

(RADHAKRISHNAN et al., 2015).

Shalaby et al. (2006), testando diferentes níveis (1%, 2%, 3% e 4%) de extrato de alho, observaram que os juvenis de tilápia alimentados com a dieta a 3% obtiveram um peso maior, se comparado ao grupo controle. Ressaltando o efeito positivo quando submetidos a dietas com extrato de alho (*Allium sativum*). Resultados semelhantes na melhoria do desempenho podem ser visto nos estudos de Sivaran et al. (2004), aumento do SGR e ganho de peso em garoupas, Guz et al. (2011).

No entanto, estudos comprovaram o efeito adverso contendo algum tipo de fitoaditivo suplementado na dieta sobre o crescimento de peixes (CAMPAGNOLO et al., 2013, SACCOL et al., 2013, TAWWAB et al., 2015, SUTILLI et al., 2016, RIBEIRO et al., 2016).

Óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*)

O manjeriço (*Ocimum basilicum*), pertence ao gênero *Ocimum* e a família Lamiaceae. Possui ampla utilização quando utilizado na forma de folhas frescas e secas como especiarias, em bebidas, sorvetes, perfumaria e em produtos odontológicos. Quando extraídos e transformados em OE são usados como aditivos em alimentos e produtos farmacêuticos, cosméticos e industriais (TELICI et al., 2006). Além de ser considerado como fonte de compostos aromáticos, já demonstrou apresentar diversas atividades biológicas em peixes, tais como: antibactericida, antifúngica, antioxidante, repelente e anestésica (STARLIPER et al., 2015; LIMMA-NETO et al., 2017; DE SOUZA et al., 2019a; b).

Alguns cultivares de *Ocimum* sp. apresentam em sua composição química constituintes como, eugenol, metileugenol, chavicol, estragol, metilcinamato e linalol, mas também podem ser encontrados limoneno, cânfora, 1,8-cineol, linalol e geraniol

(LABRA et al., 2004). De Souza et al. (2019b), estudando a ação do OEOB, observaram que um dos componentes químicos encontrados em sua composição foi o linalol, que foi responsável por contribuir na melhoria do desempenho de crescimento em juvenis de tilápia. Nesse sentido, o linalol possui particularidades de ação anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante, sendo bastante utilizado em indústrias alimentícia e introduzidos em cosméticos (BLANK et al., 2007; SILVEIRA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013). Outros estudos prévios com a utilização do extrato de *O. basilicum* na dieta também relataram efeitos positivos no desempenho de carpa comum (*Cyprinus carpio*), dourada (*Sparus aurata*) e tilápia do Nilo (AMIRKHANI e FIROUZBAKHSI, 2015; EL-DAKAR et al., 2008; 2015).

Óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*)

O gengibre (*Zingiber officinale*) é uma planta da família Zingiberaceae, originado no sudeste Asiático e introduzida em todas as partes do mundo. Pode ser comercializado na forma *in natura* (rizomas) ou através de produtos derivados, tais como: conserva, cristalizado, seco, pó, OE e resina (MAGALHÃES et al., 1997; SHUKLA e SINGH, 2007).

O OEZO pode ser extraído da raiz, sendo aplicado nas indústrias alimentícia (aromatizantes e condimentos), de cosméticos (fragrância e antioxidante) e farmacêutica (antibacteriana, antitumoral e anti-inflamatória) (SHUKLA e SINGH, 2007; DABAGUE et al., 2011). Nos seus constituintes pode-se encontrar: alcaloides, flavonoides, polifenóis, saponinas, esteroides e taninos (SHIRIN e PRAKASH, 2010)

De acordo com Immanuel et al. (2009), o extrato de gengibre adicionado na dieta de juvenis de tilápia moçambicana (*O. mossambicus*) aumentou o ganho de peso e a taxa de crescimento específico. Resultados similares foram encontrados por Nya e Austin

(2009), Talpur et al. (2013) e Hassanin et al. (2014) com truta arco-íris, robalo asiático (*Lates calcarifer*) e tilápia do Nilo, respectivamente. Nestes estudos, o gengibre adicionado *in natura* na dieta causou um aumento no crescimento, no ganho de peso e na conversão alimentar dos peixes.

Pirarucu (*Arapaima gigas*)

O pirarucu é um peixe nativo da Bacia Amazônica, pertencente a família Arapaimidae, sendo considerada uma espécie promissora para criação em cativeiro. Por ser um dos maiores peixes de água doce do mundo é conhecido como gigante da Amazônia, podendo alcançar 3 m de comprimento (MARINHO et al., 2013; MALHEIROS et al., 2016).

Ele destaca-se por suas características de desempenho, rusticidade, taxa de crescimento elevado e alto valor de mercado. Sua respiração aérea com a sua bexiga natatória vascularizada, pode permitir o seu cultivo em ambientes que apresentam concentrações baixas de oxigênio dissolvido. Possui hábito alimentar carnívoro e fácil adaptação a dietas artificiais (PEREIRA-FILHO e ROUBACH, 2010; NUÑEZ et al., 2011).

Tambaqui (*Collossoma macropomum*)

O tambaqui, membro da família Serassalmidae, é a segunda espécie mais cultivada no Brasil (28,1%), sendo encontrada no rio Xingu - Pará, e em países da América Central (GOMES et al., 2010; SOARES et al., 2016; BRASIL, 2017). Adicionalmente, é o segundo maior peixe de escama da América do Sul, podendo chegar a 1 m de comprimento e pesar cerca de 30 kg, ficando atrás apenas do pirarucu (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998).

Devido ao seu potencial para a piscicultura, seu cultivo é amplamente explorado

por possuir características como: rápido crescimento, fácil ajuste ao cativeiro, hábito alimentar onívoro, boa aceitação de dieta artificial, carne saborosa e rusticidade (ARAUJO-LIMA e GOMES, 2005). Os tambaquis em sua fase inicial (larval) possuem uma alimentação natural de zooplâncton (cladóceros e copépodes), quando adultos apresenta uma dieta rica em sementes e frutas (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1997).

Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A tilápia do Nilo, pertencente a família Cichlidae (Perciformes), é uma das espécies de água doce mais cultivada e comercializada no mundo, representando boa parte da produção da piscicultura brasileira (BORGUETTI et al., 2003; FRACALOSSO et al., 2012; VALLADÃO et al., 2016).

Sua crescente produção deve-se a algumas características como: precocidade, rápido crescimento, tolerância às condições ambientais adversas como baixo nível de oxigênio na água e altas temperaturas e resistência às doenças e ao estresse. Também possui boa aceitação pelo mercado consumidor devido a carne branca, textura firme e ausência de espinhos intramusculares (KUBITZA, 2000; VILA NOVA et al., 2005; EL-SAYED, 2006; LIMA et al., 2011).

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATIF, H.M.R.; KHALIL, R.H. Evaluation of two phytobiotics, *Spirulina platensis* and *Origanum vulgare* extract on growth, serum antioxidant activities and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to pathogenic *Vibrio alginolyticus*. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v.1, p.250–255, 2014.

AHMAD, M.H.; EL-MESALLAMY, A.M.D.; SAMIR, F.; ZAHRAN, F. Effect of different levels of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*, NEES) on growth performance, feed utilization, whole-body composition and entropathogenic *Aeromonas hydrophila* —

challenge of all male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. fingerlings. **Journal of Applied Aquaculture**, v.7, p. 32-34, 2011.

ALI, S.M.; MOHAMED, M.F. *Echinacea purpurea* and *Allium sativum* as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.94, p.31-39, 2010.

ALTUNOGLU, Y.C.; BILEN, S.; ULU, F.; BISWAS, G. Immune responses to methanolic extract of black cumin (*Nigella sativa*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.67, p.103–109, 2017.

AMIRKHANI, N.; FIROUZBAKHS, F. Protective effects of basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, v.46, p.716–724, 2015.

ANDERSON, D.P. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture, **Annual Review of Fish Diseases**, v.2, 281e307, 1992.

ARAÚJO-LIMA, C.; GOULDING, M. **So fruitful a fish: ecology, conservation and aquaculture of the Amazon's tambaqui**. New York: Columbia University Press, 1997. 191p.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.; GOULDING, E.M. **Os frutos do Tambaqui: Ecologia, Conservação e cultivo na Amazônia**. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá, CNPq, Brasília, DF, Brasil. 1998.

ARAÚJO-LIMA, C.; GOMES, L. Tambaqui *Colossoma macropomum*, in: Baldisseroto, B.; Gomes, L. (Eds.), **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, first ed. Editora UFSM, Santa Maria, 2005, p.175-202.

AWAD, E.; AWAAD, A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. **Fish & Shellfish Immunology**, v.67, p.40–54, 2017.

BABA, E.; ACAR, U.; ONTAS C.; KESBIC, O.S.; YILMAZ, S. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture**, v.465, p. 13–18, 2016.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food Chem Toxicol**, v.46, p.446-475, 2008.

BARROWS, F.T. **Feed additives**. **Encyclopedia of Aquaculture**, R.R. Stickney, ed. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, 2000. p.335-340.

BLANK, A.F.; SOUZA, E.M.S.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; PAULA, J.W.A.; ALVES, P.B. Maria Bonita: cultivar de manjerição tipo linalool. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1811-1813, 2007.

Brasil. Portal Brasil. 2017. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/01/producao-de-peixes-no-brasil-cresce-com-apoio-de-pesquisas-da-embrapa>. Acesso em 04 de outubro de 2017.

BEVILAQUA, G.A.P.; SCHIEDECK, G.; SCHWENGBER, J.E. Identificação e tecnologia de plantas medicinais da flora de clima temperado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – **Circular Técnica**, nº61, Pelotas, 2007.

BILEN, S.; BULUT, M.; BILEN, A. M. Immunostimulant effects of *Cotinus coggyria* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.30, p.451–455, 2011.

BORGUETTI, N.R.B.; OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J.R. **Aquicultura – Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no Mundo**. Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, 2003. 129p.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223–253, 2004.

BRUM, A.; PEREIRA, S.A.; OWATARI, M.S.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, M.L. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**, v.468, p.235–243, 2017.

CAMPGNOLO, R.; FRECCIA, A.; BERGMANN, R.R.; MEURER, F.; BOMBARDELLI, R.A. Óleos essenciais na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.14, n.3, p.565-573, 2013.

CITARASU, T. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. **Aquaculture International**, v.18, p.403-414, 2010.

DABAGUE, I.C.M.; DESCHAMPS, C.; MÓGOR, A.F.; SCHEER, A.P.; CÔCCO, L. Teor e composição de óleo essencial de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) após diferentes períodos de secagem. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, p.79-84, 2011.

DE SOUZA, R.C.; DE SOUZA, E.M.; COSTA, M.M.; MELO, J.F.B.; BALDISSEROTTO, B.; COPATTI, C.E. Dietary addition of the essential oil from *Lippia alba* to Nile tilapia and its effect after inoculation with *Aeromonas* spp. **Aquaculture Nutrition**, v.25, p.39–45, 2019a.

DE SOUZA, E.M.; DE SOUZA, R.C.; MELO, J.F.B.; DA COSTA, M.M.; DE SOUZA, A.M.; COPATTI, C.E. Evaluation of the effects of *Ocimum basilicum* essential oil in Nile tilapia diet: growth, biochemical, intestinal enzymes, haematology, lysozyme and antimicrobial challenges. **Aquaculture**, v.504, p.7–12, 2019b.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.308-316, 2000.

DUGENCI, S.K.; ARDA, N.; CANDAN, A. Some medical plants as immunostimulant for fish. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.99–106, 2003.

EL-DAKAR, A.Y.; HASSANIEN, G.D.; GAD, S.S.; SAKR, S.E. Use of dried basil

leaves as a feeding attractant for hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*, fingerlings. **Mediterranean Aquaculture Journal**, v.1, p.35–44, 2008.

EL-DAKAR, A.Y.; SHALABY, S.M.; NEMETALLAH, B.R.; SALEH, N.E.; SAKR, E.M.; TOUTOU, M.M. Possibility of using basil (*Ocimum basilicum*) supplementation in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diet. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v.41, p.203–210, 2015.

EL-SAYED, A.F.M. **Tilapia Culture**. London: Cabi. 2006. 277p.

FRACALOSI, D.M.; CYRYNO, J.E.P. **NUTRIAQUA – Nutrição e Alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. 2012. 375p.

FIGUEIREDO, H.C.P.; CARNEIRO, D.O.; FARIA, F.C.; COSTA, G.M. *Streptococcus agalactiae* associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.678-680, 2006.

GOMES, L. de C.; SIMÕES, L.N.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. Tambaqui, *Colossoma macropomum*. In: Baldisserotto B, Gomes LC, organizadores. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM; 2010. p.175-204.

GOULDING, M.; CARVALHO, M.L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.1, p.07-133, 1982.

GOVINDARAJAN, V.S.; CONNELL, D.W. Ginger — chemistry, technology, and quality evaluation: Part 1. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.17, p.1–96, 1983.

GUZ, L.; SOPINSKA, A.; ONISZCZUK, T. Effect of *Echinacea purpurea* on growth and survival of guppy (*Poecilia reticulata*) challenged with *Aeromonas bestiarum*. **Aquaculture Nutrition**, v.17, p. 695–700, 2011.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; KIM, M.-C.; KIM, J.-S.; HAN, Y.-J.; HEO, M.-S. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extracts. **Fish & Shellfish Immunology**, v.27, p.508–515, 2009.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M.S. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, v.317, p.1-15, 2011a.

HARIKRISHNAN, R.; KIM, M.; KIM, J.; HAN, Y.; JANG, I.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M.S. Immunomodulatory effect of sodium alginate enriched diet in kelp grouper *Epinephelus bruneus* against *Streptococcus iniae*. **Fish Shellfish Immunology**, v.27, 508e15, 2011b.

HASSANIN, M. E.S.; HAKIM, Y.; BADAWI, M.E.S. Dietary effect of ginger (*zingiber officinale* Roscoe) on growth performance, immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *aeromonas hydrophila*. **Abbassa International Journal for Aquaculture**, v.7, p.35-52, 2014.

IMMANUEL, G.; UMA, R.P.; IYAPPARAJ, P.; CITARASU, T.; PUNITHA PETER, S.M.; MICHAEL BABU, M.; PALAVESAM, A. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Journal of Fish Biology**, v.74, p.1462–1475, 2009.

IWASHITA, M.K.P.; MORO, G.V.; NAKANDAKARE, I.V. **Incorporação de aditivos na ração de peixes**. Embrapa Pesca e Aquicultura - Circular técnica, 1, 4 p., 2014.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e processamento na produção comercial**. Jundiaí-SP, 2000. 289p.

LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J.; NYCHAS, G.J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.453-462, 2001.

LIMA, M.R.; LUDKE, M.C.M.M.; PORTO-NETO, F.F.; PINTO, B.W.C.; TORRES, T.R.; SOUZA, E.J.O. Farelo de resíduo de manga para tilápia do Nilo. **Acta Scientiarum**, v.33, p.65-71, 2011.

LIMMA-NETTO, J.D.; OLIVEIRA, R.S.M.; COPATTI, C.E. Efficiency of essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation and anaesthesia of Nile tilapia juveniles. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.89, p.2971-2974, 2017.

LABRA, M.; MIELE, M.; LEDDA, B.; GRASSI, F.; MAZZEI, M.; SALA, F. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. **Plant Science**, v.167, p.725-731, 2004.

LOPES, J.M.; SOUZA, C.F.; SACCOL, E.M.H.; PAVANATO, M.A.; ANTONIAZZI, A.; ROVANI, M.T.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTO, B. *Citrus x aurantium* essential oil as feed additive improved growth performance, survival, metabolic, and oxidative parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture nutrition**, v.25, p.310–318, 2018.

MALHEIROS, D.F.; MACIEL, P.O.; VIDEIRA, M.N.; TAVARES-DIAS, M. Toxicity of the essential oil of *Mentha piperita* in *Arapaima gigas* (pirarucu) and antiparasitic effects on *Dawestrema* spp. (Monogenea). **Aquaculture**, v.455, p.81-86, 2016.

MARINHO, R.G.B.; TAVARES-DIAS, M.; DIAS-GRIGÓRIO, M.K.R.; NEVES, L.R.; YOSHIOKA, E.T.O.; BOIJINK C.L.; TAKEMOTO R.M. Helminthes and protozoan of farmed pirarucu (*Arapaima gigas*) in eastern Amazon and host-parasite relationship. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, p.1192-1202, 2013.

NRC - National Research Council - NRC. Nutrients Requirements of Fish and Shrimp. Washington: National Academy Press, 2011. 376 p.

NUÑEZ, J.; CHU-KOO, F.; BERLAND, M.; ARÉVALO, L.; RIBEYRO, O.; DUPONCHELLY, F.; RENNO, J.F. Reproductive success and fry production of the

paiche or pirarucu, *Arapaima gigas* (Schinz), in the region of Iquitos, Peru. **Aquaculture Research**, v.42, p.815-820, 2011.

NYA, E.J.; AUSTIN, B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases**, v.32, p.971-977, 2009.

OLIVEIRA, R.A.; MOREIRA, I.S.; OLIVEIRA, F.F. Linalool and Methyl Chavicol present basil (*Ocimum* sp.) cultivated in Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, p.309-311, 2013.

PRATHEEPA, V.; SUKUMARAN, N. Effect of Euphorbia hirta plant leaf extract on immunostimulant response of *Aeromonas hydrophila* infected *Cyprinus carpio*. **Peer J.**, 2:e671, 2014.

PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH R. Pirarucu, *Arapaima gigas*. In: Baldisserotto B, Gomes LC, organizadores. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM; 2010. p.27-56.

RADHAKRISHNAN, S.; SARAVANA BHAVAN, P.; SEENIVASAN, C.; MURALISANKAR, T.; SHANTHI, R. Effects of native medicinal herbs (*Alternanthera sessilis*, *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth performance, digestive enzymes and biochemical constituents of the monsoon river prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. **Aquaculture Nutrition**, v.21, p.496–506, 2015.

RAMPELOTTO, C.; LIMA, J.S.; PINHEIRO, C.G.; SALBEGO, J.; DA SILVA, L.P.; EMANUELLI, T. Supplementation with microencapsulated lemongrass essential oil improves protein deposition and carcass yield in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.40, e36517, 2018.

RIBEIRO, S.C.; CASTELO, A.S.; da SILVA, B.M.P.; CUNHA, A. da S.; PROIETTI JÚNIOR, A.A.; OBA-YOSHIOKA, E.T. Hematological responses of tambaqui *Colossoma macropomum* (Serrassalmidae) fed with diets supplemented with essential oil from *Mentha piperita* (Lamiaceae) and challenged with *Aeromonas hydrophila*. **Acta**

Amazonica, v.46, p.99–106, 2016.

SACCOL, E.M.H.; UCZAY, J.; PÊS, T.S.; FINAMOR, I.A.; OURIQUE, G.M.; RIFFEL, A.P.K.; SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; HEINZMANN, B.M.; LLESUY, S.F.; LAZZARI, R.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M.A. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: an analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. **Aquaculture**, v.416–417, p.244–254, 2013.

SHALABY, A.M.; KHATAB, Y.A.; ABDEL RAHMAN, A.M. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.12, n.2, p.172-201, 2006.

SILVEIRA, S.M.; CUNHA JÚNIOR, A.; SCHEUERMANN, G.N.; SECCHI, F.L.; VIEIRA, C.R.W. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. **Ciência Rural**, v.42, p.1300-1306, 2012.

SHIRIN, P.R.; PRAKASH, J. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). **Journal of Medicinal Plants Research**, v.4, p.2674–2679, 2010.

SIVARAM, V.; BABU, M.M.; IMMANUEL, G.; MURUGADASS, S.; CITARASU, T.; MARIAN, M.P. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. **Aquaculture**, v.237, p.9–20, 2004.

SHUKLA, Y.; SINGH, M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, p.683-90, 2007.

SNOUSSI, M.; DEHMANI, A.; NOUMI, E.; FLAMINI, G.; PAPETTI, A. Chemical composition and antibiofilm activity of *Petroselinum crispum* and *Ocimum basilicum* essential oils against *Vibrio* spp. strains. **Microbial Pathogenesis**, v.90, p.13–21, 2016.

SOARES, B.V.; NEVES, L.R.; OLIVEIRA, M.S.B.; CHAVES, F.C.M.; DIAS, M.K.R.; CHAGAS, E.C.; TAVARES-DIAS, M. Antiparasitic activity of the essential oil of *Lippia alba* on ectoparasites of *Colossoma macropomum* (tambaqui) and its physiological and histopathological effects. **Aquaculture**, v.452, p.107–114, 2016.

SÖNMEZ, A.Y.; BILEN, S.; ALAK, G.; HISAR, O.; YANIK, T.; BISWAS, G. Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.41, p.165–175, 2014.

SOUZA FILHO, A.P.S.; VASCONCELOS, M.A.M.; ZOGHBI, M.G.B.; CUNHA, R.L. Avaliação da atividade asséptica do extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (MART) Collive e de preparação cosmética contendo este extrato. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, p.71-75, 2007.

STARLIPER, C.E.; KETOLA, H.G.; NOYES, A.D.; SCHILL, W.B.; HENSON, F.G.; CHALUPINICKI, M.A.; DITTMAN, D.E. An investigation of the bactericidal activity of selected essential oils to *Aeromonas* spp. **Journal of Advanced Research**, v.6, p.89–97, 2015.

SUTILI, F. J.; VELASQUEZ, A.; PINHEIRO, C.G.; HEINZMANN, B.M.; GATLIN, D.M.; BALDISSEROTTO, B. Evaluation of *Ocimum americanum* essential oil as an additive in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. **Fish & Shellfish Immunology**, v.56, p.155–161, 2016.

TALPUR, A.D.; IKHWANUDDIN, M.; ABOL-MUNAFI, A.B. Nutritional effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on immune response of Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. **Aquaculture**, v.400–401, p.46–52, 2013.

TAWWAB, M.A.; SHARAFELDIN, K.M.; MOSAAD, M.N.M.; ISMAIEL, N.E.M. Coffee bean in common carp, *Cyprinus carpio* L. diets: Effect on growth performance, biochemical status, and resistance to waterborne zinc toxicity. **Aquaculture**, v.448,

p.207–213, 2015.

TELICI, I.; BAYRAM, E.; YILMAZ, G.; AVCI, B. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.34, p.489–497, 2006.

TEWARY, A.; PATRA, B.C. Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). **Journal of Aquaculture Research and Development**, v.2, p.1-7, 2011.

VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v.10, p.351-369, 2016.

VILA NOVA, C.M.V.M.; GODOY, H.T.; ALDRIGUE, M.L. Composição química, teor de colesterol, e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e Pargo (*Lutjanus purpureus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p.430-436, 2005.

WANG, J.-L.; MENG, X.; LU, R.; WU, C.; LUO, Y.-T.; YAN, X.; LI, X.J.; KONG, X.H.; NIE, G.-X. Effects of *Rehmannia glutinosa* on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v.435, p.293–300, 2015.

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

ZHENG, Z.L.; TAN, J.Y.W.; LIU, H.Y.; ZHOU, X.H.; XIANG, X.; WANG, K.Y. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.292, p.214-218, 2009.

ZEPPENFELD, C.C.; HERNÁNDEZ, D.R.; SANTINÓN, J.J.; HEINZMANN, B.M.; CUNHA, M.A. DA; SCHMIDT, D.; BALDISSEROTTO, B. Essential oil *Aloysia*

triphylla as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*).
Aquaculture Nutrition, v.22, p.933-940, 2015.

CAPÍTULO 1

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* melhora o desempenho do crescimento e não altera as variáveis bioquímicas relacionadas ao estresse no pirarucu (*Arapaima gigas*)*

***Publicado em Anais da Academia Brasileira de Ciências**

<https://doi.org/10.1590/0001-3765202020181374>

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* melhora o desempenho do crescimento e não altera as variáveis bioquímicas relacionadas ao estresse no pirarucu (*Arapaima gigas*)

RESUMO

Dietas suplementadas com óleo essencial de manjeriço *Ocimum basilicum* (OEOB) podem melhorar o crescimento dos peixes. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da OEOB na dieta sobre o desempenho de crescimento e variáveis plasmáticas de juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*) submetidos a condições estressantes (densidade de estocagem de 7,56 kg m⁻³ por tanque e espaço limitado). Quatro dietas (em triplicata) foram avaliadas com concentrações crescentes de OEOB (0,0 controle; 0,5; 1,0; e 2,0 mL kg de dieta⁻¹) durante 48 dias. O linalool foi o principal constituinte do OEOB (54,19%). A adição de 2,0 mL de OEOB kg de dieta⁻¹ melhorou peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específico, fator de condição e conversão alimentar aparente; também diminuiu os níveis plasmáticos de ureia e aumentou os níveis de albumina plasmática e proteínas totais. Os níveis plasmáticos de glicose, cortisol e ácido úrico não foram influenciados pela adição de OEOB na dieta dos peixes. Em conclusão, a adição de 2,0 mL de OEOB kg de dieta⁻¹ é recomendada para juvenis de pirarucu, devido ao melhor desempenho de crescimento, e esta suplementação não comprometeu a homeostase da criação de peixes em uma densidade de estocagem muito alta.

Palavras-chave: promotor de crescimento, linalool, resposta metabólica, proteína total

Essential oil from *Ocimum basilicum* improves growth performance and does not alter biochemical variables related to stress in pirarucu (*Arapaima gigas*)

ABSTRACT

Diet supplementation with essential oil from sweet basil *Ocimum basilicum* (EOOB) can increase fish growth. So, this study aimed to evaluate the effect of EOOB in the diet on growth performance and plasmatic variables of pirarucu juveniles (*Arapaima gigas*) submitted to stressful condition (stocking density of 7.56 kg m⁻³ per tank and limited space). Four diets (in triplicates) were evaluated with increasing levels of EOOB (0.0 control; 0.5; 1.0; and 2.0 mL kg diet⁻¹) over 48 days. Linalool was the major constituent of EOOB (54.19 %). The addition of 2.0 mL EOOB kg diet⁻¹ improved final weight, weight gain, specific growth rate, condition factor and feed conversion ratio; it also, decreased plasma urea levels and increased plasma albumin and total proteins levels. Plasma glucose, cortisol, and acid uric levels were not influenced by the addition of EOOB the fish diet. In conclusion, the addition of 2.0 mL EOOB kg diet⁻¹ is recommended for pirarucu juveniles, due to improved growth performance, and this supplementation did not compromise the homeostasis of fish rearing in a very high stocking density.

Key words: growth promoter, linalool, metabolic response, total protein

INTRODUÇÃO

Pirarucu (*Arapaima gigas*) é uma das maiores espécies de peixes de água doce da Bacia Amazônica, e uma espécie promissora para o cultivo em fazendas de peixes. Isso é devido a alta comercialização de seu filé, bem como sua alta taxa de crescimento, rusticidade e adaptação à alimentação artificial (DE ANDRADE et al., 2007; DRUMOND et al., 2010). Além disso, pirarucu é um respirador de ar obrigatório (BALDISSEROTTO et al., 2008), o que pode facilitar sua existência em ambientes com baixa disponibilidade de oxigênio.

O estresse pode ser causado por práticas agrícolas comuns, como alimentação, manejo e densidade de estocagem (BARCELLOS et al., 2003; 2004; SENA et al., 2016). Os aquicultores tendem a aumentar a densidade de estocagem como estratégia para aumentar a produção de peixes em piscicultura intensiva (LEMOS et al., 2018).

A densidade populacional é um fator biológico importante na aquicultura porque influencia sobrevivência, crescimento, saúde e custos de produção (COPATTI et al., 2008). Além disso, alta densidade de estocagem é comumente associada a um aumento na concentração de compostos nitrogenados na água, o que pode prejudicar a qualidade da água e o desenvolvimento de peixes e causar estresse (LEMOS et al., 2018). Em estudo anterior, a análise econômica realizada por De Oliveira et al. (2012) indicaram que a aquicultura de pirarucu em gaiolas com densidades moderadas ($0,26 \text{ kg m}^{-3}$) e sem limitações de espaço mostraram melhores índices zootécnicos. Da mesma forma, Cavero et al. (2003) verificaram que densidades populacionais de 0,15, 0,20 ou $0,25 \text{ kg m}^{-3}$ podem ser utilizadas para pirarucu criados em ambientes confinados. Uma alta densidade populacional ($1,00 \text{ kg m}^{-3}$) induziu estresse respostas no pirarucu, e a magnitude do estresse causado pela intensificação foi ainda maior do que o causado pelo transporte (BRANDÃO et al., 2006). No entanto, esses autores realizaram pesquisa com juvenis de

pirarucu em torno de 10 ou 100 g, sem limitações de espaço.

No presente estudo, juvenis de pirarucu foram criados com uma densidade de estocagem muito alta ($7,56 \text{ kg m}^{-3}$ por tanque) e espaço limitado ($0,5 \text{ m}^3$), o que pode ser considerado estressante para os peixes (BARCELLOS et al., 2004). Em um estudo anterior, Souza et al. (2015) avaliaram o efeito do óleo essencial de *Lippia alba* como aditivo alimentar em jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a uma densidade de estocagem muito alta de $10,6 \text{ kg m}^{-3}$ e espaço limitado, e indicaram o uso de $0,25 \text{ mL}$ de óleo essencial de *L. alba* kg dieta^{-1} para esta espécie foi eficaz. Além disso, uma dieta adequada pode melhorar a resposta dos animais aquáticos a condições estressantes de cultivo (ZHENG et al., 2009). Com a crescente demanda por pirarucu superando as operações atuais, é necessária a determinação de uma dieta adequada que contribua para seu crescimento e saúde.

Adicionalmente, a suplementação dietética com óleos essenciais pode melhorar o desempenho de crescimento dos peixes (BABA et al., 2016; NGUGI et al., 2017; DE SOUZA et al., 2019a). Em um estudo recente, De Souza et al. (2019b) descobriu que o óleo essencial de manjeriço *Ocimum basilicum* (OEOB) ($2 \text{ mL kg dieta}^{-1}$) é um promotor de crescimento da tilápia do Nilo. Isso pode ser devido à presença do linalol como principal composto químico (53,35%) estudado por De Souza et al. (2019b), porque o linalol é conhecido por ter mecanismos de ação antioxidantes, antimicrobianos, anti-inflamatórios e digestivos-estimulantes (MOGHADDAM et al., 2011; HELDWEIN et al., 2014; DE SOUZA et al., 2017). Por outro lado, uma dieta com óleos essenciais de *L. alba* (55,25% de linalol) e *Ocimum americanum* (33,54% de linalol) não alterou o crescimento de jundiá ou *Sciaenops ocellatus*, respectivamente (SACCOL et al., 2013; SUTILI et al., 2016).

O manjeriço (*O. basilicum* Lamiaceae) é uma das ervas aromáticas mais

cultivadas no mundo. É rico em antioxidantes naturais, como flavonóides (quercetina, kaempferol, rutina), ácidos fenólicos (ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido cafárico), esteróides e vitaminas (A, C, E, K) (MUSTAFA e USMAN, 2011), que podem contribuir para o crescimento e a saúde dos peixes. O OEOP demonstrou ser eficaz na aquicultura como antioxidante (LEE et al., 2005), antimicrobiano (MOGHADDAM et al., 2011; DE SOUZA et al., 2018a) e agente anestésico (LIMMA-NETO et al., 2016; LIMMA-NETO et al., 2017). No entanto, não há estudos prévios que comprovem a eficácia da adição do OEOP à dieta do pirarucu.

Assim, à luz do seu potencial, o OEOP pode ser uma alternativa para melhorar o crescimento do pirarucu criado em densidades de lotação estocagem muito altas e espaço limitado em ambientes artificiais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do OEOP em uma dieta comercial sobre o desempenho de crescimento e variáveis plasmáticas relacionadas à saúde em juvenis de pirarucu criados em ambientes artificiais.

MATERIAIS E MÉTODOS

ÓLEO ESSENCIAL DE *OCIMUM BASILICUM*

O OEOP foi extraído de folhas frescas de *O. basilicum* cultivadas em Três Passos, Rio Grande do Sul, Brasil, coletadas em agosto de 2016. A hidrodestilação das folhas frescas ocorreu de acordo com as diretrizes estabelecidas por Farmacopeia Europeia (2007). A determinação dos compostos químicos nos óleos essenciais foi realizada por cromatografia gasosa/espectrometria de massa, segundo De Souza et al. (2017). O rendimento foi calculado como p/p (%); e os constituintes químicos (Tabela 1) foram identificados comparando os espectros de massa com uma biblioteca espectral de massa (NIST 2008). A análise GC-MS foi realizada usando um cromatógrafo a gás Agilent-

6890 acoplado a um detector seletivo de massa Agilent 5973, utilizando o gás hélio como transportador gasoso. Utilizou-se a coluna capilar HP5-MS (Hewlett Packard, 5% fenilmetilsiloxano, 30 m x 0,25 mm, espessura do filme: 0,25 μm) e 70 eV de energia de ionização. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil (número 71/2017).

Tabela 1. Composição química de óleo essencial de *Ocimum basilicum* determinado via GC-MS. IRC: Índice de retenção calculado; IRL: Índice de retenção da literatura (NIST, 2008; ADAMS, 2009).

Composto químico	IRC	IRL	g/kg
β -Mirceno	990	985	5,9
Eucaliptol	1031	1031	49,1
β -trans-ocimeno	1048	1048	8,0
Linalol	1099	1101	541,9
Canfôra	1142	1146	8,6
(-)-Acetato de bornil	1285	1284	14,5
p-Eugenol	1356	1356	49,6
β -Elemene	1386	1394	05,4
α -bergamotene	1437	1436	52,4
Germacreno D	1455	1453	10,7
α -amorfeno	1483	1490	24,5
δ -Guaieno (α -bulnesene)	1507	1505	20,8
γ -Cadineno	1515	1514	26,0
T-Cadinol	1640	1640	32,4
Total identificado			850,2

ANIMAIS

Juvenis de pirarucu foram adquiridos da Piscicultura AguaVale (Ituberá, Bahia, Brasil) e acondicionados no Laboratório de Nutrição e Comportamento de Peixes da

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. Para tanto, Juvenis de pirarucu ($945,40 \pm 18,06$ g; $54,60 \pm 0,30$ cm, $n = 4$ por tanque; densidade populacional de $7,56 \text{ kg m}^{-3}$ por tanque) foram alojados em 12 tanques de 500 L ($0,5 \text{ m}^3$) configurados em sistema de recirculação contendo filtros químicos e biológicos e aeração contínua. Os animais foram alimentados com dieta comercial para peixes (400g kg^{-1} de proteína bruta, 9% de extrato etéreo, $13,40 \text{ MJ kg}^{-1}$ de energia digestível e 14–16 mm; Pratigi Alimentos Company[®], Castro Alves, Bahia, Brasil). Antes do experimento, os animais foram submetidos a jejum por 24 h.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições. Diferentes concentrações de OEOB (0,0 [controle], 0,5, 1,0 ou 2,0 mL de OEOB kg dieta^{-1}) foram adicionadas pelo método de pulverização à dieta comercial (Pratigi Alimentos Empresa ©). Assim, o OEOB foi diluído com álcool de cereais 1:7,5 (OEOB: álcool) e a solução foi manualmente pulverizada. Posteriormente o alimento foi seco à temperatura ambiente por 24 h e mantido sob refrigeração ($-20 \text{ }^\circ\text{C}$) até o uso, seguindo a metodologia sugerida por Dairiki et al. (2013). Os grupos (0,0, 0,5, 1,0 e 2,0), com a mesma densidade de estocagem inicial descrita acima ($7,56 \text{ kg m}^{-3}$), foram alimentados até a saciedade aparente nas três refeições (9:00 a.m., 12:30 p.m. e 5:00 p.m.) por 48 dias. Essa densidade de produção foi baseada em estudo anterior (PEDROSA et al., 2018), que considerou $6,0 \text{ kg m}^{-3}$ como alta densidade. O consumo de ração foi medido a cada três dias e a biometria foi realizada a cada 15 dias, pesando todos os peixes em cada tanque.

As variáveis físico-químicas da água, incluindo pH ($6,31 \pm 0,41$) (medidor de pH Hanna, - HI 98130), temperatura ($26,92 \pm 1,03 \text{ }^\circ\text{C}$) e oxigênio dissolvido ($7,24 \pm 0,79 \text{ mg}$

$L^{-1} O_2$) (oxímetro Politerm-POL 60) foram monitorados diariamente e amônia total ($0,91 \pm 0,72 \text{ mg } L^{-1} N-NH_3$), nitrito ($0,66 \pm 0,21 \text{ mg } L^{-1} N-NO_2$) e alcalinidade ($24,89 \pm 12,75 \text{ mg } L^{-1} CaCO_3$) (kit Alfatecnoquímica, Florianópolis, SC) foram monitorados duas vezes por semana. A fim de remover o excesso de fezes e outras sujeiras, os tanques eram limpos por sifonagem diária.

DESEMPENHO DE CRESCIMENTO

Após 48 dias, as seguintes variáveis de desempenho dos animais foram analisadas ao final do experimento: peso final (g), comprimento final (cm), ganho de peso (GP) (g) = peso corporal final - peso corporal inicial; taxa de crescimento específico (SGR) (% por dia) = $100 * (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{dias de experiência}$; conversão alimentar (FCR) = consumo / ganho de peso consumido; fator de condição (CF) ($\text{g cm}^{-3} * 100$) = $100 * (\text{peso final} / \text{comprimento final}^3)$; e sobrevivência (SR) (%) = $((\text{número final de peixes}) / \text{número inicial de peixes}) * 100$).

COLETA E ANÁLISE DE AMOSTRAS

Ao final do experimento, os animais foram submetidos a jejum de 24 h e, em seguida, foi coletado sangue de todos os peixes. O sangue (2,0 mL por peixe) foi retirado da veia caudal com o auxílio de seringas pré-heparinizadas (heparina sódica 5.000 I.U. mL^{-1}). O sangue foi centrifugado a $10000 \times g$ durante 5 min ($4^\circ C$) e o plasma foi cuidadosamente retirado. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a $-20^\circ C$.

O kit cortisol S (BioMérieux, França) foi utilizado para a determinação dos níveis plasmáticos de cortisol ($ng \text{ mL}^{-1}$) no equipamento mini-VIDAS® a partir do ensaio fluorescente ligado a enzima. O volume de plasma utilizado foi de 200 μL . Ambos os analisadores foram limpos, calibrados e operados de acordo com as instruções do

fabricante. Os valores de medição do kit Vidas cortisol S variaram de 2 a 650 ng mL⁻¹. A repetibilidade, a reprodutibilidade inter-run e a reprodutibilidade inter-lote foram calculadas de acordo com Tholen et al. (2004). Os valores observados de precisão total, dependentes da concentração sérica, variaram de um valor de 7,42 a 12,98 para o coeficiente de variância (%). O coeficiente de variação para os peixes variou de 8,68% a 13,59%, e o limite de detecção do ensaio foi de 2 ng mL⁻¹.

Os níveis de glicose no plasma (mg dL⁻¹) foram determinados enzimaticamente usando glicose oxidase/glicose peroxidase de acordo com o protocolo de Sena et al. (2016). As determinações da ureia plasmática (mg dL⁻¹), albumina (g L⁻¹), proteínas totais (g L⁻¹) e ácido úrico (mg dL⁻¹) foram realizadas com kits comerciais (kits Labtest[®]; Vista Alegre, MG, Brasil) em um analisador bioquímico semi-automático (Doles[®], modelo D-250).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média (S.E.M.), com tanques como unidades estatísticas. O teste de Levene foi realizado para avaliar a homogeneidade das variâncias dos dados. Os dados mostrando variâncias homogêneas foram comparados usando análise de variância one-way (ANOVA) ($p < 0,05$). Os efeitos do OEOB no desempenho de crescimento e variáveis bioquímicas foram avaliados com base na regressão linear. Além disso, diferenças significativas entre os tratamentos foram determinadas pelos testes post-hoc de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Um efeito linear ($p < 0,05$) foi observado entre OEOB e peso final ($y = 1385,304 + 43,504x$, $R^2 = 0,75$), GP ($y = 437,990 + 43,888x$, $R^2 = 0,89$), SGR ($y = 0,784 + 0,069x$,

$R^2 = 0,98$), CF ($y = 0,184 + 0,027x$, $R^2 = 0,94$) e FCR ($y = 1,940 - 0,223x$, $R^2 = 0,90$). Portanto, de acordo com o efeito linear, os pirarucus alimentados com 2,0 mL de OEOB kg dieta⁻¹ aumentaram peso, GP, TCE e FC finais e diminuíram CAA (Tabela 2). Além disso, a inclusão de 2,0 mL de OEOB kg de dieta⁻¹ aumentou GP e diminuiu CAA significativamente em comparação com o grupo controle (0,0 mL OEOB kg dieta⁻¹; $p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho (média \pm erro padrão) de juvenis de pirarucu alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de OEOB.

Variáveis	OEOB (mL/kg)				P
	0.0	0.5	1.0	2.0	
Peso inicial	955,00 \pm 14,42	944,10 \pm 22,49	936,10 \pm 7,72	951,00 \pm 11,17	NS
Peso final	1401,25 \pm 26,35	1406,00 \pm 59,28	1398,50 \pm 19,90	1515,00 \pm 5,07	NS
GP	446,25 \pm 23,86 ^b	461,90 \pm 38,16 ^{ab}	462,40 \pm 12,75 ^{ab}	564,00 \pm 12,94 ^a	0,037
CF	61,00 \pm 1,13	61,80 \pm 0,88	60,70 \pm 0,67	61,60 \pm 0,68	NS
TCE	0,79 \pm 0,04 ^b	0,82 \pm 0,08 ^{ab}	0,84 \pm 0,02 ^{ab}	0,97 \pm 0,03 ^a	0,025
FC	0,19 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02	0,21 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01	NS
CAA	1,93 \pm 0,04 ^a	1,78 \pm 0,12 ^{ab}	1,81 \pm 0,08 ^{ab}	1,46 \pm 0,11 ^b	0,029
Consumo	3433,26 \pm 114,72	3240,03 \pm 287,28	3225,59 \pm 261,70	3278,12 \pm 173,17	NS

GP = ganho de peso. CP = comprimento final. TCE = taxa de crescimento específico, é expresso em % por dia. FC = fator de condição, é expresso em g cm⁻¹ *100. CAA = conversão alimentar aparente. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p < 0,05$; $n = 3$ tanques por tratamento). NS = não significativo.

As condições experimentais não influenciaram a sobrevivência, uma vez que não houve mortalidade durante o período experimental para o grupo controle ou tratamento. Outro efeito linear ($p < 0,05$) foi observado entre OEOB e níveis de albumina ($y = 0,630 + 0,049x$, $R^2 = 0,82$), proteínas totais ($y = 3,058 + 0,179x$, $R^2 = 0,74$) e ureia do plasma ($y = 7,744 - 0,713x$, $R^2 = 0,86$). Assim, de acordo com o efeito linear, um aumento na

concentração de OEOB na dieta diminuiu proporcionalmente os níveis plasmáticos de ureia e aumentou os níveis de albumina plasmática e proteínas totais em juvenis (Tabela 3).

Além disso, juvenis alimentados com 2,0 mL OEOB kg dieta⁻¹ apresentaram albumina plasmática significativamente maior do que aqueles com 0,0 (grupo controle) ou 1,0 mL OEOB kg dieta⁻¹ e proteínas totais do que aqueles recebendo outras concentrações de OEOB na dieta ($p < 0,05$). Os níveis plasmáticos de glicose, cortisol e ácido úrico não foram influenciados pela adição do OEOB à dieta do pirarucu (Tabela 3).

Tabela 3. Variáveis bioquímicas plasmáticas (média \pm erro padrão) de pirarucu alimentados com dietas contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum basilicum* (OEOB).

Variáveis	OEOB (mL/kg)				P
	0.0	0.5	1.0	2.0	
Cortisol	42,70 \pm 3,73	53,03 \pm 4,04	46,69 \pm 3,75	45,82 \pm 3,92	NS
Ureia	8,01 \pm 0,94	7,12 \pm 0,81	6,90 \pm 0,64	6,45 \pm 0,02	NS
Albumina	0,64 \pm 0,02 ^b	0,66 \pm 0,04 ^{ab}	0,65 \pm 0,03 ^b	0,74 \pm 0,02 ^a	0,045
Glicose	46,64 \pm 1,68	52,11 \pm 2,42	46,56 \pm 3,02	52,73 \pm 2,99	NS
Proteínas totais	3,12 \pm 0,03 ^b	3,13 \pm 0,05 ^b	3,11 \pm 0,11 ^b	3,48 \pm 0,06 ^a	0,009
Ácido úrico	0,15 \pm 0,01	0,17 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02	0,16 \pm 0,02	NS

O cortisol é expresso em ng mL⁻¹, a ureia, a glicose e o ácido úrico são expresos em mg dL⁻¹ e a albumina e proteínas totais são expressas em g L⁻¹. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p < 0,05$; n = 3 tanques por tratamento). NS = não significativo.

DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a suplementação dietética de OEOB (2,0 mL kg dieta⁻¹) exerceu um efeito positivo sobre o desempenho de crescimento (peso final, GP, SGR, FC e CAA) em pirarucus. Em nosso estudo, o ganho de peso dos pirarucus ocorreu

dentro da faixa esperada para juvenis, com peso inicial acima de 500 g (GANDRA et al., 2007; PEDROSA et al., 2018). O efeito de promoção do crescimento dos óleos essenciais pode ser atribuído ao seu sabor aromático distinto, que os torna fortes estimulantes de apetite, que causam o aumento da ingestão voluntária de ração e resulta em melhor ganho de peso (ABDEL - LATIF E KHALIL, 2014). Segundo El-Dakar et al. (2015), os ingredientes olfativos de *O. basilicum* poderiam aumentar o crescimento dos peixes através de sua capacidade de atuar como promotores de alimentação.

Além disso, postulou-se que o mecanismo atribuído ao efeito do óleo essencial é um intensificador de digestibilidade, que equilibra a microbiota intestinal (ZHENG et al., 2009; REVERTER et al., 2014). A consequência poderia ser aumentar o consumo de alimentos e melhor utilização e absorção de nutrientes (RADHAKRISHNAN et al., 2015), o que poderia melhorar o desempenho do crescimento. Outro modelo que poderia explicar o modo de ação dos compostos de óleo essencial para promover o crescimento poderia ser o forte efeito antibacteriano. Nesse sentido, De Souza et al. (2018) mostraram que o OEOb apresentou efeito inibitório sobre *Aeromonas* spp.

Estudos anteriores relataram resultados semelhantes nos quais uma dieta com extrato de *O. basilicum* foi um promotor de crescimento para carpas comuns (*Cyprinus carpio*) (400 mg kg⁻¹) (AMIRKHANI e FROUZBAKHS, 2015) e dourada (*Sparus aurata*) (20 g kg⁻¹) (EL-DAKAR et al., 2015). A suplementação com folhas secas de *O. basilicum* melhorou a taxa de crescimento em tilápia híbrida (20 g kg⁻¹) (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*) (EL-DAKAR et al., 2008) e o OEOb foi efetivo na concentração de 2,0 mL kg dieta⁻¹ para melhorar o desempenho do crescimento em tilápia do Nilo (DE SOUZA et al., 2019b). No presente estudo, o linalol foi o principal constituinte do OEOb (54,19%) e o linalol (ou uma interação dos diferentes componentes do OEOb com o linalol) pode ter atuado como promotor de crescimento (DE SOUZA et

al., 2019a). O linalol é conhecido por ter mecanismos de ação antioxidantes, antimicrobianos, anti-inflamatórios e estimuladores da digestão (MOGHADDAM et al., 2011; HELDWEIN et al., 2014; DE SOUZA et al., 2017). Da mesma forma, um maior desempenho de crescimento foi encontrado em tilápias do Nilo alimentadas com 2,0 mL de óleo essencial de *L. alba* kg dieta⁻¹ ou 2,0 mL OEOb kg dieta⁻¹; o linalol foi o principal composto (81,64 e 53,35%, respectivamente) encontrado nesses componentes (DE SOUZA et al., 2019a; 2019b).

Além disso, a taxa de crescimento específico de *O. mossambicus* também foi maior quando alimentada com extrato lipídico de gengibre (*Zingiber officinale*) (IMMANUEL et al., 2009). O gengibre é uma fonte rica de óleo volátil, e o linalol é um de seus constituintes mais importante (SHAKYA, 2015). No entanto, a adição dietética de outros óleos essenciais contendo linalol como composto principal não afetou o crescimento de outros peixes (SACCOL et al., 2013; SUTILI et al., 2016).

Nesse sentido, verificou-se que a adição dietética de OEOb possivelmente não alterou o metabolismo no pirarucu, pois os níveis plasmáticos de glicose e cortisol não foram afetados (LEMOS et al., 2018). O cortisol plasmático é um modulador de vários processos fisiológicos que aumentam em resposta ao estresse (LEMOS et al., 2018). Uma elevação nos níveis plasmáticos de cortisol induz respostas fisiológicas secundárias, como o aumento dos níveis plasmáticos de glicose (PANKHURST, 2011). Além disso, os valores encontrados no presente estudo para níveis plasmáticos de cortisol e glicose estão próximos ou ligeiramente acima dos valores basais encontrados em estudos anteriores com pirarucus não-estressados (BRANDÃO et al., 2006; GOMES, 2007). Portanto, esses resultados nos permitem afirmar que a adição de OEOb ao pirarucu não prejudicou a homeostase dos peixes durante os 48 dias de criação em uma densidade populacional muito alta.

Resultados semelhantes foram registrados em juvenis de pirarucu submetidos a diferentes estratégias de alimentação (PEDROSA et al., 2018). O linalol tem propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (HELDWEIN et al., 2014), mas o mecanismo exato do efeito do linalol e/ou OEOB no cortisol plasmático não foi estabelecido. Assim, Souza et al. (2015) descobriram que jundiás que foram alimentados com dietas suplementadas com óleo essencial de *L. alba* (55,25% de linalol) também não apresentaram níveis alterados de cortisol e glicose no plasma. Da mesma forma, a tilápia do Nilo alimentada com 1,0 ou 2,0 mL de óleo essencial de *L. alba* kg dieta⁻¹ (81,64% de linalol) não apresentou alterações metabólicas (DE SOUZA et al., 2019a). No entanto, a tilápia do Nilo que recebeu dietas suplementadas com 1,0 mL OEOB kg dieta⁻¹ (53,35% de linalol) reduziu os níveis plasmáticos de glicose e experimentou benefícios no crescimento, enzimas intestinais, lisozima e variáveis hematológicas (DE SOUZA et al., 2019b).

Por outro lado, as proteínas plasmáticas totais e os níveis de albumina foram elevados em peixes que receberam uma dieta com 2,0 mL OEOB kg dieta⁻¹. Os níveis plasmáticos de proteínas totais são resultado da síntese e degradação do nitrogênio de todo o corpo. Em alguns casos, níveis mais altos de proteína plasmática podem indicar um melhor estado nutricional desses peixes (HIGUCHI et al., 2011), que promove a deposição de proteína. Por exemplo, concentrações elevadas de proteínas totais no plasma estavam relacionadas com o desempenho de crescimento e a utilização de proteína na truta arco-íris (RUMSEY et al., 1994). Da mesma forma, estudos anteriores descobriram um aumento nos níveis de proteínas totais com o uso de óleos essenciais ou extratos vegetais em dietas de peixes (DUGENCI et al., 2003; GULEC et al., 2013; EL-DAKAR et al., 2015; DE SOUZA et al., 2019b). Além disso, a importância metabólica da albumina plasmática é limitada, e o aumento dos níveis plasmáticos de albumina pode ser considerado uma resposta imune inespecífica em peixes (AMIRKHANI e

FIROUZBAKHS, 2015; REVERTER et al., 2014). Em adição, os valores encontrados no presente estudo para os níveis de albumina plasmática e proteínas totais estão próximos aos valores basais encontrados em estudos anteriores (TAVARES-DIAS et al., 2007; HOSHINO et al., 2017) em pirarucu. Finalmente, a mobilização de proteína induzida por estresse pode causar um aumento na quantidade de amônia excretada pelos peixes e, conseqüentemente, elevação nos níveis plasmáticos de ácido úrico e ureia (BARCELLOS et al., 2003). No entanto, isso não foi verificado no presente estudo. Os níveis plasmáticos de ureia diminuíram com o aumento na concentração de OEOb na dieta de juvenis de pirarucu, e seus níveis permaneceram dentro dos valores descritos como normais para pirarucu por TAVARES-DIAS et al. (2007). Além disso, a produção de uréia não reflete a desaminação oxidativa direta dos aminoácidos e, conseqüentemente, não reflete o aumento do custo metabólico (WOOD et al., 2017).

CONCLUSÃO

A suplementação de 2,0 mL OEOb kg dieta⁻¹ é a concentração mais indicada para juvenis de pirarucu criados com uma densidade de estocagem muito alta (7,56 kg m⁻³), pois melhorou o desempenho do crescimento, garantiu a saúde e não causou alterações relacionadas ao estresse no perfil metabólico.

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATIF, H.M.R.; KHALIL, R.H. Evaluation of two phytobiotics, *Spirulina platensis* and *Origanum vulgare* extract on growth, serum antioxidant activities and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to pathogenic *Vibrio alginolyticus*. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v.1, p.250–255, 2014.

AMIRKHANI, N.; FIROUZBAKHS, F. Protective effects of basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, v.46, p.716–724, 2015.

BABA, B.; ACAR, Ü.; ÖNTAŞ, C.; KESBİÇ, O.S.; YILMAZ, S. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture**, v.465, p.13–18, 2016.

BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M.; FIOREZE, I.; CERICATO, L.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; BALDISSERA, R.K.; BRUSCHI, A.; RITTER, F. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v.232, p.383-394, 2004.

BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; RODRIGUES, L.B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R.M.; CERICATO, L.; CONRAD, J.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; LACERDA, L.A.; TERRA, S. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. **Aquaculture Research**, v.34, p.1465-1469, 2003.

BALDISSEROTTO, B.; COPATTI, C.E.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; BRINN, R.P.; ROUBACH, R. Net ion fluxes in the facultative air-breather *Hoplosternum littorale* (tamoata) and the obligate air-breather *Arapaima gigas* (pirarucu) exposed to different Amazonian waters. **Fish Physiology Biochemistry**, v.34, p.405-12, 2008.

BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazonica**, v.36, p.349-356, 2006.

CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; ITUASSÚ, D.R.; GANDRA, A.L.; CRESCÊNCIO, R. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. **Pesquisa**

Agropecuária Brasileira, v.38, p.103-107, 2003.

COPATTI, C.E.; DOS SANTOS, T.A.; GARCIA, S.F.S. Densidade de estocagem e frequência alimentar de juvenis de piava *Leporinus obtusidens* Valenciennes, 1836 (Characiformes: Anostomidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.14, p.107-111, 2008.

DAIRIKI, J.K.; MAJOLO, C.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; OLIVEIRA, M.R.; MORAIS, I.S. Procedimentos para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes. **Boletim de Pesquisa Embrapa Amazônia Ocidental**, v.42, p.1-8, 2013.

DE ANDRADE, J.I.A.; ONO, E.A.; MENEZES, G.C.; BRASIL, E.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J.L.; AFFONSO, E.G. Influence of diets supplemented with vitamin C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v.146, p.576-580, 2007.

DE OLIVEIRA, E.G.; PINHEIRO, A.B.; DE OLIVEIRA, V.Q.; SILVA JÚNIOR, A.R.M.; DE MORAES, M.G.; ROCHA, I.R.C.B.; DE SOUSA, R.R.; COSTA, F.H.F. Effects of stocking density on the performance of juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) in cages. **Aquaculture**, v.370-371, p.96-101, 2012.

DE SOUZA, R.C.; DA COSTA, M.M.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANN, B.M.; SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; COPATTI, C.E. Antimicrobial and synergistic activity of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Lippia alba* against *Aeromonas* spp. **Microbial Pathogenesis**, v.113, p.29-33, 2017.

DE SOUZA, E.M.; DE SOUZA, R.C.; DA COSTA, M.M.; PINHEIRO, C.G.; HEINZMANN, B.M.; COPATTI, C.E. Chemical composition and evaluation of the antimicrobial activity of two essential oils. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.44: p.e321, 2018a.

DE SOUZA, R.C.; DE SOUZA, E.M.; DA COSTA, M.M.; MELO, J.F.B.; BALDISSEROTTO, B.; COPATTI, C.E. Dietary addition of the essential oil from *Lippia*

alba to Nile tilapia and its effect after inoculation with *Aeromonas* spp. **Aquaculture Nutrition**, in press, v.25, p.39-45, 2019a8b.

DE SOUZA, E.M.; DE SOUZA, R.C.; MELO, J.F.B.; DA COSTA, M.M.; SOUZA, A.M.; COPATTI, C.E. Evaluation of the effects of *Ocimum basilicum* essential oil in Nile tilapia diet: growth, biochemical, intestinal enzymes, haematology, lysozyme and antimicrobial challenges. **Aquaculture**, v.504, p.7-12, 2019b.

DUGENCI, S.K.; ARDA, N.; CANDAN, A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.99–106, 2003.

DRUMOND, G.V.F.; CAIXEIRO, A.P.A.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J.L.; AFFONSO, E.G. Características bioquímicas e hematológicas do pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) de cultivo semi-intensivo na Amazônia. **Acta Amazonica**, v.40, p.591–596, 2010.

EL-DAKAR, A.Y.; HASSANIEN, G.D.; GAD, S.S.; SAKR, S.E. Use of dried basil leaves as a feeding attractant for hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*, fingerlings. **Mediterranean Aquaculture Journal**, v.1, p.35–44, 2008.

EL-DAKAR, A.Y.; SHALABY, S.M.; NEMETALLAH, B.R.; SALEH, N.E.; SAKR, E.M.; TOUTOU, M.M. Possibility of using basil (*Ocimum basilicum*) supplementation in Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diet. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v.41, p.203–210, 2015.

European Pharmacopoeia. (2007). **European Pharmacopoeia**, 6th ed. Strasbourg, France. European Directorate for the Quality of Medicines.

GANDRA, A.L.; ITUASSÚ, D.R.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; CRESCÊNCIO, R.; CAVEIRO, B.A.S. Pirarucu growth under different feeding regimes. **Aquaculture International**, v.15, p.91–96, 2007.

GOMES, L.C. Physiological responses of pirarucu (*Arapaima gigas*) to acute handling stress. **Acta Amazonica**, v.37, p.629-634, 2007.

GULEC, A.K.; DANABAS, D.; URAL, M.; SEKER, E.; ARSLAN, A.; SERDAR, O. Effect of mixed use of thyme and fennel oils on biochemical properties and electrolytes in rainbow trout as a response to *Yersinia ruckeri* infection. **Acta Veterinaria BRNO**, v.82, p.297–302, 2013.

HELDWEIN, C.G.; SILVA, L.L.; GAI, E.Z.; ROMAN, C.; PARODI, T.V.; BÜRGER, M.E.; BALDISSEROTO, B.; FLORES, E.M.M.; HEINZMANN, B.M. S-(+) -Linalool from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.41, p.621–629, 2014.

HIGUCHI, L.H.; FEIDEN, A.; MALUF, M.L.F.; DALLAGNOL, J.M.; ZAMINHAN, M. BOSCOLO, W.R. Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à dieta com diferentes níveis proteicos e energéticos. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, p.70–75, 2011.

HOSHINO, M.D.F.G.; MARINHO, R.G.B.; PEREIRA, D.F.; YOSHIOKA, E.T.O.; TAVARES-DIAS, M.; OZORIO, R.O.A.; RODRIGUEZ, A.F.R.; RIBERIO, R.A.; FARIA, F.S.E.D.V. Hematological and biochemical responses of pirarucu (*Arapaima gigas*, Arapaimidae) fed with diets containing a glucomannan product derived from yeast and algae. **Acta Amazonica**, v.47, p.87-94, 2017.

IMMANUEL, G.; UMA, R.P.; IYAPPARAJ, P.; CITARASU, T.; PETER, S.M.P.; BABU, M.M.; PALAVESAM, A. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Journal Fish Biology**, v.74, p.1462–1475, 2009.

LEE, S.J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K.G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v.91, p.131–137, 2005.

LEMOS, C.H. DA P.; RIBEIRO, C.V.; DI, M.; OLIVEIRA, C.P.B. DE.; COUTO, R.D.; COPATTI, C.E. Effects of interaction between pH and stocking density on the growth, haematological and biochemical responses of Nile tilapia juveniles. **Aquaculture**, v.495,

p.62–67, 2018.

LIMMA-NETTO, J.D.; SENA, A.C.; COPATTI, C.E. Essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation, anesthesia and recovery of tambacu (*piaractus mesopotamicus* male x *collossoma macropomum* female). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.42, p.727–733, 2016.

LIMMA-NETTO, J.D.; OLIVEIRA, R.S.M.; COPATTI, C.E. Efficiency of essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation and anaesthesia of Nile tilapia juveniles. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.89, p.2971–2974, 2017.

MOGHADDAM, A.M.D.; SHAYEGH, J.; MIKAILI, P.; SHARAF, J.D. Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, p.3453–3456, 2011.

MUSTAFA, G.; USMAN, K.H. Phytochemical constituents and pharmacological activities of sweet basil - *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Asian Journal of Chemistry**, v.23, p.3773–3782, 2011.

NIST. 2008. **EPA, NIH mass spectral library and search, analysis programs**. Hoboken, NJ: J. Wiley and Sons.

NGUGI, C.C.; OYOO-OKOTH, E.; MUCHIRI, M. Effects of dietary levels of essential oil (EO) extract from bitter limon (*Citrus limon*) fruit peels on growth, biochemical, haematoimmunological parameters and disease resistance in Juvenile *Labeo victorianus* fingerlings challenged with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Research**, v.48, p.2253–2265, 2017.

PANKHURST, N.W. The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. **General and Comparative Endocrinology**, v.170, p.265–275, 2011.

PEDROSA, R.U.; MATTOS, B.O.; PEREIRA, D.S.P.; RODRIGUES, M.L.; BRAGA, L.G.T.; FORTES-SILVA, R. Effects of feeding strategies on growth, biochemical parameters and waste excretion of juvenile arapaima (*Arapaima gigas*) raised in

recirculating aquaculture systems (RAS). **Aquaculture**, v.500, p.562–568, 2018.

RADHAKRISHNAN, S.; SARAVANA BHAVAN, P.; SEENIVASAN, C.; MURALISANKAR, T.; SHANTHI, R. Effects of native medicinal herbs (*Alternanthera sessilis*, *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth performance, digestive enzymes and biochemical constituents of the monsoon river prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. **Aquaculture Nutrition**, v.21, p.496–506, 2015.

REVERTER, M.; BONTEMPS, N.; LECCHINI, D.; BANAIGS, B.; SASAL, P. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. **Aquaculture**, v.433, p.50–61, 2014.

RUMSEY, G.L.; SIWICKI, A.K.; ANDERSON, D.P.; BOWSER, P.R. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.41, p.323–339, 1994.

SACCOL, E.M.H.; UCZAY, J.; PÊS, T.S.; FINAMOR, I.A.; OURIQUE, G.M.; RIFFEL, A.P.K.; SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; HEINZMANN, B.M.; LLESUY, S.F.; LAZZARI, R.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M.A. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: An analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. **Aquaculture**, v.416–417, p.244–254, 2013.

SENA, A.C.; TEIXEIRA, R.R.; FERREIRA, E.L.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B.; CARON, B.O.; COPATTI, C.E. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v.465, p.374–379, 2016.

SHAKYA, S.R. Medicinal uses of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) improves growth and enhances immunity in aquaculture. **International Journal of Chemical Studies**, v.3 p.83–87, 2015.

SOUZA, C.F.; SALBEGO, J.; GRESSLER, L.T.; GOLOMBIESKI, J.I.; FERST, J.G.; CUNHA, M.A.; HEINZMANN, B.M.; CARON, B.O.; GLANZNER, W.G.; GONÇALVEZ, P.B.D.; BALDISSEROTTO, B. Silver catfish submitted to a stressful condition: Effect of dietary addition of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown on metabolism, osmoregulation and endocrinology. **Neotropical Ichthyology**, v.13, p.707-714, 2015.

SUTILI, F.J.; VELASQUEZ, A.; PINHEIRO, C.G.; HEINZMANN, B.M.; GATLIN, D.M.; BALDISSEROTTO, B. Evaluation of *Ocimum americanum* essential oil as an additive in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. **Fish & Shellfish Immunology**, v.56, p.155–161, 2016.

TAVARES-DIAS, M.; BARCELLOS, J.F.M.; MARCON, J.L.; MENEZES, G.C.; ONO, E.A.; AFFONSO, E.G. Hematological and biochemical parameters for the pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Osteoglossiformes, Arapaimatidae) in net cage culture. **Electronic Journal of Ichthyology**, v.2, p.61-68, 2007.

THOLEN, D.W.; KALLNER, A.; KENNEDY, J.W.; KROUWER, J.S.; MEIER, K. **Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods**; Approved Guideline, 2nd ed., Pennsylvania: NCCLS document EP5-A2, 39 p. 2004.

WOOD, C.M.; GONZALEZ, R.J.; FERREIRA, M.S.; BRAZ-MOTA, S.; VAL, A.L. The physiology of the Tambaqui (*Colossoma macropomum*) at pH 8.0. **Journal of Comparative Physiology, Part B**, v.188, p.393–408, 2017.

ZHENG, Z.L.; TAN, J.Y.W.; LIU, H.Y.; ZHOU, X.H.; XIANG, X.; WANG, K.Y. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.292, p.214–218, 2009.

CAPÍTULO 2

Óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) na dieta de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo investigar o potencial do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) (OEZO) no desempenho e nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e histológicos de juvenis de tambaqui. Os peixes foram distribuídos aleatoriamente em 20 tanques (15 peixes/tanque), em cinco tratamentos contendo diferentes concentrações de OEZO (0,0 (controle); 0,50; 1,0; 1,5 e; 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹, por 60 dias. O principal composto químico foi zingibereno (31,80%). OEZO adicionado à dieta não melhorou a performance de crescimento. Os tratamentos com as maiores concentrações de OEZO reduziram os níveis de albumina, alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase plasmáticos e aumentaram os níveis de leucócitos, hemoglobina, plaquetas, glicose sanguínea e colesterol plasmático. O grupo controle apresentou os maiores valores para altura e largura de vilosidades intestinais e células caliciformes. A área de hepatócitos foi maior nos peixes suplementados com os maiores níveis de OEZO na dieta e o número de hepatócitos foi maior nos peixes que receberam entre 0,5 e 1,5 mL OEZO kg dieta⁻¹. Conclui-se que a adição de 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ é uma alternativa viável e promissora como aditivo alimentar, pois não comprometeu o crescimento e melhorou o estado geral de saúde dos juvenis de tambaqui.

Palavras-chave: aditivo alimentar, hepatócitos, leucócitos, vilosidades intestinais, zingibereno.

Essential oil of ginger (*Zingiber officinale*) in the tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) diet

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the potential of essential oil of ginger (*Zingiber officinale*) EOZO in growth performance and in hematological, biochemical and histological parameters of tambaqui juveniles. The fish were randomly distributed in 20 tanks (15 fish / tank), in five treatments containing different concentrations of EOZO (0.0 (control); 0.50; 1.0; 1.5 and; 2.0 mL EOZO kg diet⁻¹, for 60 days. The main chemical compound was zingiberene (31.80%). EOZO added to the diet did not improve growth performance. Treatments with the highest levels of EOZO reduced the plasma albumin, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase levels and increased leukocytes, hemoglobin, platelets numbers, blood glucose and plasma cholesterol levels. The control group had the highest values of height and width of intestinal villi and goblet cells. The hepatocytes area was higher in fish supplemented with the highest levels of OEZO in the diet and the number of hepatocytes was higher in fish that received between 0.5 and 1.5 mL EOZO kg diet⁻¹. It is concluded that the addition of 0.5 mL OEZO kg diet⁻¹ is a viable and promising alternative as a food additive, as it did not compromise growth and improved the general health status of tambaqui juveniles.

Key words: food additive, hepatocytes, leukocytes, intestinal villi, zingibereno.

INTRODUÇÃO

Dentre os principais objetivos da aquicultura está a melhoria no desempenho e saúde dos peixes, o que pode ser alcançado com o uso de aditivos alimentares em suas dietas (APINES-AMAR et al., 2012; HAGHIGHI et al., 2018). A aplicação de aditivos naturais de origem vegetal como os óleos essenciais tem ganho destaque, uma vez que eles apresentam benefícios para crescimento, digestibilidade e absorção dos nutrientes, além dos diversos mecanismos de ação antimicrobiana, antioxidante, imunomoduladora e imunoestimulante já registradas em peixes (NYA e AUSTIN, 2009; ZHENG et al., 2009; HARIKRISHNAN et al., 2011; SHEIKHZADEH et al., 2011; BABA et al., 2016; VALLADÃO et al., 2017; LOPES et al., 2018).

Neste sentido, o uso de gengibre (*Zingiber officinale*) pode apresentar benefícios quando adicionado à dieta animal. O gengibre pertence à família Zingiberaceae e é originário do Sudeste da Ásia, tendo sido amplamente difundido em todo o mundo (BRUM et al., 2017) devido aos seus benefícios à saúde humana. Tradicionalmente é utilizado na medicina popular em casos de perda de apetite, indigestão, inflamação, tosse, dor e náusea, além de ter ação como antioxidante, anti-inflamatória, imunomoduladora, hepatoprotetora e analgésica (CARRASCO et al., 2009; OMOYA e AKHARAIYI, 2011).

Estudos prévios têm registrado benefícios no uso de gengibre em dietas para peixes. O extrato de gengibre adicionado a dieta proporcionou um aumento no ganho de peso e na taxa de crescimento específico de juvenis de tilápia mossambicana (*Oreochromis mossambicus*) (IMMANUEL et al., 2009). Já a adição do gengibre *in natura* na dieta de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), robalo asiático (*Lates calcarifer*) e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) demonstraram resultados promissores para o ganho de peso e saúde (NYA e AUSTIN, 2009; TALPUR et al., 2013; HASSANIN et al., 2014). A suplementação do óleo essencial de gengibre *Z. officinale*

(OEZO) na dieta contribuiu com a melhoria no crescimento, na resposta imune e no metabolismo de juvenis de tilápia do Nilo (BRUM et al., 2017; 2018).

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie nativa da Bacia da Amazônia amplamente cultivada em sistemas intensivos em diferentes regiões do Brasil. Seu cultivo é facilitado devido ao seu hábito alimentar onívoro, rápido crescimento, boa conversão alimentar e rusticidade, além de ser apreciada pelos consumidores locais por sua carne saborosa (ARAUJO-LIMA e GOMES, 2005; DIAS et al., 2015). No Brasil, é a segunda espécie mais cultivada (19,7%), cuja produção foi de 102.30 toneladas em 2018 (IBGE, 2018). Em adição, embora já existam estudos que avaliaram o uso de gengibre em pó ou in natura na dieta de peixes (NYA e AUSTIN, 2009; TALPUR et al., 2013; HASSANIN et al., 2014), não existem estudos que tenham avaliado o potencial da utilização de OEZO na dieta de tambaqui. Desta forma, o presente estudo avaliou os efeitos da dieta contendo diferentes concentrações de OEZO em relação ao crescimento, parâmetros bioquímicos e hematológicos e alterações morfológicas intestinais e hepáticas em juvenis de tambaqui.

MATERIAL E MÉTODOS

Óleo essencial de Zingiber officinale

A planta foi cultivada de forma convencional, e o OEZO usado neste estudo foi obtido da empresa (LASZLO, Belo Horizonte, Brasil) (Tabela 1), extraído pelos métodos destilação por arraste a vapor da raiz da planta, conforme preconiza a British Pharmacopoeia (2007). O método de análise do OEZO foi através de cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massa 5975C (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) realizado pelo Laboratório de Química Instrumental da Universidade Federal de Minas Gerais, usando um cromatógrafo a gás

Agilent 7820A acoplado ao detector de ionização em chama (Agilent Technologies) e coluna capilar HP-5 (30 m x 0,32mm x 0,25 μ m; Agilent Technologies). O He foi utilizado como gás de arraste (1 mL min⁻¹) e as amostras injetadas (1 μ L) através do auto injetor na razão de split (1:5), mantido a 220 °C. A coluna cromatográfica a 60 °C (0 min) foi aquecida a uma taxa de 3 °C min⁻¹ até atingir 200 °C, a qual foi mantida por 30 min adicionais (ALMEIDA et al., 2016). A identificação dos constituintes foi realizada pela comparação dos índices de retenção com os dados do NIST (2008).

Tabela 1. Composição química de óleo essencial de *Zingiber officinale* determinado via cromatografia gasosa de alta resolução (NIST, 2008).

Composto químico	%
α -thujeno	0,2
α -pineno	2,5
Canfeno	8,3
Sabineno	0,4
Octenal	0,4
Mirceno	1,3
Careno	0,4
α -terpineno	0,3
p-cimeno	0,1
Limoneno	7,6
1,8-cineol	1,5
Acetato de geranyl	0,9
β -cariofileno	0,5
Germacreno D	1,8
Ar-curcumeno	12,4
α -muuroleno	1,2
Zingibereno	31,8
α -farneseno	7,7
β -bisaboleno	3,7

β -sesquifelandreno	13,0
Total identificado	96,0

Localização, animais e condições experimentais

A experimentação foi realizada na Estação de Aquicultura da Escola Agrícola de Jundiá da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Distrito de Macaíba, RN, Brasil. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRN (protocolo 052/2018 – certificado n°: 129.052/2018).

Os animais foram adquiridos de uma larvicultura comercial (Aquicultura Lawrence – Brejinho, RN, Brasil). Os juvenis de tambaqui (peso inicial de $24,16 \pm 0,13$ g) foram aclimatados e mantidos sob observação por uma semana. Posteriormente, foram pesados e distribuídos aleatoriamente (15 peixes tanque⁻¹), sendo estocados em 20 tanques circulares com capacidade para 500 L de água em sistema de recirculação, com aeração e filtros mecânico e biológico por um período experimental de 60 dias.

Os parâmetros de qualidade de água para oxigênio dissolvido ($5,51 \pm 0,11$ mg O₂ L⁻¹) e temperatura ($25,9 \pm 0,15$ °C) foram monitorados diariamente com o auxílio de um oxímetro (Instrutherm MO – 900, São Paulo, SP, Brasil), já os parâmetros referentes a pH ($6,82 \pm 0,05$), amônia total ($0,61 \pm 0,12$ mg N-NH₃ L⁻¹) e nitrito ($0,80 \pm 0,14$ mg N-NO₂ L⁻¹), foram mensurados duas vezes por semana através de reações colorimétricas de kit comercial (Alcon Ltda – Camboriú, SC, Brasil).

Dietas experimentais e desempenho zootécnico

As dietas experimentais (36,00% de proteína bruta e 4700 k cal⁻¹ de energia digestível) foram elaboradas no Laboratório de Nutrição Animal da UFRN, adaptando os valores requeridos para tilápia do Nilo (NRC, 2011), contendo diferentes concentrações do OEZO (0,50; 1,0; 1,5 e 2,0 mL Kg⁻¹), além do grupo controle, sem adição de OEZO

na dieta (Tabela 2). A quantidade de ingredientes foi a mesma em todos os tratamentos e a diferença ocorreu pela adição de OEZO de acordo com cada tratamento.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais fornecida aos juvenis de tambaqui.

Ingredientes	%
Farelo de soja (45%) ¹	50,30
Milho moído ¹	25,40
Farinha de peixe (55%) ¹	9,70
Farinha de trigo ¹	10,00
Fosfato bicálcico ¹	2,55
Óleo de soja ²	0,83
Premix ^{1*}	0,50
Sal ³	0,50
Vitamina C ¹	0,20
BHT ¹	0,02

¹Ingredientes: Farelo de soja, Milho moído, Farinha de peixe, Farinha de trigo, Fosfato bicálcico, Premix, Vitamina C e BHT: Guaraves Alimentos, Guarabira, PB, Brasil. ²Óleo de soja: Bunge Alimentos S/A, Brasília, DF, Brasil. ³Sal: Refinaria de Sal S/A, São Paulo, SP, Brasil.

*Níveis de garantia (por kg): vit. A, 450.000 UI kg⁻¹; vit. D3, 2.885.000 UI kg⁻¹; vit. E, 1.000,00 UI kg⁻¹; vit. K3, 1.250 mg kg⁻¹; vit. B1, 100,00 mg kg⁻¹; vit. B2, 300,00 mg kg⁻¹; vit. B6, 150,01 mg kg⁻¹; vit. B12, 750,00 µg kg⁻¹; Ác. Nicotínico, 1750 mg kg⁻¹; Ác. Pantotênico, 600,00 mg kg⁻¹; Biotina, 5,00 mg kg⁻¹; Ác. Fólico, 75,00 mg kg⁻¹; Colina, 8.700, 17 mg kg⁻¹; Metionina, 32,99 g kg⁻¹; Fitase, 66.650,00 FYT kg⁻¹; Ferro, 1.666,00 mg kg⁻¹; Cobre, 333,32 mg kg⁻¹; Zinco, 2.166,71 mg kg⁻¹; Manganês, 2.116,58 mg kg⁻¹; Sódio, 50,66 mg kg⁻¹; Selênio, 12,50 mg kg⁻¹; Iodo, 33,33 mg kg⁻¹; Cálcio, 213,67 g kg⁻¹.

Para a confecção das dietas, os ingredientes foram moídos (placa de matriz de moedor de carne 0,8 mm), pesados, misturados e o OEZO foi adicionado juntamente com o óleo de soja. Então, os ingredientes foram homogeneizados, umedecidos (25% de água p/p) e peletizados em uma máquina elétrica experimental (Skymesen PSEE - 10, Brusque, SC, Brasil). Em seguida, os alimentos foram secos à temperatura ambiente (25,0 °C) por 48 h. Quando secos, os pellets foram fracionados em diâmetros compatíveis com o tamanho da boca do peixe e, em seguida, foram armazenadas em recipientes plásticos protegidos da luz e mantidas sob refrigeração (4 °C) até a sua utilização. As dietas experimentais foram fornecidas até a saciedade aparente, em três refeições diárias (08:00,

12:00 e 16:00 h). E a avaliação do consumo de cada unidade experimental foi mensurado a cada três dias, pela diferença do peso das rações contida nos recipientes para cada unidade experimental.

Avaliação de crescimento

Ao final do período experimental, os peixes ficaram em jejum por 24 h. O peso (balança digital Prix 3 – Toledo, precisão de 0,01 g, São Bernardo do Campo, SP, Brasil) e o comprimento total (CT, cm) dos animais de todas as unidades experimentais foram mensurados para cálculo dos seguintes parâmetros de desempenho produtivo:

- ganho de peso (GP, g) = PF (g) – PI (g); em que PF e PI são peso final e peso inicial, respectivamente;
- taxa de crescimento específico (TCE, % dia⁻¹) = 100 x (ln p – ln PI)/t (dias), em que PF, PI e t são peso final, peso inicial e tempo, respectivamente;
- conversão alimentar aparente (CAA) = RC (g)/GP; em que RC e GP são ração consumida e ganho de peso, respectivamente;
- índice hepatossômico (HIS, %) = 100 x (peso do fígado (g)/peso corporal (g));
- fator de condição (FC, g cm⁻³) = 100 x (peso corporal (g)/comprimento corporal (cm))³;
- taxa de sobrevivência (SOB, %) = [(n° final peixes x 100)/n° peixes inicial].

Coleta de amostras

Para realização das análises de sangue, seis peixes de cada tanque (n= 24 peixes tratamento⁻¹), foram anestesiados com solução de eugenol (50 mg L⁻¹) para coleta de 2 mL de sangue por punção venocaudal. Desta forma, foram utilizados 3 peixes tanque⁻¹ para análises hematológicas e de glicose e outros 3 peixes/tanque para coleta de sangue para

obtenção do plasma. Outros 2 peixes tanque⁻¹ foram eutanasiados com solução de eugenol (200 mg L⁻¹) para as coletas de fígado e intestino destinados a análises histológicas.

Análises sanguíneas e plasmáticas

A glicose (mg dL⁻¹) foi mensurada por meio de fitas de reagente através de um glicosímetro digital (G-Tech Free 1, Duque de Caxias, RJ, Brasil), imediatamente após a coleta de sangue.

A análise do hematócrito foi realizada por centrifugação capilar de acordo com Goldenfarb et al. (1971). Os tubos capilares heparinizados foram preenchidos com amostra de sangue, fechados com um material apropriado e centrifugados em 12.000x g por 5 min (Wiener lab. Counter 19, São Paulo, SP, Brasil). A leitura foi feita numa escala padronizada. O índice de hemoglobina foi determinado de acordo com Collier (1944). Foram adicionados 10 µL de sangue a 2 mL de solução de Drabkin, homogeneizados em vortex e a leitura no espectrofotômetro foi realizada a 540 nm. Foi realizada a contagem de eritrócitos em câmara de Neubauer em microscópio óptico com aumento de 400x. Os valores dos índices hematimétricos de volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM) foram determinados a partir do número de eritrócitos, índice de hemoglobina e hematócrito (WINTROBE, 1934). Plaquetas e leucócitos foram analisados através do princípio da impedância volumétrica (método Coulter) (BACALL, 2009).

O sangue destinado para obtenção de plasma foi centrifugado em 10.000x g por 10 min (4 °C) (Fanem® Excelsa® II modelo 206-BL, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, o material foi armazenado e refrigerado (- 20 °C). Para determinação das análises bioquímicas plasmáticas foi utilizado um analisador semiautomatizado bioquímico (Bioclin, Mindray BA-88A, Belo Horizonte, MG, Brasil). O plasma obtido foi destinado

às determinações de triglicerídeos (mg dL^{-1}), proteínas totais (g dL^{-1}), albumina (g L^{-1}), colesterol (mg dL^{-1}), AST (Aspartato Aminotransferase) (U mL^{-1}) e ALT (Alanina Aminotransferase) (U mL^{-1}) pelo método enzimático colorimétrico, utilizando kits comerciais da Bioclin® (COPLEY, 1941).

Análise histológica do intestino e fígado

Foram coletados 2 cm tanto de fígado, quanto de intestino (porção anterior e posterior). Os tecidos foram fixados em formalina 10% (24 h) e, posteriormente, foram conservadas em álcool 70% até a realização das análises. As amostras passaram pelo procedimento histológico com banhos de série crescentes de álcool para desidratação, e diafanizadas em série de xilol. Posteriormente foram incluídas em blocos de parafina, e em seguida foram realizados os cortes por meio de um micrótomo com cortes transversais ($5 \mu\text{m}$), sendo fixados em lâminas e submetidos a coloração hematoxilina-eosina (HE) e ácido periódico e reativo de Schiff (PAS) (PROPHET et al., 1992).

Os cortes histológicos foram avaliados quanto às características morfológicas, sendo o material fotografado pelo programa de software Axo Vision Le® 4.8.2 a partir de microscópio biológico binocular Axio Scope A1 (ZEISS, João Pessoa, PB, Brasil) com uso de câmera para microscópio AxionCam ICc 3 (ZEISS). Foram ponderadas dez microfotografias por repetição, totalizando 200 microfotografias por tratamento, tanto para as amostras do intestino, quanto do fígado. A análise e quantificação das amostras microfotografadas ocorreu através do programa Motic Images Plus 3.0.

As amostras de intestino foram microfotografadas com ampliação de 20x e 40x para medir as seguintes variáveis: altura e largura (μm) das vilosidades e espessura do epitélio (μm) (SCHWARZ et al., 2011). A altura foi obtida do ápice da base de cada vilosidade, o comprimento através da medida do perímetro de cada vilosidade, a largura

da vilosidade região mediana (em linha reta) e a espessura do epitélio foi obtida a partir de uma das extremidades da região mediana. Para a análise de quantificação foi realizada por meio de um desenho de grade de Mers modificada, com um conjunto sistemático de janelas aleatórias de área, formando pontos equidistantes e linhas paralelas (HOWARD e REED). A medida da variável foi expressa pela média do número de células apresentadas dentro dos pontos contados no campo (histológico) da área quadrada determinada, calculando-se a quantidade de pontos necessários para um erro padrão relativo.

As amostras de fígado foram microfotografadas com ampliação de 20x e 40x para quantificar as seguintes variáveis: número, área (μm) (medida da superfície do hepatócito) e perímetro dos hepatócitos (μm) (soma de todos os lados) (GUNDERSEN, 1977). A análise de quantificação ocorreu similarmente a análise histologia de intestino.

Análises estatística

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão. A homocedasticidade das variâncias foi verificada através do teste de Levene. Realizou-se uma análise de variância (ANOVA) de uma via seguida de teste post-hoc de Tukey. Em seguida, os efeitos do OEZO em relação às variáveis foram avaliados de acordo com a regressão polinomial. O nível mínimo de significância foi 5% ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Desempenho de crescimento

Foi verificado efeito linear negativo para peso final ($y = 91,786 - (3,178x)$; $R^2 = 0,95$); GP ($y = 67,610 - (3,220x)$; $R^2 = 0,95$); CT ($y = 174,478 - (-3,192x)$; $R^2 = 0,70$) e TCE ($y = 2,226 - (0,066x)$; $R^2 = 0,92$) e efeito linear positivo para IHS ($y = 1,942 +$

(0,090x); $R^2 = 0,89$). Peso inicial, CAA, FC e sobrevivência não apresentaram regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 3).

Tabela 3. Desempenho de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Peso Inicial	23,97±0,27	24,34±0,33	24,48±0,34	24,14±0,22	24,18±0,36
Peso Final*	91,91±2,53	90,30±1,50	88,66±4,98	86,11±3,36	86,06±3,94
GP*	67,94±2,45	65,97±1,18	64,18±1,61	61,97±3,18	61,89±3,95
CT*	174,07±2,01	174,88±1,26	168,74±3,06	170,42±2,81	168,32±1,50
TCE*	2,24±0,04	2,19±0,01	2,14±0,04	2,12±0,05	2,11±0,08
FC	1,75±0,07	1,69±0,05	1,84±0,02	1,74±0,07	1,81±0,13
Consumo	1347,33±57,88	1247,23±39,29	1319,90±77,97	1219,08±30,33	1190,58±66,60
CAA	1,32±0,01	1,29±0,03	1,38±0,03	1,35±0,03	1,28±0,02
IHS*	1,96±0,12	1,99±0,07	1,99±0,07	2,08±0,08	2,14±0,06
SOB	100±0,00	98,33±1,67	100±0,00	98,33±1,67	100±0,00

Peso inicial, Peso final, GP (ganho de peso) e CAA (conversão alimentar aparente) são expressos em g, CT (comprimento total) é expresso em cm, TCE (taxa de crescimento específico) é expresso em % dia⁻¹, FC (fator de condição) é expresso em g cm⁻³ e IHS (índice hepatossomático) e Sob (sobrevivência) são expressos em %. Os dados são apresentados como média ± erro padrão (n = 4 tanques por tratamento). Não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p > 0,05$). * Indica regressão linear.

Variáveis hematológicas

Para as variáveis hematológicas, foi verificado efeito linear positivo para leucócitos ($y = 190,992 + 3,504x$; $R^2 = 0,72$); hemoglobina ($y = 11,736 + 0,278x$; $R^2 = 0,74$) e plaquetas ($y = 25,354 + 3,150x$; $R^2 = 0,71$). Para hemácias, hematócrito e índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) não ocorreu regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 4).

Tabela 4. Variáveis hematológicas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Hct	28,33±0,70	25,98±0,54	28,01±0,68	28,18±0,78	28,27±0,70
Hemácias	1,69±0,04	1,56±0,03	1,71±0,03	1,71±0,05	1,72±0,05
Hg*	11,87±0,24	11,71±0,16	11,93±0,22	12,28±0,29	12,28±0,24
VCM	168,15±1,18	166,38±1,38	164,09±1,18	166,80±1,47	165,05±1,51
HCM	71,64±1,10	74,09±1,03	69,98±0,88	72,60±1,03	72,16±1,30
CHCM	42,87±0,43	44,69±0,62	42,68±0,47	43,60±0,53	43,76±0,62
Leucócitos*	193,04±2,92	190,68±2,39	193,98±2,62	195,28±3,06	199,50±4,15
Plaquetas*	23,67±2,61	29,58±3,73	28,10±3,29	29,67±4,47	31,50±4,32

Leucócitos é expresso em $\times 10^3/\mu\text{L}$, Hemácias é expresso em $\times 10^6/\mu\text{L}$, Hg (hemoglobina) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) são expressos em g dL^{-1} , Hct (hematócrito) é expresso em %, Plaquetas é expresso em μL , VCM (volume corpuscular médio) é expresso em fL e HCM (hemoglobina corpuscular médio) é expresso em pg. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão ($n = 12$ peixes por tratamento). Não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p > 0,05$). * Indica regressão linear.

Variáveis Bioquímicas

Foi observado efeito linear positivo para glicose sanguínea ($y = 92,888 + 5,730x$; $R^2 = 0,77$) e colesterol plasmático ($y = 90,834 + 0,716x$; $R^2 = 0,78$), enquanto que para albumina ($y = 1,198 - (0,068x)$; $R^2 = 0,89$), ALT ($y = 3,534 - (0,314x)$; $R^2 = 0,80$) e AST plasmáticos ($y = 173,346 - (15,772x)$; $R^2 = 0,88$) ocorreu efeito linear negativo. Para triglicérides plasmáticos e proteínas totais não ocorreu regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 5).

Tabela 5. Variáveis bioquímicas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Albumina*	1,18±0,06	1,19±0,07	1,12±0,07	1,11±0,06	1,05±0,05
Colesterol*	90,72±2,70	91,62±1,94	91,15±3,14	91,88±1,49	92,38±2,38
Prot totais	3,75±0,11	3,87±0,09	3,83±0,12	3,74±0,07	3,80±0,08
Triglicérides	208,06±6,53	225,50±11,04	212,69±10,16	195,79±10,17	212,73±7,00

ALT*	3,58±0,40	3,43±0,37	3,14±0,47	2,90±0,37	3,06±0,23
AST*	178,54±21,47	159,31±15,19	154,80±25,34	152,91±16,90	142,31±14,91
Glicose*	93,76±6,92	97,25±4,98	95,83±3,60	99,08±2,74	107,17±3,50

Albumina e Prot totais (Proteínas totais) são expresso em g dL^{-1} , ALT (Alanina aminotransferase) e AST (Aspartato aminotransferase) são expressos em U L^{-1} , Colesterol, Triglicérides e Glicose são expressos em mg dL^{-1} . Glicose é variável sanguínea e as demais variáveis são plasmáticas. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão ($n = 12$ peixes por tratamento). Não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p > 0,05$). * Indica regressão linear.

Histomorfometria das vilosidades intestinais

A análise histológica do intestino, foram observadas em todos os tratamentos presença de pinocitose e células caliciformes formando o epitélio simples e fibras musculares lisas. Igualmente, a estrutura das vilosidades e microvilosidades intestinais é exibida de forma bem organizada e compactada, sem sinal de danos (Figura 1).

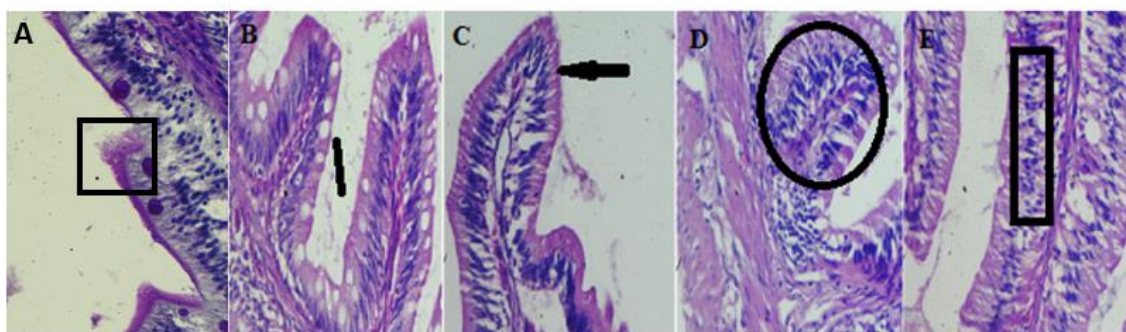


Figura 1. Secções histológicas transversais das vilosidades intestinais de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO), coradas em HE e PAS. Em mL kg dieta^{-1} : A: 0,0 (controle); B: 0,5; C: 1,0; D: 1,5 e; E: 2,0. Aumento: 40x. Quadrado indica microvilosidades; traço indica células caliciformes; seta indica epitélio simples colunar (célula absorptiva), fibras musculares lisas e borda em escova; círculo indica interior das vilosidades e; retângulo indica camada muscular da mucosa, camada submucosa e enterócitos. $n = 8$ peixes por tratamento.

Foi verificado regressão linear negativa em relação à altura das vilosidades ($y = 161,186 - (7,934x)$; $R^2 = 0,78$) e número de células caliciformes ($y = 83,520 - (9,373x)$; $R^2 = 0,86$). Para espessura do epitélio ocorreu regressão quadrática ($y = 28,776 - (4,534x) +$

($2,062x^2$); $R^2 = 0,98$) (Tabela 6).

Tabela 6. Histomorfometria das vilosidades intestinais de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
AV*	160,54±9,84	161,33±5,66	149,80±4,42	146,44±6,67	148,15±3,37
LV	62,32±3,90	52,55±1,54	56,36±1,89	54,86±1,81	55,08±1,61
EP**	28,86±1,96	26,88±2,70	26,23±0,94	26,85±1,49	27,84±1,44
CC*	80,81±8,19	81,54±10,96	73,79±7,81	72,90±9,08	61,70±4,15

AV (altura das vilosidades), LV (largura das vilosidades) e EP (espessura do epitélio) são expressos em μm , CC = N° de células caliciformes. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). * Indica regressão linear. ** Indica regressão quadrática.

Histomorfometria das células hepáticas

Em todos os tratamentos, as células hepáticas foram caracterizadas por cordões lineares, com capilares sinusoides irradiando para veias centrais, com diversos formatos (hexagonal e redondo com núcleo acentuado, periférico) (Figura 2). No tratamento 1,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ foi possível observar aparecimento de alguns vacúolos no interior dos hepatócitos, inúmeros hepatócitos (binucleados) e alguns hepatócitos com necrose (Figura 2D). Para o tratamento 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹, ocorreram alterações morfológicas como maior presença de vacúolos no interior dos hepatócitos e muitos hepatócitos com necrose (Figura 2E).

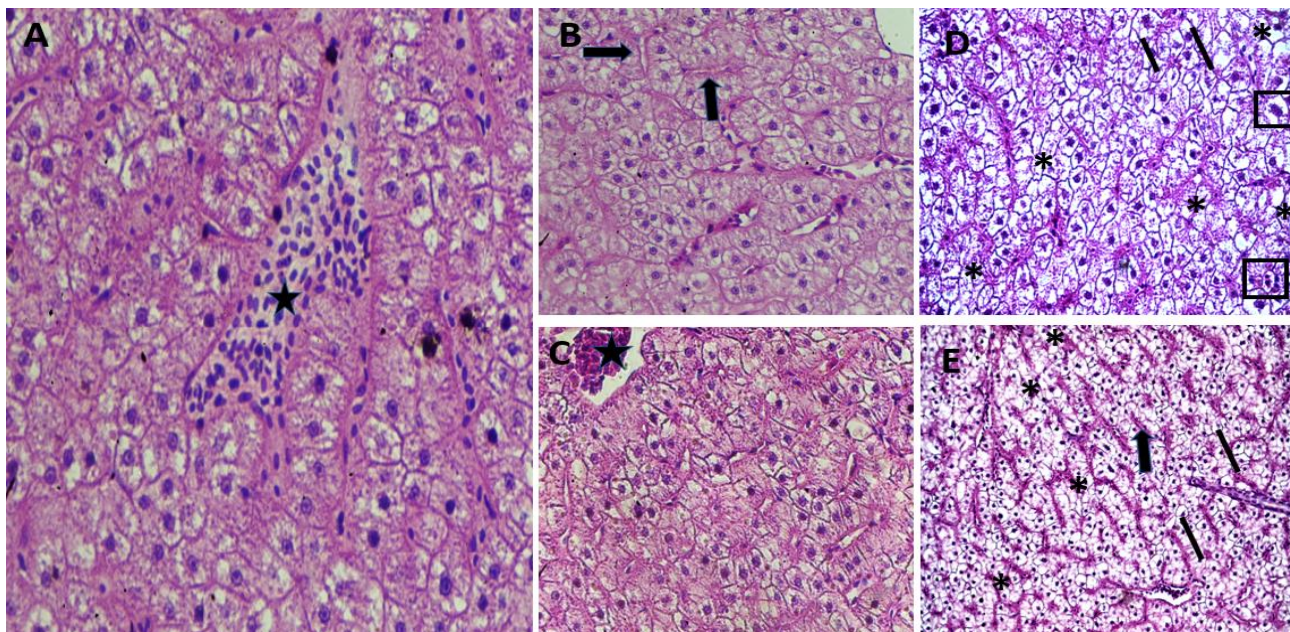


Figura 2. Secções histológicas transversais de células hepáticas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO), coradas em HE e PAS. Em mL kg dieta⁻¹: A: 0,0 (controle); B: 0,5; C: 1,0; D: 1,5 e; E: 2,0. Aumento: 40x. Estrela indica congestão sanguínea; seta indica capilares sinusoides; traço retilíneo indica vesículas no interior dos hepatócitos; quadrado indica hepatócitos binucleados e; asterisco indicam necrose de hepatócitos. n = 8 peixes por tratamento.

A área do hepatócito dos peixes do grupo controle foi menor estatisticamente em comparação aos peixes dos demais tratamentos ($p < 0,005$). Foi verificada regressão linear positiva para área do hepatócito ($y = 109,070 + (13,038x)$; $R^2 = 0,672$). O número dos hepatócitos demonstrou regressão quadrática ($y = 74,281 + (17,132x) - (9,603x^2)$; $R^2 = 0,85$), com os maiores valores sendo encontrados nos peixes que receberam entre 0,5 e 1,5 mL OEZO kg dieta⁻¹. Para perímetro do hepatócito não ocorreu regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 7).

Tabela 7. Histomorfometria das células hepáticas de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
NH**	73,78±3,81	82,39±3,41	78,98±5,19	80,20±3,85	69,69±5,69
AH*	100,84±6,20 ^b	123,08±3,41 ^a	124,73±3,81 ^a	133,79±3,70 ^a	128,08±2,36 ^a
PH	44,75±1,17	43,83±0,77	44,67±0,99	46,59±1,42	44,61±0,75

AH (Área do hepatócito) e PH (Perímetro do hepatócito) são expressos em μm . NH = número de hepatócitos. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p < 0,05$). * Indica regressão linear. ** Indica regressão quadrática.

DISCUSSÃO

O gengibre suplementado na dieta é conhecido por seu benefício para o estado fisiológico e de sanidade dos peixes devido ao seu efeito antioxidante (MAHMOUND et al., 2019; NYADJEU et al., 2020). O gengibre é uma substância antioxidante que impede os radicais livres e a peroxidação lipídica devido aos seus compostos fenólicos, como o zingibereno (KIM et al., 2007), componenete químico predominante no corrente estudo (31,80%). Assim, o zingibereno (isolado ou conjuntamente com outros componentes minoritários) poderia contribuir para o fortalecimento imunológico e a manutenção do estado fisiológico dos peixes (NYADJEU et al., 2020), os quais poderiam beneficiar a performance de crescimento dos juvenis.

Os dados de desempenho zootécnico apontam que as maiores concentrações de OEZO na dieta reduziram o crescimento dos juvenis de tambaqui, o que poderia indicar que a energia que seria usada para o crescimento foi desviada para outra finalidade. Apesar disso, peixes alimentados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ apresentaram uma performance de crescimento similar àquela verificada para os peixes do grupo controle.

Embora OEZO não tenha contribuído para o crescimento dos juvenis de tambaqui no presente estudo, os valores de leucócitos, hemoglobina e plaquetas mostraram tendências crescentes à medida em que foi aumentada a concentração de OEZO na dieta,

o que pode indicar uma contribuição para a defesa imunológica dos peixes (TALPUR et al., 2013; NYA e AUSTIN et al., 2009; MOHAMMADI et al., 2020). Em geral, os leucócitos estão relacionados a uma melhora no sistema imunológico, contribuindo para resolução de respostas inflamatórias (VALLEJOS-VIDAL et al., 2016). Este aumento na contagem de leucócitos a partir da suplementação do gengibre na dieta também foi relatado em estudos prévios com robalo asiático (TALPUR et al., 2013), truta arco-íris (NYA e AUSTIN et al., 2009), esturjão branco (*Huso huso*) (GHOLIPOUR KANANI et al., 2013), tilápia do Nilo (BRUM e al., 2017) e carpa comum (MOHAMMADI et al., 2020). Desta forma, a suplementação com OEZO na dieta pode ser eficaz em estimular os leucócitos, o que contribuiria com o aprimoramento da imunidade inespecífica ou inata e, conseqüentemente, com a redução da produção de células inflamatórias (KUMAR et al., 2007; APINES-AMAR et al., 2012; ZADMAJID e MOHAMMADI, 2017; MOHAMMADI et al., 2020).

Talpur et al. (2013) comentaram que o gengibre em pó quando suplementado na dieta de robalo asiático (10 g kg^{-1}) melhorou a imunidade inespecífica e reduziu a mortalidade após o desafio contra *Vibrio harveyi*. Similarmente ao corrente estudo, Dugenci et al. (2003) verificaram que o uso de extrato aquoso de raízes de gengibre em pó (1,0%) desencadeou uma resposta imune não específica em trutas arco-íris. Em adição, o aumento dos níveis de plaquetas (ou trombócitos) também contribuiu com a imunidade dos peixes, pois são células multifuncionais que vão participar do processo de coagulação e auxiliar nos mecanismos de defesa (SANTOS e TAVARES-DIAS, 2011; RANZANI-PAIVA et al., 2013).

Além de leucócitos e plaquetas, os níveis plasmáticos de albumina também são indicadores do estado de imunidade dos peixes (HOSEINI e YOUSEFI, 2018). Embora peixes que receberam entre 1,5 e 2,0 mL OEZO kg^{-1} dieta aumentaram os níveis de

leucócitos e plaquetas, um efeito compensatório pode ter ocorrido em relação ao seu estado imunológico, uma vez que nestes tratamentos, de forma geral, ocorreu uma redução nos níveis plasmáticos de albumina.

As proteínas totais do plasma, quando em altas concentrações, são relacionadas a uma melhora da resposta imune específica, além de contribuir para o aprimoramento dos elementos humorais do soro (HAGHIGHI e ROHANI, 2013) e melhora na pressão osmótica do sangue (MELO et al., 2009; BRUM et al., 2018). No presente estudo, valores mais elevados de proteínas totais plasmáticas ocorreram nos tambaquis alimentados com dietas contendo entre 0,5 e 1,0 mL OEZO kg⁻¹. O aumento dos níveis de albumina plasmática são indicativos de uma maior resposta imune não específica (POURMOGHIM et al., 2015). No corrente estudo, peixes alimentados com 0,0 ou 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ apresentaram os valores mais altos para esta variável.

O aumento da síntese de hemoglobina é um mecanismo que visa atender efetivamente a demanda de oxigênio aos tecidos (WELLS, 2009). Assim, uma elevação nos níveis de hemoglobina pode resultar em maior oferta de oxigênio para o organismo. Este resultado coincide com as investigações de Talpur et al. (2013), em que os níveis de hemoglobina foram maiores nos juvenis de robalo asiático que receberam gengibre em sua dieta, demonstrando um efeito benéfico à saúde dos peixes. De acordo com os nossos resultados, houve uma inter-relação com os valores de hemoglobina e glicose sanguínea, indicando que maiores concentrações de OEZO na dieta podem ter contribuído para aumentar a energia e melhorar a capacidade de transporte de O₂, o que embora não tenha sido refletido em ganho de crescimento, pode ter contribuído para melhora do bem-estar animal. Ainda assim, a elevação dos níveis de glicose sanguínea também pode ser resultante da característica termogênica do gengibre, o que pode ocasionar no aumento da secreção das catecolaminas e, conseqüentemente, da glicogenólise no fígado

(PLANTENGA et al., 2006; MARIANO et al., 2011). Em estudo com tilápia do Nilo, Antache et al. (2014) também verificaram um maior nível de glicose sanguínea em peixes alimentados com gengibre em pó.

A ação das enzimas AST e ALT plasmáticas podem ser aumentadas em respostas a alguma alteração do metabolismo dos nutrientes, sendo tais enzimas consideradas indicativos de um possível efeito prejudicial ao tecido hepático (ZADMAJID e MOHAMMADI, 2017; ZARGAR et al., 2019). De acordo com os resultados do presente estudo, as atividades das enzimas AST e ALT do plasma diminuíram com o aumento das concentrações de OEZO na dieta de tambaqui, o que é um indicativo de ausência de danos ao fígado (BRUM et al., 2018). Resultados semelhantes foram descritos por Jahanjoo et al. (2018), em que os níveis de AST e ALT diminuíram em sobaity sea bream (*Sparidentex hasta*) suplementados com uma mistura de alho e gengibre, indicando uma melhora na saúde hepática.

Em uma avaliação integrativa no corrente estudo, a redução dos níveis de ALT e AST plasmáticos, juntamente com a redução do número de hepatócitos verificada nos peixes que receberam as concentrações mais altas de OEZO na dieta (1,5 ou 2,0 mL kg dieta⁻¹), poderia representar um efeito compensatório ao aumento da área de células hepáticas e da hepatodistrofia difusa (hipertrofia, congestão e esteatose de hepatócitos) verificada nos peixes submetidos a estas dietas. Isso demonstra que a suplementação do OEZO na dieta não gerou danos mais severos as células hepáticas, conforme evidenciado pela diminuição dos níveis das enzimas ALT e AST do plasma e pelo número de hepatócitos. Entretanto, o que pode ter ocorrido no parênquima hepático destes peixes foi um maior grau de vacuolização, ocasionando acúmulo de lipídios nos hepatócitos (BOLLA et al., 2011).

Em adição, os níveis de colesterol plasmático no presente estudo tiveram um

aumento com a elevação das concentrações de OEZO adicionadas à dieta de tambaqui. O colesterol é indicativo de estado nutricional e disfunção no metabolismo de lipídios e lipoproteínas no fígado (WAGNER et al., 2004). Porém, compostos comumente presentes no gengibre como a saponina, são capazes de reverter os efeitos da hiperlipidemia (TALPUR et al., 2013), demonstrando que o leve aumento dos níveis de colesterol plasmático verificado no corrente estudo para os peixes alimentados com as maiores concentrações de OEZO na dieta não devem ter comprometido a sua saúde.

Finalmente, os juvenis de tambaqui que receberam as maiores concentrações de OEZO na dieta apresentaram uma redução na altura das vilosidades intestinais relacionada a uma redução no número de células caliciformes. A redução do tamanho das vilosidades intestinais pode desencadear uma redução na absorção dos nutrientes (VALLADÃO et al., 2017), pois pode reduzir a integridade da mucosa intestinal e proporcionar menor área de contato das células absorptivas para os nutrientes (CARVALHO et al., 2011; ADEOYE et al., 2016). As células caliciformes, por sua vez, são responsáveis por produzir um muco com a finalidade de proteção dos enterócitos (MCCAULEY et al., 2015), além de possibilitar o transporte de macromoléculas através da membrana, conferindo proteção e lubrificação do epitélio (DÍAZ et al., 2008; INAMI et al., 2009).

CONCLUSÃO

O OEZO tem potencial para a melhoria da saúde de juvenis de tambaqui devido ao seu efeito estimulador nos níveis sanguíneos de leucócitos, hemoglobina e plaquetas, além de redutor de níveis de ALT e AST plasmáticos e número de hepatócitos. Contudo, como concentrações de OEZO acima de 1,0 mL kg dieta⁻¹ podem comprometer a performance de crescimento dos juvenis, uma concentração de 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹

é a mais indicada para contribuir com a saúde de tambaqui, sem prejuízo ao seu crescimento e sem causar danos hepáticos ou redução das vilosidades intestinais. Além disso, novos estudos que avaliam outros parâmetros como enzimais digestivas e indicadores de estresse oxidativo são requeridos para uma melhor compreensão da ação dos compostos bioativos de OEZO no desenvolvimento de juvenis de tambaqui.

REFERÊNCIAS

ADEOYE, A.A.; JARAMILLO-TORRES, A.; FOX, S.W.; MERRIFIELD, D.L.; DAVIES, S.J. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v.215, p.133–143, 2016. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.03.002

ALMEIDA, A.C. De; MORÃO, R.P.; MARTINS, E.R.; FONSECA, F.S.A. Da; SOUZA, C.N. De; PRATES, J.P.B.; OLIVEIRA, F.D. De; Da SILVA, L.M.V. Atividade antisséptica do óleo essencial de *Lippia origanoides* Cham. (Alecrim-pimenta) na presença de leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, p.905–911, 2016. Doi: 10.1590/s0100-736x2016000900018

ANTACHE, A.; CRISTEA, V.; GRECU, I.; DEDIU, L.; CREȚU, M.; PETREA, S.M. The influence of some phytobiotics on haematological and some biochemical indices at *Oreochromis Niloticus*–Linnaeus, 1758. **Journal of Animal Science Biotechnology**, v. 47, p.192-199, 2014.

APINES-AMAR, M.J.S.; AMAR, E.C.; FAISAN JR., J.P.; PAKINGKING JR., R.V.; SATOH, S. Dietary onion and ginger enhance growth, hemato-immunological responses, and disease resistance in brown-marbled grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*. **Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation Internation Journal of the Bioflux Society**, v.5, p.231–239, 2012.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In:

Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ª Ed. Baldisserotto, B.; Gomes, L.C., Ed. UFSM. p.67-104, 2005.

BABA, E.; ACAR, U.; ONTAS C.; KESBIC, O.S.; YILMAZ, S. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture**, v.465, p. 13–18, 2016. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.08.023

BACALL, N.S. Analisador automático hematológico e a importância de validar novos equipamentos em laboratórios clínicos. **Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia**, v.31, p.218-210, 2009. Doi: 10.1590/S1516-84842009000400006

BRITISH PHARMACOPOEIA. London: British **Pharmacopoeia Commission**, 2007.

BHOSALE, S.V.; BHILAVE, M.P.; NADAF, S.B. Formulation of fish feed using ingredients from plant sources. **Research Journal of Agricultural Science**, v.1, p.284–287, 2010.

BOLLA, S.; NICOLAISEN, O.; AMIN, A. Liver alterations induced by long term feeding on commercial diets in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) females. Histological and biochemical aspects. **Aquaculture**, v. 312, p. 117–125, 2011. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.12.019

BRUM, A.; PEREIRA, S.A.; OWATARI, M.S.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, M.L. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**, v.468, p.235–243, 2017. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.10.020

BRUM, A.; PEREIRA, S.A.; CARDOSO, L.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, M.L. Blood biochemical parameters and melanomacrophage centers in Nile tilapia fed essential oils of clove basil and ginger. **Fish & Shellfish Immunology**, v.74, p.444–449, 2018. Doi: 10.1016/j.fsi.2018.01.021

CARRASCO, F.R.; SCHMIDT, G.; ROMERO, A.L.; SARTORETTO, J.L.; CAPARROZ-ASSEF, S.M.; BERSANI-AMADO, C.A.; CUMAN, R.K. Immunomodulatory activity of *Zingiber officinale* Roscoe, *Salvia officinalis* L. and *Syzygium aromaticum* L. essential oils: evidence for humor- and cell-mediated responses. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.61, p.961-967, 2009. Doi: 10.1211/jpp/61.07.0017

CARVALHO, J.V.; LIRA, A.D.; COSTA, D.S.P.; MOREIRA, E.L.T.; PINTO, L.F.B.; ABREU, R.D.; ALBINATI, R.C.B. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do -Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, p.176-187, 2011.

COLLIER, H.B. The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v.50, p.550-552, 1944.

COPLEY, N.G. Alloxan and ninhydrin test. **Analyst.**, v.66, p.492-493, 1941.

DIAS, M.K.R.; NEVES, L.R.; MARINHO, R.G.B.; TAVARES-DIAS, M. Parasitic infections in tambaqui from eight fish farms in Northern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, p.1070-1076, 2015. Doi: 10.1590/1678-4162-7592

DÍAZ, A.O.; GARCÍA, A.M.; GOLDEMBERG, A.L. Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study. **Acta Histochemica**, v.110, p.76–85, 2008. Doi: 10.1016/j.acthis.2007.08.002

DUGENCI, S.K.; ARDA, N.; CANDAN, A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.99–106, 2003. Doi: 10.1016/s0378-8741(03)00182-x

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v.56, p.35–39, 1971. Doi: 10.1093/ajcp/56.1.35

GHOLIPOUR KANANI, H.; NOBAHAR, Z.; KAKOOLAKI, S.; JAFARIAN, H. Effect of ginger- and garlic-supplemented diet on growth performance, some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso huso*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.40, p.481–490, 2013. Doi: 10.1007/s10695-013-9859-6

GUNDERSEN, H.J.G. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: The edge effect. **Journal of Microscopy**, v.111, p.219–223, 1977. Doi: 10.1111/j.1365-2818.1977.tb00062.x

HAGHIGHI, M.; ROHANI, M.S. The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Medicinal Plant and Herbal Therapy Research**, v.1, p.8–12, 2013.

HAGHIGHI, M.; POURMOGHIM, H.; ROHANI, M.S. Effect of *Origanum vulgare* extract on immune responses and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Oceanography & Fisheries Open Access Journal**, v.6, p.555–687, 2018. Doi: 10.19080/OFOAJ.2018.06.555687

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M.S. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, v.317, p.1–15, 2011. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.03.039

HASSANIN, M.; EL-SAYED; HAKIM, Y.; BADAWI, EL-SAYED, M. Dietary effect of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on growth performance, immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. **Abbassa International Journal for Aquaculture**, v.7, p.35–52, 2014.

HOSEINI, S.M.; YOUSEFI, M. Beneficial effects of thyme (*Thymus vulgaris*) extract on oxytetracycline-induced stress response, immunosuppression, oxidative stress and enzymatic changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v.25, p.298–309, 2018. Doi: 10.1111/anu.12853

HOWARD, C.V.; REED, M. **Unbiased stereology, Three-Dimensional Measurement in Microscopy**, 2ed., 2005. Milton Park, England: BIOS Scientific Publishers.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2018. Produção da Pecuária Municipal 2017, IBGE: Rio de Janeiro. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2018_v46_br_informativo.pdf

IMMANUEL, G.; UMA, R.P.; IYAPPARAJ, P.; CITARASU, T.; PUNITHA PETER, S.M.; MICHAEL BABU, M.; PALAVESAM, A. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Journal of Fish Biology**, v.74, p.1462–1475, 2009. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02212.x

INAMI, M.; TAVERNE-THIELE, A.J.; SCHRØDER, M.B.; KIRON, V.; ROMBOUT, J.H.W.M. Immunological differences in intestine and rectum of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v.26, p.751–759, 2009. Doi: 10.1016/j.fsi.2009.03.007

JAHANJOO, V.; YAHYAVI, M.; AKRAMI, R.; BAHRI, A.H. Influence of Adding garlic (*Allium sativum*), ginger (*Zingiber officinale*), thyme (*Thymus vulgaris*) and their combination on the growth performance, haemato-immunological parameters and disease resistance to *Photobacterium damsela* in sobaity sea bream (*Sparidentex hasta*) fry. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.18, p.633–645, 2018. Doi: 10.4194/1303-2712-v18_4_15

KIM, J.K.; KIM, Y.; NA, K.M.; SURH, Y.J.; KIM, T.Y. Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo. **Free Radical Research**, v.41, p.603–614, 2007. Doi: 10.1080/10715760701209896

KUMAR, V.; SAHU, N.P.; PAL, A.K.; KUMAR, S. Immunomodulation of *Labeo rohita* juveniles due to dietary gelatinized and non-gelatinized starch. **Fish and Shellfish Immunology**, v.23, p.341–353, 2007. Doi: 10.1016/j.fsi.2006.11.008

LOPES, J.M.; SOUZA, C.F.; SACCOL, E.M.H.; PAVANATO, M.A.; ANTONIAZZI, A.; ROVANI, M.T.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTO, B. *Citrus x aurantium*

essential oil as feed additive improved growth performance, survival, metabolic, and oxidative parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture nutrition**, v.25, p.310–318, 2018. Doi: 10.1111/anu.12854

MCCAULEY, H.A.; GUASCH, G. Three cheers for the goblet cell: maintaining homeostasis in mucosal epithelia. **Trends in Molecular Medicine**, v.21, p.492–503, 2015. Doi: 10.1016/j.molmed.2015.06.003

MAHMOUD, R.; AZIZA, A.; MARGHANI, B.; ELTAYSH, R. Influence of ginger and garlic supplementation on growth performance, whole body composition and oxidative stress in the muscles of Nile tilapia (*O. niloticus*). **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v.7, p.397–404, 2019. Doi: 10.17582/journal.aavs/2019/7.5.397.404

MARIANO, W.S.; SORIA, S.F.P.; GARCIA, R.G.; FÉLIX, M.Z.; LOPES, F.; TOLEDO, J.R.S. Metabolismo e fisiologia de tucunaré, *Gymnotus carapo* (LINNAEUS, 1758) submetidos à exposição ao ar atmosférico. **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v.15, p.9–18, 2011.

MELO, D.C.; OLIVEIRA, D.A.A.; MELO, M.M.; JUNIOR, D.V.; TEIXEIRA, E.A.; GUIMARÃES, S.R. Proteic electrophoretic profile of chitralada tilapia nilotic (*Oreochromis niloticus*), exposed to hypoxia chronic stress. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.1183–1190, 2009. Doi: 10.1590/S0102-09352009000500022

MOHAMMADI, G.; RASHIDIAN, G.; HOSEINIFAR, S.H.; NASERABAD, S.S.; VAN DOAN, H. Ginger (*Zingiber officinale*) extract affects growth performance, body composition, haematology, serum and mucosal immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.99, p.267–273, 2020. Doi: 10.1016/j.fsi.2020.01.032

NIST/EPA/NIH, **Mass spectral library and search/analysis programs**, J. Wiley and Sons, Hoboken, 2008.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. The

National Academies Press. Washington DC 2011.

NYA, E.J.; AUSTIN, B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale Roscoe*, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases**, v.32, p.971–977, 2009. Doi: 10.1111/j.1365-2761.2009.01101.x

NYADJEU, P.; EKEMENI, R.G.M.; TOMEDI, M.E.T. Growth Performance, Feed utilization and survival of *Clarias gariepinus* post-larvae fed with a dietary supplementation of *Zingiber officinale-Allium sativum* mixture. **Journal of Aquaculture & Fisheries**, v.4, p.028, 2020. Doi: 10.24966/AAF-5523/100028

OMOYA, F.O.; AKHARAIYI, F.C. Mixture of honey and ginger extract for antibacterial assessment on some clinical isolates, **International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research**, v.2, p.39–47, 2011.

PLANTENGA, M.W.; DIEPVEN, K.; JOOSEN, A.M.C.P.; PARENT, S.B.; TREMBLAY, A. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. **Physiology & Behavior**, v.89, p.85–91, 2006. Doi: 10.1016/j.physbeh.2006.01.027

POURMOGHIM, H.; HAGHIGHI, M.; ROHANI, M.S. Effect of dietary inclusion of *Origanum vulgare* extract on nonspecific immune responses and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Bulletin of Environment Pharmacology and Life Sciences**, v.4, p.33–39, 2015.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. American registry of pathology, armed forces institute of pathology, Washington, DC. 279p. 1992.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PADUA, S.B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. **Métodos para análises hematológicas em peixes**. EDUEM; Maringá, 2013.

SANTOS, R.B.S; TAVARES-DIAS, M. Células sanguíneas e resposta hematológica de *Oxydoras niger* (Pisces, Doradidae) oriundos da bacia do médio Rio Solimões, Estado do

Amazonas (Brasil), naturalmente parasitados. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.36, p.283–292, 2011.

SHEIKHZADEH, N.; SOLTANI, M.; EBRAHIMZADEH-MOUSAVI, H.A.; SHAH-BAZIAN, N.; NOROUZI, M. Effects of *Zataria multiflora* and *Eucalyptus globolus* essential oils on haematological parameters and respiratory burst activity in *Cyprinus carpio*. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v.10, p.316–323, 2011.

SCHWARZ, K.K.; FURUYA, W.M.; NATALL, M.R.M.; GAUDEZ, M.C.; LIMA P.A.G. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2634–2640, 2011. Doi: 10.1590/S1516-35982011001200003

TALPUR, A.D.; IKHWANUDDIN, M.; ABOL-MUNAFI, A.B. Nutritional effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on immune response of Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. **Aquaculture**, v.400-401, p.46–52, 2013. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.02.043

VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PALA, G.; JESUS, R.B.; KOTZENT, S.; COSTA, J.C.; SILVA, T.F.A.; PILARSKI, F. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v.11, p.5640–5649, 2017. Doi: 10.1111/are.13386

VALLEJOS-VIDAL, E.; REYES-LÓPEZ, F.; TELES, M.; MACKENZIE, S. The response of fish to immunostimulant diets. **Fish and Shellfish Immunology**, v.56, p.34–69, 2016. Doi: 10.1016/j.fsi.2016.06.028

WAGNER, T.; CONGLETON, J.L. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.61, p.1066–1074, 2004. Doi: 10.1139/f04-050

WELLS, R.M. 2009. Blood-gas transport and hemoglobin function: Adaptations for functional and environmental hypoxia. p. 255–299. In: Fish physiology. Farrell, A.P.; Richards, J.G.; Brauner, C.J. London, UK: Academic Press.

WINTROBE, M.M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. **Foglia Haematology**, v.51, p.32–49, 1934.

ZADMAJID, V.; MOHAMMADI, C.H. Dietary thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) changes serum stress markers, enzyme activity, and hematological parameters in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) exposed to silver nanoparticles. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v.16, p.1063–1084, 2017.

ZARGAR, A.; RAHIMI-AFZAL, Z.; SOLTANI, E.; TAHERI MIRGHAED, A.; EBRAHIMZADEH-MOUSAVI, H.A.; SOLTANI, M.; YUOSEFI, P. Growth performance, immune response and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed *Thymus vulgaris* essential oils. **Aquaculture Research**, v.50, p.3097–3106, 2019. Doi: 10.1111/are.14243

ZHENG, Z.L.; TAN, J.Y.W.; LIU, H.Y.; ZHOU, X.H.; XIANG, X.; WANG, K.Y. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.292, p.214–218, 2009. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.04.025

CAPÍTULO 3

EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE GENGIBRE (*Zingiber officinale*) NA DIETA DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO

EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE GENGIBRE (*Zingiber officinale*) NA DIETA DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO

RESUMO

Óleos essenciais como aditivos alimentares são uma alternativa para aumentar a eficiência de nutrientes na dieta de peixes, sendo assim, avaliou-se o efeito do óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO) como aditivo nutricional para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foram utilizados 12 peixes por repetição, distribuídos em 20 tanques por 60 dias. As concentrações de OEZO utilizadas foram: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e; 2,0 mL kg dieta⁻¹. O zingibereno foi o principal constituinte do OEZO (33,20%). A suplementação de 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ melhorou peso final, ganho de peso, índice hepatossomático e taxa de conversão alimentar. Foi verificado aumento linear positivo para leucócitos, hemácias, hematócrito e plaquetas. O grupo controle apresentou níveis de colesterol plasmático superiores ao grupo que recebeu 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹. A altura das vilosidades intestinais dos peixes alimentados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ foi superior aos que receberam 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹. Para as células do fígado, a área e o perímetro do hepatócito do grupo controle foram maiores do que dos demais tratamentos. O número de hepatócitos do grupo controle foi inferior ao verificado nos juvenis que receberam 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹. Conclui-se que a suplementação de 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ como aditivo alimentar é indicada para juvenis de tilápia do Nilo, uma vez que demonstrou benefícios para desempenho de crescimento e variáveis hematológicas.

Palavras-chave: Aditivo alimentar, crescimento, epitélio intestinal, hepatócitos, leucócitos, zingibereno.

EFFECT OF THE ESSENTIAL OIL OF GINGER (*Zingiber officinale*) ON THE NILE TILAPIA YOUTH DIET

ABSTRACT

Essential oils as food additives are an alternative to increase the efficiency of nutrients in the diet of fish. Thus, the effect of the essential oil of *Zingiber officinale* (EOZO) as a nutritional additive for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) was evaluated. Twelve fish were used per repetition, distributed in 20 tanks for 60 days. The EOZO concentrations used were: 0.0; 0.5; 1.0; 1.5 e; 2.0 mL kg⁻¹ diet. Zingiberene was the main constituent of EOZO (33.20%). Supplementation of 0.5 mL EOZO kg diet⁻¹ improved final weight, weight gain, hepatosomatic index and feed conversion rate. There was a positive linear increase for leukocytes, erythrocytes, hematocrit and platelets. The control group had plasma cholesterol levels higher than the group that received 2.0 mL EOZO kg diet⁻¹. Intestinal villi of fish fed 0.5 mL EOZO kg diet⁻¹ were higher than those that received 2.0 mL EOZO kg diet⁻¹. For liver cells, the hepatocyte area and perimeter of the control group were larger than other treatments. The number of hepatocytes in the control group was lower than that observed in juveniles who received 2.0 mL EOZO kg diet⁻¹. It is concluded that the supplementation of 0.5 mL EOZO kg diet⁻¹ is indicated as a food additive for juvenile Nile tilapia due their benefits in growth performance and hematological variables.

Key words: Food additive, growth, intestinal epithelium, hepatocytes, white blood cells, zingiberene.

INTRODUÇÃO

A nutrição é um item fundamental na produção intensiva de peixes, sendo dependente de fatores como a disponibilidade de dietas e o custo do investimento. Aliado a isso, o estado nutricional desempenha um fator crucial no bem estar e imunidade dos peixes (De SOUZA et al., 2020; SHOKR e MOHAME, 2019). Neste sentido, o número de aditivos alimentares naturais utilizados na nutrição de peixes a fim de melhorar não somente o desempenho, mas também a saúde destes animais, tem recebido cada vez mais atenção dos piscicultores (TONSY et al., 2011; HASSANIN et al., 2014).

A tendência na redução do uso de aditivos sintéticos (antibióticos e quimioterápicos), devido a desvantagens como contaminação ambiental e alteração das defesas imunológicas, resultaram na busca por aditivos naturais de origem vegetal como os óleos essenciais, os quais podem melhorar desempenho em crescimento, eficiência alimentar, digestibilidade e absorção dos nutrientes nos peixes (SHALABY et al., 2003; TALPUR et al., 2013; HASSANIN et al., 2014). Óleos essenciais são compostos aromáticos voláteis lipofílicos e geralmente odoríferos produzidos a partir de parte de plantas (flores, sementes, raízes, frutos, folhas, ramos, casca, ervas) ou plantas inteiras, atuando como metabólicos secundários (BERALDO et al., 2013, ANDRADE et al., 2014, MAZZARINO et al., 2015). Além disso, também podem apresentar vantagens por suas ações antimicrobianas, antioxidantes, imunomoduladoras e imunoestimulantes (TEIXEIRA et al., 2017; Da CUNHA et al., 2018; De SOUZA et al., 2019).

O gengibre (família Zingiberaceae) é uma espécie herbácea e perene, com origem em diversas regiões da Índia e China (SINGH et al., 2005). O óleo essencial de gengibre *Zingiber officinale* (OEZO) pode ser extraído do rizoma, sendo amplamente aplicado nas indústrias alimentícia (aromatizantes e condimentos), de cosméticos (fragrância e antioxidante) e farmacêutica (antibacteriana, antitumoral e anti-inflamatória). Estudos

prévios com extratos de gengibre demonstraram efeito imunestimulante, atuando como estimulante para o aumento na digestibilidade, influenciando as enzimas no processo digestivo, melhorando o metabolismo proteico e lipídico, bem como o aumento na taxa de crescimento, além de contribuir para vários outros efeitos, tais como antioxidante, antimicrobianos, farmacológicos em peixes (NYA e AUSTIN et al., 2009; APINES-AMAR et al., 2012; TALPUR et al., 2013; HASSANIN et al., 2014; SHAKYA et al., 2015; ABBASI-GHADIKOLAEI et al., 2017). Desta maneira, embora existam estudos prévios com o uso gengibre (in natura, extrato ou em pó) na dieta de peixes (TALPUR et al., 2013; SUKUMARAN et al., 2016; ABBASI-GHADIKOLAEI et al., 2017; AHMADIFAR et al., 2019; SHOKR e MOHAMED, 2019), estudos relatando OEZO e seu potencial na dieta de tilápia do Nilo como promotor de crescimento e saúde ainda são poucos conhecidos.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das principais espécies de água doce produzidas na aquicultura mundial e no Brasil (FAO, 2018; ETENE, 2019). Apresenta como vantagens características como rusticidade, carne saborosa, boa conversão alimentar e ganho de peso, além de boa aceitabilidade de dietas comerciais (EL-SAYED, 2006).

Dado o potencial da OEZO como promotor de crescimento e bem-estar de peixes, ele pode contribuir para melhorar o crescimento e a saúde da tilápia do Nilo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do OEZO em relação ao crescimento, metabolismo, fisiologia e histologia intestinal e hepática de juvenis de tilápia do Nilo.

MATERIAL E MÉTODOS

Óleo essencial de Zingiber officinale (OEZO)

O OEZO usado no corrente estudo foi obtido da LASZLO-Aromaterapia Ltda

(Belo Horizonte, MG, Brasil) (Tabela 1). O método de cultivo foi o convencional utilizando somente os rizomas da planta e para obtenção da extração do OEZO, foi realizado pelo método hipercrítico – CO₂, conforme preconiza a British Pharmacopoeia (2007). O método de análise do OEZO foi através de cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massa 5975C (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) realizado pelo Laboratório de Química Instrumental da Universidade Federal de Minas Gerais, usando um cromatógrafo a gás Agilent 7820A acoplado ao detector de ionização em chama (Agilent Technologies) e coluna capilar HP-5 (30 m x 0,32mm x 0,25µm; Agilent Technologies). O He foi utilizado como gás de arraste (1 mL min⁻¹) e a amostras injetadas (1 µL) através do auto injetor na razão de split (1:5), mantido a 220 °C. A coluna cromatográfica a 60 °C (0 min), foi aquecida a uma taxa de 3 °C min⁻¹ até atingir 200 °C (mantida por 30 min) (ALMEIDA et al., 2016). A identificação dos constituintes foi realizada pela comparação dos índices de retenção com os dados do NIST (2008).

Tabela 1. Composição química de óleo essencial de *Zingiber officinale* determinado via cromatografia gasosa de alta resolução. IRL: Índice de Retenção de Literatura (NIST, 2008).

Composto químico	IRL	Área (%)
α-pineno	971	0,9
Canfeno	978	2,8
Limoneno	1029	3,0
Hidrato de trans-Sabineno	1031	2,1
Ar-curcumeno	1487	14,1
Germacreno D	1492	4,5
Zingibereno	1502	33,2
α-farneseno	1514	9,4
β-bisaboleno	1518	6,3

Sesquifelandreno	1529	15,8
Não identificados	-	7,9
Total		100

Localização, animais e condições experimentais

O experimento foi conduzido na Estação de Aquicultura da Escola Agrícola de Jundiá (EAJ) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) (Distrito de Macaíba, RN, Brasil). O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRN (protocolo 052/2018 – certificado nº: 129.052/2018). Juvenis de tilápia do Nilo (peso e comprimento inicial de $7,78 \pm 0,10$ g e $5,6 \pm 2,57$ cm, respectivamente) foram provenientes de uma larvicultura comercial (Aquicultura Lawrence – Brejinho, RN, Brasil). Os peixes foram aclimatados e adaptados as condições experimentais por uma semana. Em seguida, os peixes foram pesados e distribuídos em tanques circulares de 250 L de água (12 peixes/tanques) em sistema de recirculação, com aeração constante e filtros mecânico e biológico, sendo alimentados com dietas experimentais 03 três vezes ao dia por um período de 60 dias.

Os parâmetros de qualidade de água para oxigênio dissolvido ($5,92 \pm 0,11$ mg O₂ L⁻¹) e temperatura ($25,16 \pm 0,26$ °C) da água foram monitorados diariamente com o auxílio de um medidor de oxigênio dissolvido digital portátil (Instrutherm MO – 900, São Paulo, SP, Brasil), pH ($7,2 \pm 0,06$), amônia total ($0,61 \pm 0,12$ mg L⁻¹ N-NH₃), alcalinidade total ($12,16 \pm 0,08$ mg L⁻¹ CaCO₃), dureza total ($10,65 \pm 0,20$ mg L⁻¹ CaCO₃) e nitrito ($0,54 \pm 0,17$ mg L⁻¹ N-NO₂), foram realizados duas vezes por semana através de reações colorimétricas de kit comercial Labcon Teste (Alcon Ltda – Camboriú, SC, Brasil). Os parâmetros de qualidade de água permaneceram estáveis durante a condução do experimento.

Dietas experimentais e desempenho de crescimento

As dietas peletizadas (36,50% de proteína bruta e 4750 k cal⁻¹ de energia digestível) foram manufaturadas no Laboratório de Nutrição Animal da UFRN, conforme exigência para a espécie (NRC, 2011), contendo diferentes concentrações do OEZO (0,50; 1,0; 1,5 e 2,0 mL Kg⁻¹), além do grupo controle, sem adição de OEZO na dieta (Tabela 2). Os ingredientes foram adquiridos de forma comercial e a quantidade de ingredientes foi a mesma em todos os tratamentos e a diferença ocorreu pela adição de OEZO de acordo com cada tratamento.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais fornecida aos juvenis de tilápia. AAC = Análise aproximada da composição.

Ingredientes	%
Farelo de soja (45%)	50,3052,00
Milho moído	25,40
Farinha de peixe (55%) ¹	9,70
Farinha de trigo	10,00
Fosfato bicálcico	2,55
Óleo de soja	0,83
Premix ²	0,50
Sal	0,50
Vitamina C	0,20
BHT	0,02

¹Farinha de peixe: Jardim de Minas, Jardim A Mineira Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil.

²Níveis de garantia (por kg): vit. A, 450.000 UI kg⁻¹; vit. D3, 2.885.000 UI kg⁻¹; vit. E, 1.000,00 UI kg⁻¹; vit. K3, 1.250 mg kg⁻¹; vit. B1, 100,00 mg kg⁻¹; vit. B2, 300,00 mg kg⁻¹; vit. B6, 150,01 mg kg⁻¹; vit. B12, 750,00 µg kg⁻¹; Ác. Nicotínico, 1750 mg kg⁻¹; Ác. Pantotênico, 600,00 mg kg⁻¹; Biotina, 5,00 mg kg⁻¹; Ác. Fólico, 75,00 mg kg⁻¹; Colina, 8.700, 17 mg kg⁻¹; Metionina, 32,99 g kg⁻¹; Fitase, 66.650,00 FYT kg⁻¹; Ferro, 1.666,00 mg kg⁻¹; Cobre, 333,32 mg kg⁻¹; Zinco, 2.166,71 mg kg⁻¹; Manganês, 2.116,58 mg kg⁻¹; Sódio, 50,66 mg kg⁻¹; Selênio, 12,50 mg kg⁻¹; Iodo, 33,33 mg kg⁻¹; Cálcio, 213,67 g kg⁻¹;

Para a preparação das dietas os ingredientes foram pesados, misturados e o OEZO foi adicionado juntamente com o óleo de soja. Após, os ingredientes foram

homogeneizados, umedecidos (25% de água p/p) e peletizados (placa de matriz de 0,8 mm) em uma máquina elétrica experimental (Skymesen PSEE - 10, Brusque, SC, Brasil). Em seguida, os alimentos foram secos à temperatura ambiente (25,0 °C) por 48 h e fracionados para armazenamento em recipientes plásticos protegidos da luz e mantidos sob refrigeração (4 °C) até a sua utilização. As dietas experimentais foram fornecidas até a saciedade aparente, em três refeições diárias (08:00, 12:00 e 16:00 h). E a avaliação do consumo de cada unidade experimental foi mensurado a cada três dias, pela diferença do peso das rações contida nos recipientes para cada unidade experimental.

Avaliação do crescimento

Um dia antes da biometria final, os peixes ficaram em jejum por 24 h. O peso (balança digital, TOLEDO, PRIX 3, São Bernardo do Campo, SP, Brasil - com precisão de 0,01 g) e o comprimento total (CT, cm) dos animais de todas as unidades experimentais foram mensurados para cálculo dos parâmetros de desempenho produtivo.

Foram calculadas as seguintes variáveis de desempenho:

- ganho de peso (GP, g) = PF (g) – PI (g); em que PF e PI são peso final e peso inicial, respectivamente;
- taxa de crescimento específico (TCE, % dia⁻¹) = 100 x (ln p – ln PI)/t (dias), em que PF, PI e t são peso final, peso inicial e tempo, respectivamente;
- conversão alimentar aparente (CAA) = RC (g)/GP; em que RC E GP são ração consumida e ganho de peso, respectivamente;
- índice hepatossomático (HIS), (%) = 100 x (peso do fígado (g)/peso corporal (g));
- fator de condição (FC, g cm⁻³) = 100 x (peso corporal (g)/comprimento corporal (cm))³;

- taxa de sobrevivência (SOB, %) = $[(n^\circ \text{ final peixes} \times 100)/n^\circ \text{ peixes inicial}]$.

Coleta de amostras

Ao término do experimento (60 dias), os animais passaram por um jejum de 24 h. E foram submetidos às coletas de sangue e material histológico. Para as análises hematológicas 6 peixes/caixa. Foram anestesiados com solução de eugenol (50 mg L^{-1}) para coleta de 2 mL de sangue por punção venocaudal, sendo que três amostras, encaminhadas para análises hematológicas e de glicose e outras três destinadas à obtenção do plasma. Outros dois peixes/caixa foram eutanasiados com solução de eugenol (200 mg L^{-1}) para coleta de fígado e intestino que foram direcionados para análises histológicas.

Análises sanguíneas e plasmáticas

A glicose (mg dL^{-1}) foi mensurado por meio de fitas de reagente através de aparelho de glicosímetro digital (G-Tech Free 1, Duque de Caxias, RJ, Brasil), imediatamente após a coleta de sangue.

A análise do hematócrito foi realizada por centrifugação capilar de acordo com Goldenfarb et al. (1971). Os tubos capilares heparinizados foram preenchidos com amostra de sangue, fechados com um material apropriado e centrifugados a $12.000 \times g$ por 5 min (Wiener la. Counter 19, São Paulo, SP, Brasil). A leitura foi feita numa escala padronizada. O índice de hemoglobina foi determinado de acordo com Collier (1944). Foram adicionados $10 \mu\text{L}$ de sangue a 2 mL de solução de Drabkin, homogeneizados em vortex e a leitura no espectrofotômetro foi realizada a 540 nm. Foi realizada a contagem eritrócitos em câmara de Neubauer em microscópio óptico com aumento de 400x. Os valores dos índices hematimétricos de volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM)

foram determinados a partir do número de eritrócitos, índice de hemoglobina e hematócrito (WINTROBE, 1934). Plaquetas e glóbulos brancos foram analisadas através do princípio da impedância volumétrica (método Coulter) (BACALL, 2009).

O sangue destinado para obtenção de plasma foi centrifugado (Fanem® Excelsa® II modelo 206-BL, São Paulo, SP, Brasil) em $10.000 \times g$ por 10 min (4 °C) (Fanem® Excelsa® II modelo 206-BL, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, o material foi armazenado e refrigerado (- 20 °C). Para determinação das análises bioquímicas plasmáticas foi utilizado um analisador semiautomatizado bioquímico (Bioclin, Mindray BA-88A, Belo Horizonte, MG, Brasil). O plasma obtido foi destinado às determinações de triglicerídeos (mg dL^{-1}), proteínas totais (g dL^{-1}), albumina (g L^{-1}), colesterol (mg dL^{-1}), AST (Aspartato Aminotransferase) (U mL^{-1}) e ALT (Alanina Aminotransferase) (U mL^{-1}) pelo método enzimático colorimétrico, utilizando kits comerciais da Bioclin® (COPLEY, 1941).

Análise histológica do intestino e fígado

Foram coletados 2 cm de fígado e 2 cm de intestino (porção anterior e posterior) que foram fixados em formalina 10% (24 h) e, posteriormente, conservadas em álcool 70%. Assim, as amostras passaram pelo procedimento histológico de desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em série de xilóis, inclusão em blocos de parafina. Posteriormente o material foi cortado por meio de um micrótomo com cortes transversais (5 μm), sendo fixados em lâminas e então submetidos a coloração hematoxilina-eosina (HE) e ácido periódico e reativo de Schiff (PAS) (PROPHET et al., 1992).

Os cortes histológicos foram avaliados quanto as características morfológicas, sendo o material fotografado pelo programa de software Axo Vision Le® 4.8.2 a partir de microscópio biológico binocular Axio Scope A1(ZEISS, João Pessoa, PB, Brasil) com

uso de câmera para microscópio AxionCam ICc 3 (ZEISS). Foram ponderadas dez microfotografias por repetição, totalizando 200 microfotografias por tratamento, tanto para as amostras do intestino, quanto do fígado. A análise e quantificação das amostras microfotografadas ocorreu através do programa Motic Images Plus 3.0.

As amostras de intestino foram microfotografadas com ampliação de 20x e 40x para medir as seguintes variáveis: altura e largura (μm) das vilosidades e espessura do epitélio (μm) (SCHWARZ et al., 2011). A altura foi obtida do ápice da base de cada vilosidade, o comprimento através da medida do perímetro de cada vilosidade, a largura da vilosidade região mediana (em linha reta) e a espessura do epitélio foi obtida a partir de uma das extremidades da região mediana. Para a análise de quantificação foi realizada por meio de um desenho de grade de Mers modificada, com um conjunto sistemático de janelas aleatórias de área, formando pontos equidistantes e linhas paralelas (HOWARD e REED). A medida da variável foi expressa pela média do número de células apresentadas dentro do pontos contados no campo (histológico) da área quadrada determinada, calculando-se a quantidade de pontos necessários para um erro padrão relativo.

As amostras de fígado foram microfotografadas com ampliação de 20x e 40x para quantificar as seguintes variáveis: número, área (μm) (medida da superfície do hepatócito) e perímetro dos hepatócitos (μm) (soma de todos os lados) (GUNDERSEN, 1977). A análise de quantificação ocorreu similarmente a análise histologia de intestino.

Análises estatística

O delineamento experimental inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão. A homocedasticidade das variâncias foi verificada através do teste de Levene. Realizou-se uma análise de variância (ANOVA) de uma via seguida de teste post-hoc de Tukey. Em

seguida, os efeitos do OEZO em relação às variáveis foram avaliados de acordo com a regressão polinomial. O nível mínimo de significância foi 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Desempenho de crescimento

Foi verificado um efeito linear positivo entre OEZO adicionado a dieta de juvenis de tilápia do Nilo e FC ($y = 1,428 + (0,030x)$; $R^2 = 0,84$). Um efeito quadrático para OEZO na dieta foi verificado para CT ($y = 13,361 + (0,304x) - (0,037x^2)$; $R^2 = 0,71$) e TCE ($y = 2,315 + (0,182x) - (0,103x^2)$; $R^2 = 0,65$) (Tabela 3).

Adicionalmente, os juvenis alimentados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ apresentaram um aumento significativo no peso final em relação aos demais tratamentos ($p \leq 0,042$) e no ganho de peso comparado aos peixes do grupo controle ou alimentados com 1,5 e 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹ ($p \leq 0,035$). Tilápias do Nilo que receberam uma dieta com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ apresentaram IHS significativamente maior do que o grupo controle ($p = 0,036$). Além disso, os peixes alimentados com 0,5 mL kg⁻¹ de OEZO na dieta apresentaram uma CAA significativamente inferior ao grupo controle e aos grupos que receberam 1,5 e 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹ ($p < 0,043$). Peso inicial e sobrevivência não apresentaram regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 3).

Tabela 3 - Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Peso Inicial	7,99±0,20	7,88±0,28	7,58±0,14	7,73±0,12	7,93±0,20
Peso Final	31,46±0,56 ^b	33,83±0,60 ^a	31,78±0,37 ^b	30,91±0,34 ^b	31,27±0,34 ^b
GP	23,48±0,60 ^b	25,95±0,70 ^a	24,20±0,38 ^{ab}	23,18±0,39 ^b	23,34±0,53 ^{ab}
CT**	13,30±0,34	13,32±0,39	13,15±0,60	12,81±0,24	12,98±0,22
FC*	1,43±0,10	1,45±0,12	1,44±0,18	1,48±0,08	1,49±0,10

TCE**	2,29±0,05	2,43±0,05	2,39±0,04	2,31±0,04	2,29±0,06
Consumo	585,40±0,0	585,40±0,0	585,40±0,0	585,40±0,0	585,40±0,0
CAA	2,08±0,05 ^a	1,88±0,05 ^b	2,02±0,03 ^{ab}	2,11±0,03 ^a	2,09±0,05 ^{ab}
IHS	1,23±0,25 ^b	2,76±0,45 ^a	1,89±0,22 ^{ab}	2,37±0,37 ^{ab}	2,39±0,31 ^{ab}
Sob	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0

Peso inicial, Peso final, GP (ganho de peso) e CAA (conversão alimentar aparente) são expressos em g, CT (comprimento total) é expresso em cm, TCE (taxa de crescimento específico) é expressa em % dia⁻¹, FC (fator de condição) é expresso em g cm⁻³ e IHS (índice hepatossomático) e Sob (sobrevivência) são expressos em %. Os dados são apresentados como média ± erro padrão (n = 4 tanques por tratamento). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, p <0,05). * Indica regressão linear. ** Indica regressão quadrática.

Variáveis hematológicas

O aumento da concentração de OEZO na dieta causou efeito linear positivo para leucócitos ($y = 157,324 + (15,342x)$, $R^2 = 0,82$), hemáceas ($y = 1,294 + (0,163x)$; $R^2 = 0,67$), hematócrito ($y = 23,098 + (2,533x)$; $R^2 = 0,68$) e plaquetas ($y = 57,771 + (24,906x)$; $R^2 = 0,80$). Uma regressão quadrática foi verificada para hemoglobina ($y = 10,231 + (2,322x) - (0,983x^2)$; $R^2 = 0,94$) (Tabela 4).

Adicionalmente, valores para leucócitos foram significativamente menores no grupo controle em relação a 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹ ($p = 0,033$). Os peixes alimentados com 1,0 mL OEZO kg dieta⁻¹ apresentaram hemáceas significativamente superior ao grupo controle ($p = 0,030$). Os índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) não apresentaram regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 4).

Tabela 4 - Variáveis hematológicas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Hct*	21,82±1,38	24,64±2,11	27,53±1,46	27,42±1,75	26,76±1,58
Hemácias*	1,22±0,08	1,38±0,13	1,59±0,11	1,57±0,10	1,53±0,09
Hg**	10,15±0,45	11,30±0,36	11,59±0,34	11,32±0,39	11,03±0,32
VCM	180,19±3,54	180,67±2,80	175,95±5,71	188,14±11,28	175,38±3,97
HCM	86,26±5,90	90,06±10,55	76,74±6,06	85,33±14,24	73,85±3,27

CHCM	47,77±2,95	49,45±5,27	43,32±2,49	49,80±9,64	42,45±2,30
Leucócitos*	154,47±9,99 ^b	168,67±6,70 ^{ab}	177,31±7,99 ^{ab}	171,45±9,47 ^{ab}	191,43±7,44 ^a
Plaquetas*	68,58±15,80	60,64±21,36	71,67±24,34	102,67±36,07	109,83±46,06

Leucócitos é expresso em $\times 10^3 \text{ uL}^{-1}$, Hemácias é expresso em $\times 10^6 \text{ uL}^{-1}$, Hg (hemoglobina) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) são expressos em g dL^{-1} , Hct (hematócrito) é expresso em %, Plaquetas é expresso em μL , VCM (volume corpuscular médio) é expresso em fL e HCM (hemoglobina corpuscular médio) é expresso em pg . Os dados são apresentados como média \pm erro padrão ($n = 12$ peixes por tratamento). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p < 0,05$). * Indica regressão linear. ** Indica regressão quadrática.

Variáveis bioquímicas

Foi verificada regressão quadrática em relação às concentrações de OEZO na dieta para albumina ($y = 1,379 - (0,122x) + (0,063x^2)$; $R^2 = 0,95$) e AST ($y = 513,960 + (201,800x) - (97,751x^2)$; $R^2 = 0,80$) (Tabela 5). O grupo controle apresentou níveis de colesterol plasmático significativamente superiores em relação ao grupo que recebeu 2,0 mL OEZO kg dieta^{-1} ($p = 0,047$). Glicose, triglicérides, proteínas totais e ALT não apresentaram regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 5).

Tabela 5. Variáveis bioquímicas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta^{-1})				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Glicose	63,67±5,82	62,42±6,93	61,08±7,32	50,75±4,75	60,75±3,72
Triglicérides	67,55±5,80	62,33±5,38	67,27±4,50	73,00±7,02	61,33±5,40
Colesterol	147,90±4,60 ^a	133,25±6,49 ^{ab}	136,82±3,40 ^{ab}	139,42±6,41 ^{ab}	123,36±7,17 ^b
Prot totais	3,26±0,10	3,07±0,11	3,13±0,10	3,25±0,10	2,97±0,09
Albumina**	1,38±0,08	1,33±0,10	1,33±0,10	1,33±0,08	1,39±0,07
ALT	4,75±0,53	4,25±1,03	5,25±1,22	6,44±1,14	5,30±0,93
AST**	510,33±96,92	588,45±101,69	645,70±127,68	561,78±62,93	539,42±90,59

Albumina e Prot totais (Proteínas totais) são expresso em g dL^{-1} , ALT (Alanina aminotransferase) e AST (Aspartato aminotransferase) são expressos em U L^{-1} , Colesterol, Triglicérides e Glicose são expressos em mg dL^{-1} . Glicose é variável sanguínea e as demais variáveis são plasmáticas. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão ($n = 12$ peixes por tratamento). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, $p < 0,05$). ** Indica regressão quadrática.

Histomorfometria das vilosidades intestinais

As análises histológicas do intestino delgado em todos os tratamentos revelaram que é possível identificar a estrutura das vilosidades e microvilosidades intestinais exibida de forma bem organizada e compactada, sem sinal de danos. Em todos os tratamentos também se verificou células compostas por células epiteliais cilíndricas simples com planuras estriadas simples, citoplasma de coloração eosinófila, enterócitos, vacúolos, borda em escova saudável e presença de células caliciformes (Figura 1).

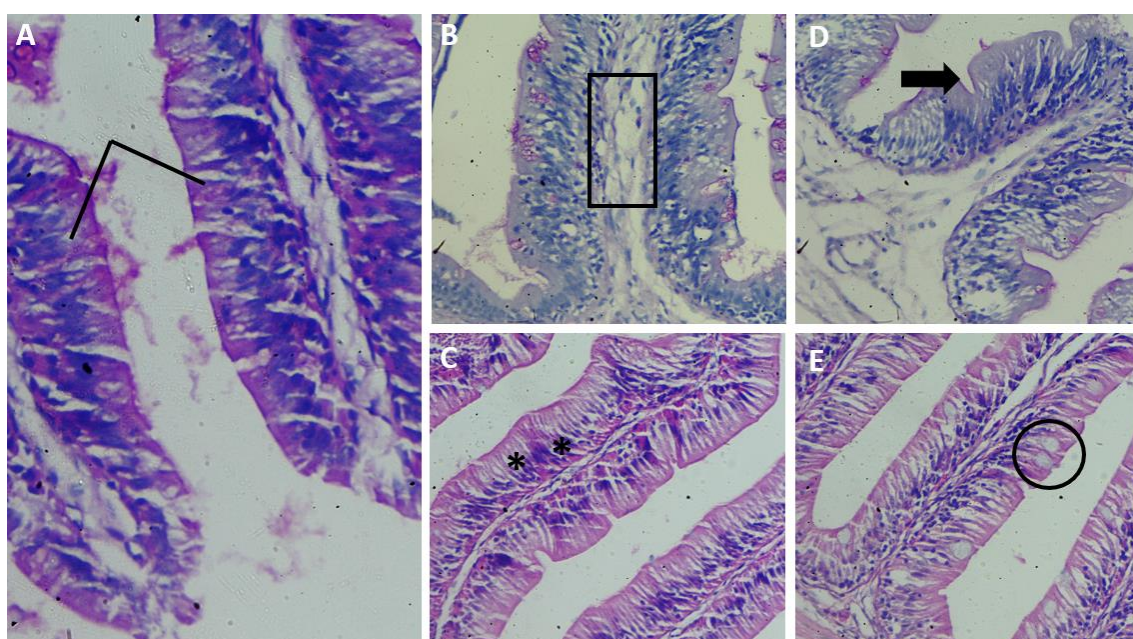


Figura 1. Secções histológicas transversais das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale*, coradas em HE e PAS. Em mL kg dieta⁻¹: A: 0,0 (controle); B: 0,5; C: 1,0; D: 1,5 e; E: 2,0. Aumento: 40x. Traço retilíneo indica vilosidades; retângulo indica interior das vilosidades; asterisco indica enterócitos; seta indica borda em escova e; círculo indica células caliciformes. n = 8 peixes por tratamento.

Houve regressão linear para largura das vilosidades ($y = 64,758 - (5,686x)$; $R^2 = 0,84$) e espessura do epitélio ($y = 28,469 - (1,841x)$; $R^2 = 0,80$) em relação a concentração de OEZO presente na dieta. Foi verificada regressão quadrática em relação a concentração de OEZO na dieta para altura das vilosidades intestinais ($y = 142,510 + (47,050x) -$

(29,740x²); R² = 0,90). Em adição, a altura das vilosidades intestinais dos peixes alimentados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ foram significativamente superiores aos que receberam 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹ (p = 0,018). Número de células calciformes não apresentaram regressão linear ou quadrática, nem diferença significativa (Tabela 6).

Tabela 6. Histomorfometria das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
AV**	135,58±7,85 ^{ab}	167,38±7,33 ^a	157,10±12,07 ^{ab}	141,03±6,69 ^{ab}	120,68±10,28 ^b
LV*	64,46±5,83	64,25±3,05	56,97±2,20	54,62±3,06	55,06±2,88
EP*	28,23±3,06	28,57±1,75	25,69±1,24	25,48±1,84	25,18±1,47
CC	59,65±10,95	69,35±3,07	63,13±13,94	56,10±3,82	69,18±14,25

AV (altura das vilosidades), LV (largura das vilosidades) e EP (espessura do epitélio) são expressos em µm, CC = N° de células calciformes. Os dados são apresentados como média ± erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, p <0,05). * Indica regressão linear. ** Indica regressão quadrática.

Histomorfometria das células hepáticas

Em todos os tratamentos, os hepatócitos se apresentaram com núcleos redondos, tamanhos variados e alguns binucleados, células poliédricas, com cromatina dispersa, formação de nucléolos proeminentes (Figura 2 A). As células hepáticas das tilápias do Nilo alimentadas com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ evidenciaram membranas celulares descontínuas e regiões em que o núcleo exhibe picnose (Figura 2 B). Nos peixes suplementados com 1,0 mL OEZO kg dieta⁻¹ verificou-se hepatócitos com vacúolos citoplasmáticos arredondados, difusos e finos, além de hepatócitos aumentados com a presença de núcleo deslocado para a periferia das células, além da presença de alguns hepatócitos com necrose (Figura 2 C). Nos peixes dos tratamentos 1,5 e 2,0 mL OEZO

kg dieta⁻¹ foi possível observar alguns hepatócitos sem a presença de vacúolos, necrose, capilares sinusóides (Figura 2 D) e congestão sanguínea (Figura 2 E).

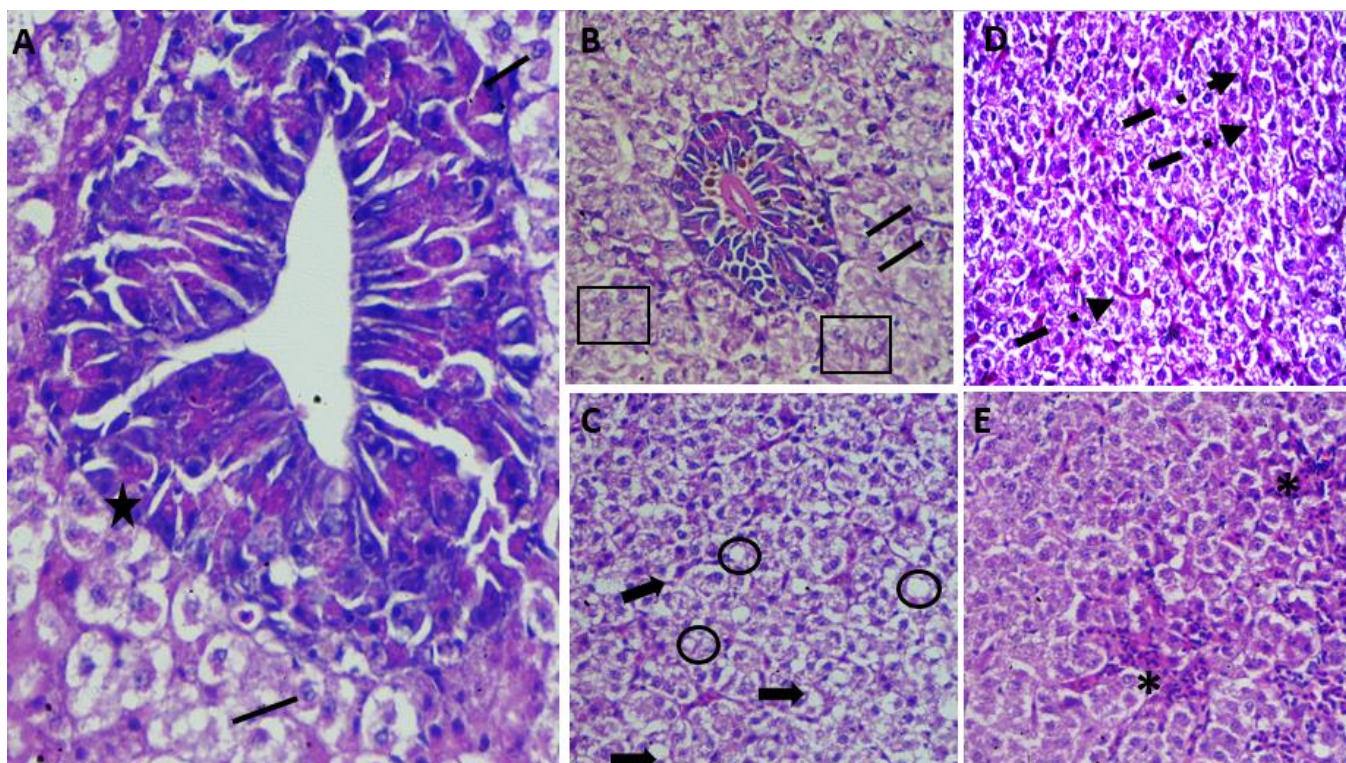


Figura 2. Secções histológicas transversais de células hepáticas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale*, coradas em HE e PAS. A) 0,0 - Controle, B) 0,5 mL kg⁻¹, C) 1,0 mL kg⁻¹, D) 1,5 mL kg⁻¹, E) 2,0 mL kg⁻¹. Aumento: 40x. Traço retilíneo indica hepatócitos binucleados; estrela indica presença de ductos biliares; quadrado indica hepatócitos com núcleo picnótico; seta indica vesículas no interior dos hepatócitos; círculo indica esteatose hepática e necrose de hepatócitos; seta tracejada indicam capilares sinusoides e; asterisco indica congestão sanguínea. n = 8 peixes por tratamento.

Houve regressão linear para número de hepatócitos ($y = 89,122 + (17,960x)$; $R^2 = 0,78$) à medida em que foi acrescentado OEZO na dieta. Ocorreu regressão quadrática para área ($y = 127,460 - (90,796x) + (35,123x^2)$; $R^2 = 0,94$) e perímetro do hepatócito ($y = 46,403 - (16,120x) + (5,997x^2)$; $R^2 = 0,91$). O número de hepatócitos do grupo controle foi significativamente inferior ao verificado nos juvenis que receberam 2,0 mL OEZO kg

dieta⁻¹ (p = 0,040). A área e o perímetro do hepatócito do grupo controle foram significativamente maiores do que dos peixes dos outros tratamentos (p < 0,001 e < 0,023, respectivamente) (Tabela 7).

Tabela 7. Histomorfometria das células hepáticas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZO).

Variáveis	OEZO (mL kg dieta ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
NH*	79,68±8,47 ^b	107,05±5,04 ^{ab}	111,90±12,08 ^{ab}	117,35±11,48 ^{ab}	119,43±3,01 ^a
AH**	130,97±7,65 ^a	82,21±6,52 ^b	76,58±4,65 ^b	72,52±6,43 ^b	84,44±4,36 ^b
PH**	47,27±2,88 ^a	38,08±1,74 ^b	36,36±1,36 ^b	37,37±2,09 ^b	37,31±1,53 ^b

AH (Área do hepatócito) e PH (Perímetro do hepatócito) são expressos em μm . NH = número de hepatócitos. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (teste de Tukey, p < 0,05). * Indica regressão linear. ** Indica regressão quadrática.

DISCUSSÃO

No presente estudo, o melhor desempenho de crescimento foi verificado nos peixes alimentados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹. Similarmente, estudos anteriores relataram melhorias no ganho de peso e na conversão alimentar aparente com dietas suplementadas com gengibre em pó para garoupa (*Epinephelus tauvina*) (400 mg kg⁻¹), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (1,0 g kg⁻¹), robalo asiático (*Lates calcarifer*) (10 g kg⁻¹) e tilápia do Nilo (10 g kg⁻¹) (PUNITHA et al., 2008; NYA e AUSTIN, 2009; TALPUR et al., 2013; HASSANIN et al., 2014).

O potencial de OEZO pode ser explicado pelos seus principais componentes químicos. No presente estudo, dentre os constituintes majoritários do OEZO, destaca-se o zingibereno (33,2%) como principal composto químico, corroborando com os achados de Singh et al. (2005) (28,62%), Sacchetti et al. (2005) (23,9%) e Barceloux (2008) (27-

30%). Assim, o zingibereno ou sua associação com outros compostos químicos presentes no OEZO pode ter contribuído para um efeito na promoção de crescimento de juvenis de tilápia do Nilo verificada no corrente estudo.

Os efeitos de promoção de crescimento em alguns óleos essenciais podem ser devido ao seu aroma, resultando em maior consumo de alimento pelos peixes, com consequente efeito positivo no ganho de peso (ABDEL-LATIF e KHALIL, 2014). Além disso, os compostos bioativos presentes nas plantas podem modificar a morfologia trato gastrointestinal (VALLADÃO et al., 2017). Isto possibilita o aumento do consumo e absorção de nutrientes, o que tende a ocasionar melhora no ganho de peso do animal (FRANKIC et al., 2009; RADHAKRISHNAN et al., 2015).

No corrente estudo, a análise histomorfométrica do intestino mostrou que a altura e a largura das vilosidades e a largura do epitélio das mucosas foram menores nos peixes que receberam acima de 1,0 mL OEZO kg dieta⁻¹, o que deve ter reduzido a sua capacidade de absorção de nutrientes e eletrólitos (BRANCO et al., 2010; MELLO et al., 2013; ADEOYE et al., 2016). Contudo isso não foi verificado nos peixes suplementados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹, os quais demonstram alta eficiência de absorção e tratos intestinais saudáveis (MOHAMED et al., 2014). De acordo com Carvalho et al. (2011), o aumento do tamanho das vilosidades intestinais e espessura do epitélio se deve a uma melhora na integridade da mucosa. Estudos prévios também verificaram alterações causadas por dietas com óleos essenciais na histomorfometria intestinal. Valladão et al. (2017) verificaram que a suplementação do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (250 mg kg⁻¹) na dieta de tilápia do Nilo causou um aumento na altura das vilosidades intestinais. Em jundiá (*Rhamdia quelen*), a área epitelial apresentou um aumento no número de dobras intestinais nos peixes alimentados com dietas suplementadas com 1,0 e 2,0 mL de óleo essencial de *Aloysia triphylla* kg dieta⁻¹ (ZEPPENFELD et al., 2015).

O intestino desempenha função na produtividade dos animais, atuando na digestão e absorção de nutrientes, além de possuir função no sistema imunológico (NICHOLSON et al., 2012). Vallejos-Vidal et al. (2016) explicam que o uso de imunoestimulantes na aquicultura tem possibilitado uma melhora na saúde dos animais e em seu desempenho produtivo. Desta forma, a melhora no crescimento dos peixes alimentados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ também pode ser devido a eficácia do gengibre como agente imunomodulador, melhorando a resposta imunológica dos peixes (NYA e AUSTIN, 2009). Tais efeitos decorrem da presença dos compostos antioxidantes como polifenóis, flavonoides, taninos e saponinas, os quais podem ser encontrados no OEZO (SCALBERT et al., 2005; TALPUR et al., 2013).

No presente estudo, a contagem de leucócitos e plaquetas mostraram tendência crescente com o aumento da concentração de OEZO na dieta, o que pode ter contribuído com a melhora no sistema imunológico dos juvenis (RANZANI-PAIVA et al., 2013). Similarmente, relatos de estudos prévios já demonstraram que a ação do gengibre em pó e do OEZO na dieta foram capazes de melhorar as respostas imunes inatas (ex. glóbulos brancos) em truta arco-íris, garoupa, robalo, carpa rohu (*Labeo rohita*), zebrafish (*Danio rerio*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*) (NYA e AUSTIN, 2009; APINES-AMAR et al., 2012; TALPUR et al., 2013, SHAKYA, 2015; SUKUMARAN et al., 2016; AHMADIFAR et al., 2019; MOHAMMADI et al., 2020).

Outra possível contribuição da adição de OEZO na dieta de tilápias do Nilo para o corrente estudo está relacionado ao aumento dos níveis de oxigênio, uma vez que houve aumento dos valores de hemácias, hemoglobina e hematócrito, o que indica melhora no transporte de oxigênio para os tecidos do corpo (TALPUR et al., 2013). Neste sentido, Ferri-Lagneau et al. (2012) relataram que em peixes-zebra (*Danio rerio*) o gengibre *in natura* aumentou os níveis de hemácias e hemoglobina, o que também foi relacionado

com hematopoiese e um aumento no valor de hematócrito (MOHAMMADI et al., 2020). Os efeitos vantajosos da suplementação de gengibre na elevação dos valores de variáveis hematológicas também foram descritos em estudos anteriores com robalo, truta arco-íris, esturjão branco (*Huso huso*) e carpa comum (TALPUR et al., 2013; NYA e AUSTIN, 2009; GHOLIPOUR KANANI et al., 2014; MOHAMMADI et al., 2020). Em consonância a estes achados, óleos essenciais de laranja (*Citrus sinensis*), casca do limão (*Citrus limon*), manjeriço (*Ocimum gratissimum*) e gengibre (*Zingiber officinale*) suplementados na dieta melhoraram as variáveis hematológicas de tilápia do Nilo (ACAR et al., 2015; BABA et al., 2016; BRUM et al., 2017).

No corrente estudo, a adição de OEZO na dieta de tilápia do Nilo também contribuiu com a diminuição dos níveis de colesterol plasmático. Uma redução nestes níveis pode prevenir patologias hepáticas, pois eles estão associados ao estado nutricional e alterações no metabolismo (lipídios e lipoproteínas) (WAGNER e CONGLETON, 2004; ZHAI et al., 2016). O OEZO pode inibir a elevação de colesterol plasmático devido a presença de substâncias com propriedades detergentes e emulsificantes, como as saponinas (OTUNOLA et al., 2010; ZHAI et al., 2016). Similarmente, Brum et al. (2018) verificaram que os níveis de colesterol plasmático em tilápia do Nilo foram reduzidos com adição de 0,5 e 1,5 mL de OEZO na dieta.

O fígado é um órgão fundamental no metabolismo de nutrientes, onde alterações histológicas podem indicar prejuízo na condição nutricional (CABALLERO et al., 2003). Tais alterações foram evidenciadas pelas análises histomorfométricas do presente estudo nos peixes alimentados com 1,0 mL OEZO kg dieta⁻¹, o que poderia ser um indício de que o fígado está eliminando possíveis resíduos produzidos (LEMES e BRACCINI, 2004). Contudo, as análises histológicas hepáticas dos peixes que receberam 1,5 e 2,0 mL OEZO kg dieta⁻¹ demonstraram redução de vacúolos e necrose dos hepatócitos,

possivelmente resultando em nenhum prejuízo a estrutura destas células nos juvenis. Este é um importante achado, pois quando óleos essenciais são administrados nas concentrações adequadas, a saúde dos peixes é melhorada. Do contrário, os efeitos podem ser prejudiciais à saúde e ao crescimento dos animais (BANDARANAYAKE, 2006).

Nas células hepáticas, em geral, quando a energia da dieta ultrapassa a capacidade metabólica celular, a célula desloca o seu núcleo para a periferia, ocorrendo o aparecimento de congestões sanguíneas e um quadro de esteatose hepática (CABALLERO et al., 2004; GAYÃO et al., 2013). No presente estudo, isto foi verificado nos peixes que receberam dietas com concentrações acima de 1,0 mL OEZO kg⁻¹. Inclusive, o número de hepatócitos aumentou a medida em que foram aumentadas as concentrações de OEZO na dieta. Adicionalmente, embora os dados histológicos do presente estudo tenham demonstrado alterações na morfologia do fígado com as doses acima de 1,0 mL OEZO kg dieta⁻¹, como necrose e congestão sanguínea, nós verificamos que a área e o perímetro dos hepatócitos diminuíram em comparação ao grupo controle. Em geral, a incorporação de OEZO na dieta não induziu danos severos a este órgão e nem exerceu efeito adverso sobre a sobrevivência dos peixes, sendo que nos peixes alimentados com 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ nenhuma alteração morfológica danosa ao fígado foi encontrada.

CONCLUSÃO

A suplementação de 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ é indicada para alimentação de juvenis de tilápia do Nilo, pois melhorou o desempenho de crescimento e os níveis de leucócitos e demais variáveis hematológicas, sem comprometer o metabolismo e as variáveis histomorfométricas intestinais e hepáticas.

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATIF, H.M.R.; KHALIL, R.H. Evaluation of two phytobiotics, *Spirulina platensis* and *Origanum vulgare* extract on growth, serum antioxidant activities and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to pathogenic *Vibrio alginolyticus*. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v.1, p.250-255, 2014.

ABBASI-GHADIKOLAEI, H.; KAMALI, A.; SOLTANI, M.; SHARIFIAN, M. Effects of *Zingiber officinale* powder on growth parameters, survival rate and biochemical composition of body in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v.16, p.67-85, 2017.

ACAR, Ü.; KESBIÇ, O.S.; YILMAZ, S.; GÜLTEPE, N.; TÜRKER A. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. **Aquaculture**, v.437, p.282-286, 2015. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.12.015

ADEOYE, A.A.; JARAMILLO-TORRES, A.; FOZ, S.W.; MERRIFIELD, D.L.; DAVIES, S.J. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v.215, p.133-143, 2016. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.03.002

AHMADIFAR, E.; SHEIKHZADEH, N.; ROSHANAIEI, K.; DARGAHI, N.; FAGGIO, C. Can dietary ginger (*Zingiber officinale*) alter biochemical and immunological parameters and gene expression related to growth, immunity and antioxidant system in zebrafish (*Danio rerio*)? **Aquaculture**, v.507, p.341-348, 2019. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.04.049

ALMEIDA, A.C. de; MORÃO, R.P.; MARTINS, E.R.; FONSECA, F.S.A. da; SOUZA, C.N. de; PRATES, J.P.B.; OLIVEIRA, F.D. de; Da SILVA, L.M.V. Atividade antisséptica do óleo essencial de *Lippia origanoides* Cham. (alecrim-pimenta) na presença de leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, p.905-911, 2016. Doi:

10.1590/s0100-736x2016000900018

ANDRADE, B.F.M.T.; BARBOSA, L.N.; PROBST, I.S.; FERNANDES JUNIOR, A. Antimicrobial activity of essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v.26, p.34-40, 2014. Doi: 10.1080/10412905.2013.860409

APINES-AMAR, M.J.S.; AMAR, E.C.; FAISAN JR., J.P.; PAKINGKING JR., R.V.; SATOH, S. Dietary onion and ginger enhance growth, hemato-immunological responses, and disease resistance in brown-marbled grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*. **Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society**, v.5, p.231-239, 2012.

BABA, E.; ACAR, Ü.; ÖNTAŞ, C.; KESBIÇ, O.S.; YILMAZ, S. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture**, v.465, p.13-18, 2016. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.08.023

BACALL, N.S. Analisador automático hematológico e a importância de validar novos equipamentos em laboratórios clínicos. **Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia**, v.31, p.218-210, 2009. Doi: 10.1590/S1516-84842009000400006

BANDARANAYAKE, W.M. **Quality control, screening, toxicity, and regulation of herbal drugs**. Pp 25-57, 2006. Doi: 10.1002/9783527609987.ch2

BARCELOUX, D.G. **Medical Toxicology of Natural Substances - Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*)**, Chapter 68, Wiley Blackwell (John Wiley & Sons), v.2, p.482-487, 2008. Doi: 10.1002/9780470330319.ch68

BERALDO, C.; DANELUZZI, N.S.; SCANAVACCA, J.; DOYAMA, J.T.; FERNANDES JÚNIOR, A.; FENIMAN, C.M. Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.43, p. 436-440, 2013. Doi: 10.1590/s1983-40632013000400006

BRANCO, P.A.C.; SOARES, R.T.R.N.; BRETAS, A.A.; CABRAL, N.O.; VIEITES,

F.M.; BONAPARTE, T.P.; MOTA, T. Óleos essenciais em dietas para leitões recém-desmamados. **Global Science Technology**, v.3, p.75-83, 2010.

BRITISH PHARMACOPOEIA. London: British. **Pharmacopoeia Commission**, 2007.

BRUM, A.; PEREIRA, S.A.; CARDOSO, L.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, M.L. Blood biochemical parameters and melanomacrophage centers in Nile tilapia fed essential oils of clove basil and ginger. **Fish & Shellfish Immunology**, v.74, p.444–449, 2018. Doi: 10.1016/j.fsi.2018.01.021

BRUM, A.; PEREIRA, S.A.; OWATARI, M.S.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, M.L. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**, v.468, p.235-243, 2017. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.10.020

CABALLERO, M.J.; IZQUIERDO, M.S.; KJØRSVIK, E.; FERNANDEZ, A.J.; ROSENLUND, G. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. **Journal of Fish Diseases**, v.27, p.531-541, 2004. Doi: 10.1111/j.1365-2761.2004.00572.x

CABALLERO, M.; IZQUIERDO, M.; KJØRSVIK, E.; MONTERO, D.; SOCORRO, J.; FERNANDEZ, A.; ROSENLUND, G. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. **Aquaculture**, v.225, p.325-340, 2003. Doi: 10.1016/s0044-8486(03)00299-0

CARVALHO, J.V.; LIRA, A.D.; COSTA, C.S.P; MOREIRA, E.L.T.; PINTO, L.F.B.; ABREU, R.D.; ALBINATI, R.C.B. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com *Bacillus subtilis* ou mananoligossacarídeo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, p.176-187, 2011.

COLLIER, H.B. The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v.50, p.550-552, 1944.

COPLEY, N.G. Alloxan and ninhydrin test. **Analyst.**, v.66: p.492-493, 1941.

DA CUNHA, J.A.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B. The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens - A review. **Journal of Applied Microbiology**, v.125, p.328-344, 2018. Doi: 10.1111/jam.13911

De SOUZA, R.C.; De SOUZA, E.M.; Da COSTA, M.M.; MELO, J.F.B.; BALDISSEROTTO, B.; COPATTI, C.E. Dietary addition of the essential oil from *Lippia alba* to Nile tilapia and its effect after inoculation with *Aeromonas* spp. **Aquaculture Nutrition**, v.25, p.39-45, 2018. Doi: 10.1111/anu.12827

EL-SAYED, A.F.M. **Tilapia Culture**. London: Cabi, 2006. 277p.

FAO. 2018. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals**. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FRANKIC, T.; VOLJC, M.; SALOBIR, J.; REZAR, V. Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. **Acta Agriculture Slovenia**, v.94, p.95–102, 2009.

FERRI-LAGNEAU, K.F.; MOSHAL, K.S.; GRIMES, M.; ZAHORA, B.; LV, L.; SANG, S.; LEUNG, T.C. Ginger stimulates hematopoiesis via Bmp pathway in zebrafish, **PLoS One**, v.7, p. e39327, 2012. Doi: 10.1371/journal.pone.0039327

GAYÃO, A.L.B.A.; BUZZOLO, H.; FÁVERO, G.C.; SILVA JÚNIOR, A.A.; PORTELLA, M.C.; da CRUZ, C.; CARNEIRO, D.J. Histologia hepática e produção em tanques-rede de tilápia-do-nilo masculinizada hormonalmente ou não masculinizada. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.48, p.991-997, 2013. Doi: 10.1590/s0100-204x2013000800026

GHOLIPOUR KANANI, H.; NOBAHAR, Z.; KAKOOLAKI, S.; JAFARIAN, H. Effect of ginger- and garlic-supplemented diet on growth performance, some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso huso*. **Fish Physiology and**

Biochemistry, v.40, p.481-490, 2014. Doi: 10.1007/s10695-013-9859-6

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v.56, p.35-39, 1971. Doi: 10.1093/ajcp/56.1.35

GUNDERSEN, H.J.G. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: The edge effect. **Journal of Microscopy**, v.111, p.219-223, 1977. Doi: 10.1111/j.1365-2818.1977.tb00062.x

HASSANIN, M.; EL-SAYED; HAKIM, Y.; BADAWI, EL-SAYED, M. Dietary effect of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on growth performance, immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. **Abbassa International Journal for Aquaculture**, v.7, p.35-52, 2014.

LEMES, A.S.; BRACCINI, M.C. Descrição e análise histológica das glândulas anexas do trato digestório de *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794), (Teleostei, Erythrinidae). **Biodiversidade Pampeana**, v.2, p.33-41, 2004.

HOWARD, C.V.; REED, M. **Unbiased stereology, Three-Dimensional Measurement in Microscopy**, 2ed., 2005. Milton Park, England: BIOS Scientific Publishers.

MAZZARRINO, G.; PAPARELLA, A.; CHAVES-LÓPEZ, C.; FABERI, A.; SERGI, M.; SIGISMONDI, C.; COMPAGNONE, D.; SERIO, A. *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* inactivation dynamics after treatment with selected essential oils. **Food Control**, v.50, p.794-803, 2015. Doi: 10.1016/j.foodcont.2014.10.029

MELLO, H.; MORAES, J.R.E.; NIZA, I.G.; MORAES, F.R.; OZÓRIO, R.O.A.; SHIMADA, M.T.; ENGRACIA FILHO, J.R.; CLAUDIANO, G.S. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de tilápia- do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.724-730, 2013. Doi: 10.1590/s0100-736x2013000600006

MOHAMED, M.A.; EL-DALY, E.F.; EL-AZEEM, N.A.A.; YOUSSEF, A.W.; HASSAN, H.M.A. Growth performance and histological changes in ileum and immune

related organs of broilers fed organic acids or antibiotic growth promoter. **International Journal of Poultry Science**, v.13, p.602-610, 2014. Doi: 10.3923/ijps.2014.602.610

MOHAMMADI, G.; RASHIDIAN, G.; HOSEINIFAR, S.H.; NASERABAD, S.S.; VAN DOAN, H. Ginger (*Zingiber officinale*) extract affects growth performance, body composition, haematology, serum and mucosal immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 99, p.267-273, 2020. Doi: 10.1016/j.fsi.2020.01.032

NICHOLSON, J.K.; HOLMES, E.; KINROSS, J.; BURCELIN, R.; GIBSON, G.; JIA, W.; PETTERSSON, S. Host-gut microbiota metabolic interactions. **Science**, v.336, p.1262-1267, 2012. Doi: 10.1126/science.1223813

NIST/EPA/NIH, **Mass spectral library and search/analysis programs**, J. Wiley and Sons, Hoboken, 2008.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. The National Academies Press. Washington DC 2011.

NYA, E.J.; AUSTIN, B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases**, v.32, p.971-977, 2009. Doi: 10.1111/j.1365-2761.2009.01101.x

OTUNOLA, G.A.; OLOYEDE, O.B.; OLADIJI, A.T.; AFOLAYAN, A.J. Comparative analysis of the chemical composition of three spices — *Allium sativum* L. *Zingiber officinale* Rosc. and *Capsicum frutescens* L. commonly consumed in Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.6927-6931, 2010. Doi: 10.5897/ajb10.183

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. American Registry of Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC. 279p. 1992.

PUNITHA, S.M.J.; BABU, M.M.; SIVARAM, V.; SHANKAR, V.S.; DHAS, S.A.; MAHESH, T.C.; IMMANUEL, G.; CITARASU, T. Immunostimulating influence of herbal medicines on nonspecific immunity in grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. **Aquaculture International**, v.16, p.511-523, 2008. Doi: 10.1007/s10499-007-9162-6

RADHAKRISHNAN, S.; SARAVANA BHAVAN, P.; SEENIVASAN, C.; MURAL-ISANKAR, T.; SHANTHI, R. Effects of native medicinal herbs (*Alternanthera sessilis*, *Eclipta alba* and *Cissus quadrangularis*) on growth performance, digestive enzymes and biochemical constituents of the monsoon river prawn *Macrobrachium malcolmsonii*. **Aquaculture Nutrition**, v.21, p.496-506, 2015. Doi: 10.1111/anu.12180

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PADUA, S.B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. **Métodos para análises hematológicas em peixes**. EDUEM; Maringá, 2013.

RUEDA-JASSOA, R.; CONCEIÇÃO, L.E.C.; DIAS, J.; DE COEN, W.; GOMES, E.; REES, J.F.; SOARES, F.; DINIS, M.T.; SORGELOOS, P. Effect of dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. **Aquaculture**, v.231, p.417-433, 2004. Doi: 10.1016/S0044-8486(03)00537-4

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v.91, p.621-632, 2005. Doi: 10.1016/j.foodchem.2004.06.031

SCALBERT, A.; JOHNSON, I.T.; SALTMARSH, M. Polyphenols: antioxidants and beyond. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.215S-217S (Suppl.), 2005. Doi: 10.1093/ajcn/81.1.215S

SCHWARZ, K.K.; FURUYA, W.M.; NATALI, M.R.M.; GAUDEZI, M.C.; LIMA, P.A.G. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2634-2640, 2011. Doi: 10.1590/s1516-35982011001200003

SHAKYA, S.R. Medicinal uses of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) improves growth

and enhances immunity in aquaculture. **International Journal of Chemical Studies**, v.3, p.83-87, 2015.

SHALABY, S.M.M.; ABD ELMONEM, A.I.; EL DAKAR, A.Y. Enhancement of growth performance, feed and nutrient utilization, of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, using of licorice roots (Erksous) as a feed attractive. **Journal of the Egyptian Academic Society for Environment Development (B. Aquaculture)**, v.4, p.119-142, 2003. Doi: 10.5713/ajas.2014.14087

SHOKR, E.A.M.; MOHAMED, E.M. Effect of ginger on some hematological aspects and immune system in Nile tilapia. **Abbassa - International Journal for Aquaculture**, v.12, p.1-18, 2019. Doi: 10.1002/ffj.1373

SINGH, G; MAURYA, S.; CATALÃO, C; LAMPASONA, M.P. Studies on essential oils, Part 42: chemical, antifungal, antioxidant and sprout suppressant studies on ginger essential oil and its oleoresin. **Flavor and Fragrance Journal**, v.20, p.1-6, 2005.

SUKUMARAN, V.; PARK, S.C.; GIRI, S.S. Role of dietary ginger *Zingiber officinale* in improving growth performances and immune functions of *Labeo rohita* fingerlings. **Fish and Shellfish Immunology**, v.57, p.362–370, 2016. Doi: 10.1016/j.fsi.2016.08.056

TALPUR, A.D.; IKHWANUDDIN, M.; ABOL-MUNAFI, A.B. Nutritional effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on immune response of Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. **Aquaculture**, v.400-401, p.46-52, 2013.

TEIXEIRA, R.R.; De SOUZA, R.C.; SENA, A.C.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANN, B.M.; COUTO, R.D.; COPATTI, C.E. Essential oil of *Aloysia triphylla* in Nile tilapia: Anaesthesia, stress parameters and sensory evaluation of fillets. **Aquaculture Research**, v.48, p.3383-3392, 2017. Doi: 10.1111/are.13165

TONSY, H.D.; MAHMOUD, S.H.; LADIB, E.H.; ZAKI, M.A. Effect of some medicinal plants diets on the mono-sex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), growth performance, feed utilization and some physiological parameters. **Egyptian Journal of Aquatic**

Biology & Fisheries, v.15, p.53-72, 2011. Doi: 10.21608/EJABF.2011.2101

VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PALA, G.; JESUS, R.B.; KOTZENT, S.; COSTA, J.C.; SILVA, T.F.A.; PILARSKI, F. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v.48, p.5640–5649, 2017. Doi: 10.1111/are.13386

VALLEJOS-VIDAL, E.; REYES-LÓPEZ, F.; TELES, M.; MACKENZIE, S. The response of fish to immunostimulant diets. **Fish & Shellfish Immunology**, v.56, p.34-69, 2016. Doi: 10.1016/j.fsi.2016.06.028

WAGNER, T.; CONGLETON, J.L. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.61, p.1066-1074, 2004. Doi: 10.1139/f04-050

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

ZHAI, S.W.; LU, J.J.; CHEN, X.H. Effects of dietary grape seed proanthocyanidins on growth performance, some serum biochemical parameters and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Italian Journal of Animal Science**, v.13, p.535-540, 2016. Doi: 10.4081/ijas.2014.3357

ZEPPENFELD, C.C.; HERNÁNDEZ, D.R.; SANTINÓN, J.J.; HEINZMANN, B.M.; DA CUNHA, M.A.; SCHMIDT, D.; BALDISSEROTTO, B. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**, v.22, p.933-940, 2015. Doi: 10.1111/anu.12311

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

A suplementação de 2,0 mL OEOB kg dieta⁻¹ é a concentração mais indicada para juvenis de pirarucu criados com uma densidade de estocagem muito alta (7,56 kg m⁻³), pois melhorou o desempenho do crescimento, garantiu a saúde e não causou alterações relacionadas ao estresse no perfil metabólico.

A inclusão de 0,5 mL OEZO kg dieta⁻¹ é indicado tanto para os juvenis de tambaqui, quanto para tilápia do Nilo. Este nível apresentou melhora no desempenho de crescimento, bem como nos níveis das variáveis hematológicas e bioquímica, além de contribuir para variáveis histomorfométricas intestinais e hepáticas.

Os resultados gerados nesta tese são fundamentais para contribuir numa melhor compreensão da ação dos OEOB e OEZO na dieta de peixes, visto que são encontrados poucos estudos envolvendo propriamente o OE suplementado na dieta, bem como as espécies envolvidas nessa pesquisa.

Por fim, destaca-se que são necessários novos estudos para entender melhor a ação dos compostos bioativos presentes nos OEOB e OEZO no desenvolvimento dessas espécies.