

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Zingiber officinale* E *Ocimum gratissimum* NA DIETA DE
Pseudoplatystoma reticulatum E SEUS POTENCIAIS ANESTÉSICOS

Acadêmico: Leonardo Augusto da Silva
Zootecnista

Aquidauana-MS
Novembro/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Zingiber officinale* E *Ocimum gratissimum* NA DIETA DE
Pseudoplatystoma reticulatum E SEUS POTENCIAIS ANESTÉSICOS

Acadêmico: Leonardo Augusto da Silva
Orientadora: Prof^a Dr^a. Cristiane F. Meldau de Campos Amaral

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”.

Aquidauana-MS
Novembro/2019

S581o Silva, Leonardo Augusto

Óleos essenciais de *Zingiber officinale* e *Ocimum gratissimum* na dieta de *Pseudoplatystoma reticulatum* e seus potenciais anestésicos/ Leonardo Augusto da Silva. – Aquidauana, MS: UEMS, 2019.
73f.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2019.

Orientadora: Prof.^a Dra. Cristiane F. Meldau de Campos Amaral.

1. Aditivo zootécnico 2. Anestésicos naturais 3. Alfavacacravo 4. Gengibre I. Amaral, Cristiane F. M. de Campos II. Título

CDD 23. ed. - 597



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Área de Concentração: Produção Animal no Cerrado-Pantanal

CRISTIANE MELDAU DE CAMPOS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 04/09/2018.

A handwritten signature in black ink, reading 'Cristiane Campos', is written over a horizontal line.

Dra. Cristiane Meldau de Campos - orientadora

A handwritten signature in black ink, reading 'Robson Rodrigues de Andrade', is written over a horizontal line.

Dr. Robson Rodrigues de Andrade

A handwritten signature in black ink, reading 'Dacley H. Neu', is written over a horizontal line.

Dr. Dacley Hertes Neu

“Acerte em tudo que puder acertar, mas não se torture com seus
erros”

Eu dedico essa dissertação a Deus pelas virtudes concebidas para meu sucesso profissional.

Em memória de meu Tio Braulino e meus queridos avôs Lazaro da Silva e Alípio Brandão por acreditarem que esta etapa seria cumprida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida que me deu e pelas pessoas que coloca diariamente em meu caminho, tornando possível minha realização profissional.

Aos meus pais, José e Solange, irmãos, Diego e Paulo, por mostrarem credibilidade nas dificuldades, fazendo com que a vitória fosse alcançada.

A minha esposa Tamires, sogra Sonia e cunhada Nine pelo companheirismo no dia-a-dia.

A minha orientadora Dr^a Cristiane Meldau, por ter acreditado em mim, proporcionado oportunidades diversas de trabalhos gerando conhecimentos técnicos e científicos.

Aos docentes que contribuíram para minha formação profissional até este momento, por meio dos conhecimentos que foram compartilhados em especial a minha coorientadora Dr^a Fabiana Pilarski e aos Dr^o Robson Andrade e Dr^o Tiago Pasquetti, membros da banca.

Aos meus colegas do Laboratório de Sanidade de Peixes que dividem suas experiências profissionais e que colaboraram para a realização desse trabalho.

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado, bem como à Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul pela estrutura para realização do experimento e disponibilização de funcionários no setor de piscicultura.

A todos que, direta e indiretamente, colaboraram em minha formação até aqui.

Obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	X
ABSTRACT	XII
CAPÍTULO 1 –CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1 - Introdução.....	1
2 - Objetivos	2
2.1 - Objetivo geral.....	2
2.2 - Objetivos específicos	2
3 - Revisão de literatura.....	3
3.1 - <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	3
3.3 - Sistema imune de peixes	4
3.4 - Óleos essenciais	7
3.4.1–Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>).....	8
3.4.2 -Alfava-cravo (<i>Ocimum gratissimum</i>).....	10
4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
CAPÍTULO 2 - DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E HISTOMORFOMETRIA INTESTINAL DE <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO O ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Zingiber officinale</i>	19
Resumo	19
Abstract.....	20
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 3 - EFEITO ZOOTÉCNICO, IMULÓGICO, HISTOMORFOMÉTRICO E RESPOSTA AO DESAFIO POR <i>Aeromonas hydrophila</i> EM <i>Pseudoplatystoma</i> <i>reticulatum</i> ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Ocimum gratissimum</i>	28
Resumo	28
Abstract.....	29
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	31

RESULTADOS	35
DISCUSSÃO	38
CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO 4 – POTENCIAL ANESTÉSICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Ocimum gratissimum</i> e <i>Zingiber officinale</i> PARA <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	44
Resumo	44
Abstract.....	45
RESULTADOS	51
DISCUSSÃO	53
CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	55
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	59

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Taxonomia do <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	3
---	---

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Composição química do OE de <i>Zingiber officinale</i>	22
--	----

Tabela 2. Desempenho zootécnico (média $\pm$ erro padrão) de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> alimentados com dietas contendo OE de gengibre durante 61 dias	24
--	----

Tabela 3. Variáveis histomorfométricas (média $\pm$ erro padrão) de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> alimentados com dietas contendo OE de gengibre durante 61 dias.	25
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Composição química do OE de <i>Ocimum gratissimum</i>	32
---	----

Tabela 2. Valor médio e erro padrão do desempenho zootécnico de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.....	36
--	----

Tabela 3. Valor médio e erro padrão de variáveis hematológicas, plasmática e imunológica de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.	37
---	----

Tabela 4. Contagem diferencial de leucócitos, trombócitos e total de leucócitos (média e erro padrão) de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.	37
--	----

Tabela 5. Valores médios e erro padrão de variáveis histomorfométricas de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.....	38
--	----

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Composição química do OE de <i>Ocimum gratissimum</i>	48
---	----

Tabela 2. Composição química OE de <i>Zingiber officinale</i>	49
---	----

Tabela 3. Tempo médio em segundos $\pm$ erro padrão de indução e recuperação de juvenis de cachara <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> , submetidos à anestesia com níveis de OE de alfavaca-cravo e gengibre.....	51
---	----

Tabela 4. Valores médios e erro padrão do hemograma de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> anestesiados com níveis de OE de alfavaca-cravo, e não anestesiados (Controle).	52
--	----

Tabela 5. Valores médios e erro padrão do hemograma de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> anestesiados com níveis de OE de gengibre, e não anestesiados (Controle).....	52
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Juvenil de cachara – <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	4
Figura 2. Planta e rizoma de gengibre <i>Zingiber officinale</i>	8
Figura 3. Planta alfavaca-cravo <i>Ocimum gratissimum</i>	10
Figura 4. Mortalidade cumulativa em cacharas alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo e desafiados com <i>Aeromonas hydrophila</i>	38

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo verificar os efeitos dos óleos essenciais (OEs) alfavaca-cravo e gengibre como aditivo zootécnico na dieta e como anestésico em juvenis de cachara. Três experimentos foram realizados. No primeiro (experimento 1) foi verificado o efeito da adição de OE de gengibre na dieta de cacharas durante 61 dias, conduzido em delineamento inteiramente casualizado, utilizando 300 cacharas com comprimento total médio de $17,5 \pm 0,5$ cm e peso médio 25 ± 1 g, distribuídos em 20 tanques de 80 L, alimentados duas vezes ao dia com dietas contendo ou não OE de gengibre nos níveis: 0,0%, 0,5%, 1% e 1,5% em cinco repetições. Após o período de alimentação, foi realizado jejum de 24 horas e posterior a biometria final para determinação do desempenho zootécnico e a colheita de amostras do intestino para histomorfometria. O experimento não apresentou diferença entre os grupos em análise de variância ($P > 0,05$). Por fim, entende-se que os níveis de OE de gengibre não têm efeito nas variáveis de desempenho zootécnico e de histomorfometria do intestino de cacharas. O segundo (experimento 2) foi avaliado o efeito da adição de OE de alfavaca-cravo na dieta de cacharas durante 45 dias, realizado em delineamento inteiramente ao acaso, com 300 de cacharas com comprimento total médio de $14,98 \pm 0,28$ cm e peso médio $18,84 \pm 1,22$ g, distribuídos em 20 tanques de 80 L, alimentados duas vezes ao dia com dietas contendo ou não OE de alfavaca-cravo nos níveis: 0,0%, 0,5%, 1,0% e 1,5% em cinco repetições. Após o período de alimentação, foi realizado jejum de 24 horas e posterior a biometria final, colheita sanguínea, colheita de amostras do intestino médio e desafio por *Aeromonas hydrophila*. Foi observado efeito no ganho em peso, volume corpuscular médio, quantidade de trombócitos e neutrófilos, atividade respiratória dos leucócitos e altura do vilo ($P < 0,05$). A resposta da taxa da mortalidade cumulativa foi menor para os peixes que receberam dietas com OE de alfavaca-cravo. Assim, conclui-se que o uso do OE de alfavaca-cravo em dietas para cacharas no nível de 1,0% durante 45 dias melhora o desempenho zootécnico e sistema imunológico. No terceiro (experimento 3) foi analisado o potencial anestésico dos OE de gengibre e alfavaca-cravo em cacharas. Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso com três concentrações de cada OE (100, 150, 200 mg L⁻¹) e o controle isento de OEs e álcool etílico, com seis repetições considerando cada juvenil como uma repetição. Foram utilizados 42 animais, com peso e comprimento médio de 40 ± 10 g e $19 \pm 1,5$ cm respectivamente. Os tempos de indução e de recuperação foram registrados com cronômetro digital. Após a indução, cada animal foi submetido à colheita sanguínea

para avaliação da glicose plasmática e hematologia. Os tempos de indução e recuperação com OE de alfavaca-cravo e recuperação do OE de gengibre não apresentaram diferenças ($P>0,05$), entretanto, no tempo de indução com as concentrações do OE gengibre foi significativo ($P<0,05$). Foi observado efeito número de eritrócitos na indução com OE de alfavaca-cravo e na variável hemoglobina após a indução com OE de gengibre ($P<0,05$). As demais variáveis avaliadas não apresentaram efeito ($P>0,05$), concluindo que os OEs de alfavaca-cravo e gengibre são capazes de anestésiar cacharas.

Palavras chave: Aditivo zootécnico; alfavaca-cravo; anestésico; cachara; gengibre.

ABSTRACT

This content aims to verify the effects of alfavaca-clove and ginger essential oils (EOs) as a zootechnical additive in the diet and as an anesthetic in striped sorubim juveniles. Three experiments were performed. In the first (experiment 1), the effect of the addition of ginger EO on the diet of striped sorubim during 61 days, conducted in a completely randomized design, using three hundred striped sorubim with an average total length and weight of 17.5 ± 0.5 cm and 25.0 ± 1.0 g, respectively. Fish were distributed in 20 tanks (80 L) and fed twice times daily with diets containing or not ginger EO at the levels: 0.0%, 0.5%, 1% and 1.5% in five repetitions. After the feeding period, 24-hour fasting was performed, and the final biometrics parameters were registered to determine the performance, and intestinal samples were collected for histomorphometry. The experiment showed no difference between the groups under the analysis of variance ($P > 0.05$). Finally, it is understood that the ginger EO levels do not affect the performance and histomorphometric variables of the gut of the striped sorubim. The second (experiment 2) evaluated the effect of the addition of alfavaca-clove EO on the striped sorubim diet for 45 days, performed in a completely randomized design, with three hundred striped sorubim, with average total length and weight of 14.98 ± 0.28 cm and 18.84 ± 1.22 g, respectively. Fish were distributed in 20 tanks (80 L), and fed twice times daily, with diets containing or not alfavaca-clove EO at the levels: 0.0%, 0.5%, 1, 0%, and 1.5% with five repetitions. After the feeding period, 24-hour fasting, subsequent final biometrics, blood and midgut sampling, and challenged by *Aeromonas hydrophila* were performed. Was observed the effect on weight gain, mean corpuscular volume, thrombotic and neutrophil count, leukocyte respiratory activity, and villus height ($P < 0.05$). The cumulative mortality rate response was lower for fishes receiving alfavaca-clove EO diets. Thus, it can be concluded that the use of alfavaca-clove in diets for striped sorubim at 1.0% for 45 days improves the performance and immune system. In the third (experiment 3), the anesthetic potential of the ginger and alfavaca-clove in striped sorubim was analyzed. A completely randomized design was used with three levels of each (100, 150, and 200 mg L⁻¹), and the control, free of ethyl alcohol, with six replications considering each juvenile as one repetition. Forty-two animals were used, with weight and an average length of 40 ± 10 g and 19 ± 1.5 cm, respectively. Induction and recovery times were recorded with a digital timer. After induction, each animal underwent blood collection for plasma glucose and hematology evaluation. The induction and recovery times with alfavaca-clove and the recovery of ginger had no

differences ($P > 0.05$), however, the induction time with the concentrations of ginger was significant ($P < 0.05$). Erythrocyte number effect was observed on alfavaca-clove EO induction, and hemoglobin variable after the ginger EO induction ($P < 0.05$). The other variables evaluated haven't effect ($P > 0.05$), concluding that the alfavaca-clove and ginger EOs are capable of anesthetizing striped sorubim.

Keywords: Alfavaca-clove, anesthetic; ginger; striped sorubim; zootechnical additive.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 - Introdução

O cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* é uma espécie de couro nativa do Centro-oeste de suma importância econômica na região sendo um dos representantes do Estado de Mato Grosso do Sul (CARVALHO-COSTA et al., 2011 & PRADO et al., 2012). Este surubim possui atributos zootécnicos favoráveis ao cultivo de larga escala, como textura firme da carne e ausência de sabor acentuado de peixes e de espinhos intramusculares (CAMPOS, 2003).

Sabendo que o cachara é produzido de forma intensiva e pode apresentar problemas com patógenos, principalmente, em sua fase inicial de produção, é importante que protocolos de suplementação dietária com o uso de aditivos com potencial imunostimulante sejam testados, visando melhorar a resistência, minimizar aparecimento de enfermidades e alcançar resultados positivos em sua produção. Além de pesquisas sobre o uso dos anestésicos naturais que facilitem o manejo e minimizam o estresse nos peixes (HONCZARYK; INOUE, 2009; DELBON, 2010; SIMÕES et al., 2012).

O uso de dietas contendo aditivos pode auxiliar na manutenção do bem estar metabólico e contribuir para a melhoria do desempenho dos animais (GONÇALVES, 2009). A introdução de produtos naturais na dieta visa comprovar a atividade antimicrobiana e antiparasitária, bem como propriedades imunostimulantes e redutoras de estresse em peixes, efeito do princípio ativo, como os óleos essenciais (CITARASU, 2010; CHAKRABORTY & HANCZ, 2011; HARIKRISHNAN et al., 2011).

Em relação aos anestésicos naturais, um dos mais analisados é o óleo de cravo, como nas pesquisas de Cunha & Rosa, (2006); Delbon (2006); Mylonas et al. (2005). Por conseguinte, é importante realizar pesquisas com outros óleos essenciais como *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) e *Zingiber officinalis* (gengibre).

Diversas são as origens dos óleos essenciais, tais como extrato de folhas, flores, caule, raiz, sementes (BIZZO et al., 2009). A planta alfavaca-cravo possui através de sua extração um óleo essencial que tem como componente o eugenol, apresentando atividade analgésica, antimicrobiana, imunostimulante e antifúngica (ONAJOBI, 1986; JANSSEN, et al., 1989; MATOS, 1998; RODRIGUES et al., 2006). O gengibre, por sua vez, que se trata de uma espécie produtora de rizomas que contem no óleo essencial citral, cineol, borneol e os sesquiterpenos zingibereno e bisaboleno,

sendo esse anestésico, anti-inflamatório, analgésico, antipirético, imunoestimulante, antimicrobiano e hipoglicemiante (LORENZI & MATOS, 2002).

Por fim, espera-se obter maiores informações a respeito da adição de óleos essenciais nas dietas do cachara e como anestésico a fim de obter melhora no desempenho zootécnico da espécie. No primeiro capítulo esboçaremos a revisão de literatura com tópicos sobre panorama de produção, *Pseudoplatystoma reticulatum*, sistema imune de peixes e óleos essenciais. O segundo capítulo refere-se ao artigo intitulado “Desempenho zootécnico e histomorfometria intestinal de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo óleo essencial de *Zingiber officinalis*”. No capítulo três será apresentado o artigo denominado “Efeito zootécnico, imulógico, histomorfométrico e resposta ao desafio por *Aeromonas hydrophila* em *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo óleo essencial de *Ocimum gratissimum*”. Em seguida, apresentaremos o artigo sobre “Potencial anestésico de óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* e *Zingiber officinale* para *Pseudoplatystoma reticulatum*” e finalmente, no capítulo cinco serão feitas as últimas considerações da pesquisa.

2 - Objetivos

2.1 - Objetivo geral

Verificar a eficiência dos óleos essenciais de alfavaca-cravo e gengibre como aditivo zootécnico e anestésico em juvenis de cachara.

2.2 - Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de dietas contendo óleos essenciais de gengibre *Zingiber officinale* e alfavaca-cravo *Ocimum gratissimum* no desempenho zootécnico e na histomorfometria do intestino de cachara *Pseudoplatystoma reticulatum*;

- Avaliar o efeito de dietas contendo óleo essencial de alfavaca-cravo na glicose plasmática, atividade respiratória de leucócitos, hematologia e desafio bacteriano com *Aeromonas hydrophila* em cachara;

- Avaliar o potencial anestésico dos óleos essenciais de gengibre e alfavaca-cravo, e seus efeitos na glicose plasmática e hematologia de cachara.

3 - Revisão de Literatura

3.1 - *Pseudoplatystoma reticulatum*

A ordem Siluriformes possui peixes com características morfológicas particulares como corpo nu ou revestido por placas dérmicas conhecidas como peixes de couro, além de apresentar nadadeiras dorsais, peitorais, ventrais, anais e caudais raiadas, nadadeiras adiposas, barbilhões sensitivos na mandíbula e maxila, e hábitos noturnos (BRITSKI et al., 1988, FERREIRA et al., 1998, e BAUMGATNER et al., 2012).

Na ordem dos Siluriformes localizamos a família Pimelodidae, formada por 30 gêneros e 90 espécies espalhadas em várias regiões da América do Sul (LITTMANN & LUNDDERG 2003). Pertence à família Pimelodidae, o gênero *Pseudoplatystoma* (Tabela 1) é conhecido por surubim, sendo esses os maiores peixes piscívoros e predadores da família, que é formada por pelo menos seis espécies, sendo a espécie *P. reticulatum* oriunda do *P. fasciatum* dos rios Paraná e Amazonas (BUITRAGO-SUÁREZ & BURR, 2007).

Tabela 1. Taxonomia do *Pseudoplatystoma reticulatum*.

Taxonomia	
Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Classe:	Actinopterygii
Subclasse:	Neopterygii
Infraclasse:	Teleostei
Superordem:	Ostariophysi
Orden:	Siluriformes
Família:	Pimelodidae
Gênero:	<i>Pseudoplatystoma</i>
Espécie:	<i>P. reticulatum</i> EIGENMANN & EIGENMANN, (1889)

O *Pseudoplatystoma reticulatum* está entre as espécies mais produzidas pela aquicultura brasileira e vem sendo utilizada para aplicação de técnicas de hibridização em cativeiro (PORTO-FORESTI et al., 2013). Mesmo com a hibridização, este peixe é apresentado como “Pintado” no mercado. O estado de Mato Grosso do Sul é responsável para a produção de surubim híbrido pintachara, *P. corruscans* macho x *P. reticulatum* feminino, enquanto no estado de Mato Grosso, é produzido o híbrido jundiara, *Leiarius marmoratus* macho x *P. reticulatum* (VENTURA et al. 2013).

Esses híbridos são considerados de grande interesse comercial devido ao rendimento de carcaça e sabor agradável. O menor custo na produção, aliado à precocidade e à docilidade dos híbridos em relação às raças puras, destacam-se entre as vantagens do cruzamento interespecífico (CARVALHO et al., 2008). Além disso, os híbridos (*P. corruscans* x *P. reticulatum*) têm alta aceitabilidade na Europa e Estados Unidos devido ao excelente sabor nos filés (PEREIRA et al., 2015).

O cachara possui grande porte, cor acinzentada brilhante e o corpo com listras verticais que podem estar bordejadas dorsalmente à frente e atrás por umas pequenas listras e nadadeiras apresentando pontos negros (BUITRAGO-SUÁREZ & BURR, 2007) (Figura 1).



Figura 1. Juvenil de cachara – *Pseudoplatystoma reticulatum*.

Este surubim é atraente tanto para pesca esportiva quanto para ornamentação, e excelente para compra e venda, pois possuem carne saborosa, macia de coloração clara, sem incidência de espinhos em forma de “Y” na sua musculatura (CAMPOS, 2010; HONORATO, 2014). Considerando que o cachara apresenta aceitabilidade dos consumidores, bem como, potencial produtivo e econômico, pesquisas relacionadas à sanidade do seu cultivo são essenciais para alavancar sua produção.

3.3 - Sistema imune de peixes

Sistema imunológico é um conjunto de mecanismos fisiológicos, componentes celulares e humorais que agem em defesa do organismo contra agentes estranhos, respondendo a fatores endógenos ou componentes exógenos que estimulam todo esse

1 sistema trabalhando para manter a homeostase dos animais (INGRAM, 1980;
2 TAKAHASHI & URBINATI, 2014).

3 Nos peixes, esse sistema atua de forma eficaz na defesa do organismo,
4 limitando a ação e duração de infecção ou parasitas, defendendo os mecanismos
5 inespecíficos e específicos dos peixes (IWASHITA & MACIEL, 2013). Esse sistema é
6 dividido em dois meios de defesa, sendo eles, sistema inato e adquirido, que
7 complementam um ao outro, contribuindo para a homeostase do animal (FEARON,
8 1997).

9 A defesa inata é o primeiro bloqueio de defesa do organismo, composta por
10 pele, escamas, muco e outros componentes (MAGNADÓTTIR, 2006). Já a imunidade
11 adquirida consiste em ferramentas hábeis de reconhecer e combater enfermidades que
12 os peixes já foram expostos, por meio da produção de anticorpos e células específicas
13 (URIBE, 2011). Nos peixes, o rim tem a função de formação e maturação de células
14 sanguíneas e de defesa, podendo mudar dependendo da espécie do peixe, sendo dividido
15 em duas partes, rim excretor e rim cefálico (TAKAHASHI, 2014; COSTA, 2012).
16 Desta feita, o rim cefálico produz e diferencia as células do sistema imune, como os
17 linfócitos, monócitos, macrófagos e granulócitos (MESEGUER et al., 1994).

18 São os tecidos linfóides dos peixes que produzem as células de defesa. A célula
19 precursora do sistema imunológico origina e renova todas as células sanguíneas por
20 hematopoiese, formando diferentes células, como eritrócitos, trombócitos, leucócitos,
21 dependendo do estímulo recebido (METCALF, 1995; EVANS, 1997).

22 Os trombócitos têm formato celular fusiforme, com citoplasma hialino, sem
23 granulações e com o núcleo que acompanha o formato da célula (TAVARES-DIAS, et
24 al., 2004). São de fundamental importância na defesa orgânica (TAVARES-DIAS, et
25 al., 2000), promovem a hemostasia e podem desempenhar função fagocítica
26 (BURROWS et al., 2001; STOSIK et al., 2001; TAVARES-DIAS et al., 2007), além da
27 sua habilidade de migrar para o foco inflamatório (MARTINS et al., 2008).

28 Os leucócitos são as células mais importantes para o sistema de defesa
29 (TAVARES-DIAS et al., 2007; DAVIS et al., 2008; TAVARES-DIAS et al., 2008).
30 Representam importante papel na imunidade não específica e os seus valores podem ser
31 considerados como indicadores do estado de saúde dos peixes (MISRA et al., 2006) e
32 estão dispostos em dois grupos: não granulares (linfócitos e monócitos), e granulares
33 (neutrófilos, eosinófilos, basófilos e leucócitos granulares PAS positivo)
34 (FERNANDEZ, 2002).

Os linfócitos, geralmente, são arredondados, de tamanho variado, com citoplasma basofílico, núcleo arredondado, grande em relação ao seu citoplasma e sem granulações (TAVARES-DIAS, et al., 2004). Estas células têm ação na resposta imunoadaptativa humoral e celular, promovendo a síntese de anticorpos, aumento da capacidade citotóxica, atuando na memória imunológica e agenciando a liberação de fatores reguladores da função imune, como as linfocinas (YOSHINAGA et al., 1996).

Os monócitos são maiores que os linfócitos, têm formato esférico, citoplasma basofílico podendo apresentar vacúolos, normalmente apresentam núcleo arredondado e eventualmente com formato de ferradura (TAVARES-DIAS, et al., 2004). Estas células participam da síntese de citocinas, apresentação dos antígenos (VALLEJO, 1992; SHOEMAKER, 1997), destroem diferentes tipos de patógenos, fagocitam corpos estranhos no organismo, inerte e antigênico, bem como restos celulares da resposta inflamatória e de outros processos degenerativos, além de secretarem radicais livres de oxigênio e nitrogênio (ELLIS, 1999).

Neutrófilos geralmente possuem núcleo com formato de bastonete, e com citoplasma rico em granulações (TAVARES-DIAS, et al., 2004). É a célula mais comum entre as granulares, atuando nos estágios iniciais de inflamação nos peixes (MANNING, 1994), possui a capacidade de fagocitose (FERNANDEZ, 2002) e atividade microbicida (PLYZYCZ et al., 1989).

Os eosinófilos possuem citoplasma granulados e seu núcleo pode estar disposto em formato de bastonete (TAVARES-DIAS, et al., 2004). Os eosinófilos e basófilos são encontrados distribuído no tecido conjuntivo, notadamente no trato gastrointestinal e nas brânquias. Participam dos processos de inflamação crônica e na defesa celular, frequentemente encontradas na corrente sanguínea em casos de infestações parasitárias (RANZANI-PAIVA & SILVA-SOUZA, 2004).

Os LG-PAS possuem citoplasma rico em granulações transparentes grosseiras, com núcleo pequeno, em geral periférico (TAVARES-DIAS, et al., 2004). Os leucócitos granulares PAS-positivos (LG-PAS), anteriormente chamados de células granulocíticas especiais (CGE), atuam na defesa orgânica, porém são poucos lembrados em estudos hematológicos em peixes (RANZANI-PAIVA, 2004).

Por fim, esse sistema de defesa é muito importante, visto que, a partir dele os animais suportam os manejos, doenças e outras situações de estresse. Os aditivos zootécnicos podem funcionar como modulador do sistema imunológico apresentando respostas desejáveis na produção.

3.4 - Óleos essenciais

O interesse em substâncias oriundas de plantas como opção ao uso de antibióticos e produtos químicos no combate a patógenos em piscicultura vem crescendo consideravelmente, ou seja, a fitoterapia passou a ser um caminho para prevenção ou controle de doenças na aquicultura (TAVECHIO et al., 2009). O uso de fitoterápicos está ligado ao desejo de reduzir custos e perdas na produção, buscando satisfazer um mercado exigente tanto em relação a criação dos animais, quanto à qualidade do produto (ROYER et al., 2013).

No ano de 2006 a União Européia proibiu a utilização de antibacterianos como promotores de crescimento na produção animal devido aos possíveis riscos causados a saúde humana, por conta da resistência microbiana. Desta forma, o interesse por pesquisas voltadas a utilização de agentes como os prebióticos, enzimas (JACKSON et al., 2004) e ácidos orgânicos (MILBRADT et al., 2014) tendo como objetivo atender as exigências internacionais e as legislações (SANTANA et al., 2011).

Os óleos essenciais são considerados aditivos fitogênicos, ou seja, substâncias químicas naturais a base de plantas para sua proteção e reprodução (LEITE et al., 2012). Essas substâncias são encontradas em estruturas secretoras especiais, como cavidades, canais, pelos glandulares e células parenquimáticas diferenciadas, podendo ser acondicionados em casca do tronco, flores, folhas, madeira, raízes, frutos e sementes, variando sua composição numa mesma espécie dependendo de onde é localizado (QUEIROGA et al., 1990; JANSSEN et al., 1987; COUTINHO et al., 2006).

O óleo essencial não é uma gordura, contudo é chamado assim por solubilizar-se em óleos e não em água, sendo obtidos somente pelo método de extração a vapor (LUCCHESI et al., 2004). Nesse método, os componentes do material vegetal têm pressão de vapor mais alta que a da água, assim são arrastados pelo vapor d'água, sendo utilizado o aparelho de Clevenger em pequena escala, preferencialmente, em plantas frescas.

A localização dos óleos essenciais muda de acordo com a espécie da planta e sua composição química se altera em relação a isso, sendo que, os óleos são produzidos pelo metabolismo secundário com o objetivo de defesa contra fatores ambientais, predatórios e patógenos (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). NYA & AUSTIN, (2009) usando pó de gengibre *Zingiber officinale* em Truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), obteve melhora na conversão alimentar e eficiência protéica, aumentando a imunidade inata e reduzindo a mortalidade por infecção da bactéria *Aeromonas hydrophila*, com 5g

kg⁻¹. FERREIRA et al. (2014), alcançaram 100% de sobrevivência dos peixes após 15 dias do transporte utilizando o *Ocimum gratissimum* como anestésico no transporte de *Brycon cephalus*.

Os componentes naturais atuam diretamente na proteção do sistema imunológico, tendo em vista que várias células pertencentes a proteção do organismo são compostas por ácidos graxos poliinsaturados e lipoproteínas vulneráveis a lipoperoxidação e comprometimento da funcionalidade da célula (DJORDJEVIĆ, 2004).

Desta feita, os óleos de alfavaca e gengibre estão sendo amplamente utilizados em estudos relacionados à sanidade aquícola. Sendo assim, trabalhos utilizando óleos essenciais de alfavaca-cravo e gengibre como anestésicos e na dieta são importantes, a fim de contribuir para desenvolvimento da produção animal.

3.4.1–Gengibre (*Zingiber officinale*)

O gengibre é uma planta asiática da família Zingiberaceae (Figura 2). Trata-se de uma espécie herbácea, rizomatosa, perene e que possui raízes adventícias e folhas dísticas, sendo as bases reduzidas com brácteas florais, somente em uma flor. A planta pode chegar a 1,5 m, sendo comercial apenas os rizomas (LORENZI & MATOS, 2002).



Figura 2. Planta e rizoma de gengibre *Zingiber officinale* (PEREIRA et al, 2012)

O gengibre é uma planta mundialmente utilizada no tratamento de enfermidades parasitárias e infecciosas. Desta forma, os óleos essenciais desta planta têm como componente principal o citral, que administrados oralmente proporcionam efeito hepatoprotetor e antioxidante (LIU et al., 2013). O gengibre fresco possui de 40 a 60% de amido, 10% de proteínas, 10% de gorduras, sais minerais, resinas, saponinas, além de vitaminas como tiamina, riboflavina, niacinina, ácido ascórbico, ácido

aspártico, ácido glutâmico, ácido piperólico, arginina e asparagina (BULLETIN, 2003). O teor médio de óleo essencial varia de 1 a 3%, sendo encontrado presença dos seguintes componentes: 1,8 cineol, acetato de geralina, acetato de zingiberol, β -bisaboleno, β -felandreno, borneol, canfeno, caprilatos de zingiberol, chugaóis, citral, canfeno, falandreno, gingediol, gingeróis, linalol, zingiberol, zingibereno. Os chineses utilizam o gengibre a mais de 2500 anos para tratar diversas enfermidades, especialmente doenças do trato gastrointestinal, respiratório e afecções sanguíneas (DUKE; AYENSU, 1985).

Em relação aos peixes, estudos apontam que o gengibre pode atuar como promotor de crescimento, sendo que a utilização como aditivo em pó na dieta durante oito semanas proporcionou melhoria no desempenho zootécnico em *Cyprinus carpio* (ABBASI-GHADIKOLAEI et al., 2017).

Melhora no crescimento, conversão alimentar, eficiência protéica, além de confirmarem propriedades imunoestimulantes, redução da mortalidade após desafio com *Aeromonas hydrophila* após a dieta com aditivo de gengibre em pó por 14 dias em Truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (NYA & AUSTIN, 2009). Melhorias no crescimento também foram relatadas para *Cyprinus carpio* alimentadas com adição do gengibre em pó na dieta durante 30 dias, além de aumento na capacidade cognitiva e na sobrevivência à infecção por *Aeromonas hydrophila* (KORNI & KHALIL, 2017). Em *Oncorhynchus mykiss* alimentadas com gengibre em pó durante 10 dias mostraram incremento em parâmetros relacionados à resposta imune inata, como a contagem de leucócitos no sangue, hematócrito, número de eritrócitos, atividade respiratória de leucócitos e atividade da lisozima (HAGHIGHI & ROHANI, 2013).

Ao adicionar o pó de gengibre por 60 dias em *Huso huso* observou-se acréscimo no número de eritrócitos e no hematócrito, além da melhoria na taxa de crescimento específico, ganho de peso e fator de condição (KANANI et al., 2014). Com 10 semanas da adição do pó de gengibre na dieta de *Oreochromis niloticus* proporcionou maior ganho de peso, taxa de crescimento e melhor conversão alimentar (HASSANIN et al., 2014), além de incremento nas imunoglobulinas, na atividade da lisozima e na sobrevivência à infecção por *Aeromonas hydrophila*. Com seis semanas da adição do pó na dieta de *Oreochromis niloticus*, houve melhora nos valores hematológicos e bioquímicos, indicando melhoria no estado fisiológico destes peixes (ANTACHE et al., 2014). Utilizando óleo essencial de gengibre na dieta de *Oreochromis niloticus* mostrou efeito imunomodulador, aumentando a atividade

fagocitária dos leucócitos contra a bactéria *Streptococcus agalactiae* (BRUM et al., 2017).

Deste modo, o gengibre com suas propriedades pode ser uma alternativa de estudo, sendo adicionado na dieta, a fim de se obter respostas de prevenção de doenças, controle de enfermidades e ação promotora de crescimento, o que pode maximizar a produção animal, com menor custo e impacto em relação às práticas convencionais.

3.4.2 - Alfava-cravo (*Ocimum gratissimum*)

A alfavaca-cravo (Figura 3) possui óleo essencial que tem normalmente como componente principal o eugenol, que apresenta atividade analgésica, antimicrobiana, imunoestimulante e antifúngica, além disso, esse gênero possui em torno de 60 espécies de ervas e pequenos arbustos, sendo popularmente conhecidas como manjericões ou alfavacas (ONAJOBI, 1986; JANSSEN, 1989 et al., MATOS, 1998, RODRIGUES et al., 2006).



Figura 3. Planta alfavaca-cravo *Ocimum gratissimum* (PEREIRA et al., 2011)

No Brasil, conhecida popularmente como alfavaca, a alfavaca-cravo é um subarbusto aromático pertencente à família Lamiaceae, originária da Ásia e África do Sul, cultivada em todo território brasileiro. Na medicina tradicional a alfavaca-cravo, é um arbusto aromático com até 1 metro de altura que se adaptou as condições climáticas do Brasil, sendo seus óleos essenciais divididos em três grupos: eugenol, geraniol e timol (PEREIRA; MAIA, 2007).

Os óleos essenciais de *Ocimum* extraídos possuem atividade anestésica em peixes (SILVA et al., 2012; 2015). Em tambaquis, o emprego de banhos terapêuticos com óleo essencial de alfavaca é eficaz no controle de monogenóides (MIRANDA et al., 2010; SOLDERA et al., 2011). No ano de 2009, foram realizados alguns trabalhos

utilizando óleo da alfavaca cravo como antiparasitário, com relatos de propriedades do eugenol para o controle de parasitas nas brânquias dos peixes (MIRANDA et al., 2009). Ao suplementar com o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* na dieta de *Oreochromis niloticus* por 55 dias, observaram melhora na conversão alimentar (BRUM et al., 2017).

Desta forma, a alfavaca cravo é uma planta com características químicas e farmacológicas que sugerem sua utilização como anestésico e por meio da adição na dieta pode possuir potencial na melhora de desempenho zootécnico. Neste sentido, são necessárias pesquisas que demonstrem sua eficiência como anestésico e de adição na dieta de peixes.

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI-GHADIKOLAEI, H., et al. 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, n. 1, p. 67-85, 2017.

ANTACHE, A., et al. The influence of some phytobiotics on haematological and some biochemical indexes at *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, v. 47, n. 1, p. 192-199, 2014.

BATLOUNI, S. R., et al. M.I. Cell interactions in the cachara testes (Pisces, Teleostei) 2001 In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA, Águas de Lindóia, 2001. Anais... Águas de Lindóia: SBM, 2001. p.38
BAUMGARTNER, G; et al. Peixes do baixo Iguaçu [online]. Maringá: Eduem, pag. 101- 146. 2012

BIZZO, H., et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova, São Paulo. v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura (2013^a). Boletim estatístico de pesca e aquicultura do Brasil. Brasília. República Federativa do Brasil.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2010. Brasília, DF, 2012. 128 p.

BRITSKI, H. A., et al. Manual de identificação de peixes da região de Três Maria: com chaves de identificação para os peixes da bacia do São Francisco. 3^a Ed. Câmara dos Deputados / Codevasf, Brasília 115p. 1988.

- 1 BRUM, A.; PEREIRA, S.A.; OWATARI, M.S.; CHAGAS, E.C.;
2 BULLETIN, Ginger: Its role in xenobiotic metabolism. ICMR BULLETIN. v.33, n.6, p.
3 57-63. 2003.
- 4 CHAVES, F.C.M.; MOURIÑO, J.L.P.; MARTINS, M.L. Effect of
5 dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia
6 (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus*
7 *agalactiae*. Aquaculture, v. 468, p. 235-243, 2017.
- 8 BUITRAGO-SUÁREZ, U. A.; BURR, B.M., Taxonomy of the catfish genus
9 *Pseudoplatystoma Bleeker* (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight
10 species. *Zootaxa*, V .1512, p.1-38, 2007.
- 11 CAMPOS, J.L. The culture of pintado, *Pseudoplatystoma* sp. (Pimelodidae). In: The
12 World Aquaculture Society, 2003, Salvador, BA. Anais. Salvador: WAS, 2003. p.150.
13 Resumo.
- 14 CARVALHO-COSTA, L.F.; PIORSKI, N.M.; WILLIS, S.C.; GALETTI JUNIOR,
15 P.M.; ORTÍ, G. 2011. Molecular systematics of the neotropical shovel-nose catfish
16 genus *Pseudoplatystoma Bleeker* 1862 based on nuclear and mtDNA markers.
17 *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.59, p.177-194.
- 18 CHAKRABORTY, S. B.; HANCZ, C. Application of phytochemicals as
19 immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. Reviews in
20 *Aquaculture*, v. 3, p. 103 - 119, 2011.
- 21 CITARASU, T. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry.
22 *Aquaculture International*, v. 18, p. 403 – 414, 2010. *Colossoma macropomum*,
23 mantidos em duas densidades de estocagem, alimentados com dieta contendo probiótico
24 e espirulina. 2009. Tese (Doutorado em Aquicultura) – UNESP, Jaboticabal, 2009.
- 25 COSTA, D. P. Efeito da temperatura da água no desempenho e variáveis
26 hematológicas e bioquímicas de juvenis de pacamã *Lophiosilurus alexandri*.
27 Dissertação de Mestrado em Zootecnia Escola Veterinária da Universidade Federal de
28 Minas Gerais. Ano de 2012. 54p.
- 29 CUNHA, F.E.A. e ROSA, I.L. 2006 Anesthetic effects of clove oil on seven species of
30 tropical reef teleosts. *Journal of Fish Biology*, Scotland, 69: 1504-1512.
- 31 DELBON, M. C. Análises cromatográficas e parâmetros hematológicos de tilápia,
32 *Oreochromis niloticus*, anestesiadas com eugenol em condições laboratoriais e de
33 transporte. 2010. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista
34 Júlio de Mesquita Filho, Centro de Aquicultura, Jaboticabal.

- 1 DELBON, M.C. 2006 Ação da benzocaína e do óleo de cravo sobre parâmetros
- 2 fisiológicos de tilápia, *Oreochromis niloticus*. Jaboticabal. 87p. (Dissertação de
- 3 mestrado em Aquicultura. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho,
- 4 UNESP).
- 5 Duke, J. A. & Ayensu, E. S., Medicinal Plants of China. 2 Vols. 705 S., 1300
- 6 Strichzeichnungen. Reference Publ., Inc. Algonac. Michigan, 1985.
- 7 FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014 a). *The state of*
- 8 *world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges*. Roma: FAO.
- 9 FAO. O peixe, fonte de alimentação, meio de subsistência e de comércio. 2009
- 10 FEARON, D. T. Seeking wisdom in innate immunity. *Nature*, v. 388, p 323 - 324, 1997
- 11 FERREIRA, E. J. G., ZUANON, J. A. S. & SANTOS, G.M. Peixes comerciais do
- 12 médio Amazonas: região de Santarém, Pará. Edições IBAMA, Brasília-DF,
- 13 1998.
- 14 FURUSAWA, A., et al, M.C. 2003. Effects of feeding frequency on growth and
- 15 survival rate of cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) larvae. In: WORLD
- 16 AQUACULTURE, 2003, 19 - 23 Maio. Salvador, Bahia, 2003. Book of
- 17 Abstract...Salvador, World Aquaculture Society, p. 5
- 18 GOBBO NETO, L., LOPES, N.P. Plantas Medicinais: fatores de influência no conteúdo de
- 19 metabólitos secundários. *Quimica Nova*, v.30, n.2, p.374-81, 2007.
- 20 GONÇALVES, A. F. N. Desempenho produtivo e resposta fisiológica de juvenis
- 21 de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) alimentados com diferentes níveis
- 22 de proteína e carboidrato. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia
- 23 Animal) - Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental de Dracena /
- 24 Campus de Ilha Solteira, SP, 2014.
- 25 GONÇALVES, A. Hematologia e macrófagos policariontes em *Colossoma*
- 26 *macropomum*, mantidos em duas densidades de estocagem, alimentados com dieta
- 27 contendo probiótico e espirulina. 2009. Tese (Doutorado em Aquicultura) –
- 28 UNESP, Jaboticabal, 2009.
- 29 HAGHIGHI, M. & ROHANI, M. S. The effects of powdered ginger
- 30 (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological
- 31 parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Medicinal Plant and*
- 32 *Herbal Therapy Research*, v. 1, p. 8 -12, 2013.

- 1 HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M. S. Impact of plant products
2 on innate and adaptative immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*,
3 v. 317, p. 1-15, 2011.
- 4 HASSANIN, M. E. S., et al. Dietary effect of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on
5 growth performance, immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and
6 disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Abbassa. Int. J. Aqua.* 7 (1), 35 - 52.
7 2014
- 8 HONCZARYK, A. & INOUE, L. A. K. A. 2009. Anesthesia in pirarucu by eugenol
9 sprays in the gills. *Ciência Rural*, 39: 577-579 (in Portuguese, with abstract in English).
- 10 HONORATO, C. A., CANEPPELE, A., MATOSO, J. C., PRADO, M. R.,
11 SIQUEIRA, M. S., SOUZA, L. R. O. Caracterização física de filés de Surubim
12 (*Pseudoplatystoma* sp.), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Pirarucu
13 (*Arapaimas gigas*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama*, v. 17, n. 4, p.237-242,
14 out./dez. 2014
- 15 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2014). Disponível em:
16 <http://ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pa>
- 17 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. “Produção
18 Pecuária Municipal, 2016”. Rio de Janeiro/RJ, v. 44, 34p. 2017
- 19 INGRAM, G. A. Substances involved in the natural resistance of fish to infection- A
20 review. *Fisheries Society of the British Isles. J. Fish Biol.* v. 16, 23-60; 1980.
- 21 INOUE, L. A. K. A.; et al Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao
22 eugenol em banhos anestésicos. 2011 *Acta Amazônica*, Manaus, 41(2): 327-332.
- 23 INOUE, L.A.K.A.; et al. Avaliação dos anestésicos 2 - phenoxyethanol e benzocaína no
24 manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). *Biodiversidade Pampeana*, v. 2.
25 p. 10 - 15, 2004.
- 26 INOUE, L. A. K. A.; MORAES, G. Óleo de Cravo: Um Anestésico Alternativo para o
27 Manejo de Peixes. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2007, 24p. (Documento 51).
- 28 IWASHITA, M. K. P, MACIEL, P. O. Princípios básicos de sanidade de peixes –
29 Capítulo 7. *Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos / editores*
30 *técnicos, Rodrigues, A. P. O. [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 215.*
- 31 JANSSEN, A. M. et al. Antimicrobial activities of some *Ocimum* species grown in
32 Rwanda. *J. Ethnopharmacol.*, v. 26, p.57–63, 1989.
- 33 JERONIMO, G. T. et al. Parasitofauna de cachara cultivado em tanque-rede no rio
34 Paraguai. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, n. 8, p. 1163-1166, 2013.

- 1 KANANI, H. G.; NOBAHAR, Z.; KAKOOLAKI, S.; JAFARIAN, H.
2 Effect of ginger and garlic-supplemented diet on growth performance,
3 some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso*
4 *huso*. Fish Physiology and Biochemistry, v. 40, p.481-490, 2014.
- 5 KORNI, F. M. M. & KHALIL, F. Effect of ginger and its nanoparticles on
6 growth performance, cognition capability, immunity and prevention of
7 motile *Aeromonas* septicaemia in *Cyprinus carpio* fingerlings.
8 Aquaculture Nutrition, p. 2017, in press.
- 9 LEONARDO, A. F. G; et al. Reabsorção dos folículos pós-ovulatórios de cachara,
10 *Pseudoplatystoma fasciatum*. 2003 In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA,
11 2003, 27 - 31 janeiro, São Paulo, 2003. CD Rom, Universidade Presbiteriana
12 Mackenzie, São Paulo
- 13 LIU, C. T.; RAGHU, R.; LIN, S. H.; WANG, S. Y.; KUO, C. H. TSENG,
14 Y. J.; SHEEN, L. Y. Metabolomics of ginger essential oils against
15 alcoholic fatty liver in mice. Journal of Agricultural and Food
16 Chemistry, v. 61, n. 46, p. 11231 - 11240, 2013.
- 17 LORENZI, H.; MATOS, F. J. Plantas medicinais no Brasil. Nova Odessa: Instituto
18 Plantarum, 2002. 544 p.
- 19 Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic
20 herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043 (2), 323-327,
21 2004.
- 22 LUNDBERG, J. G. & LITTMANN, M. W. Family Pimelodidae (Long-whiskered
23 catfishes).In: REIS, R. E.; Kullander, S. O. & Ferraris, Jr., C. J. eds. Check List of the
24 Freshwater Fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, 2003. p. 432-
25 446.
- 26 MAGNADÓTTIR, S. Innate immunity of fish (overview). Fish & Shellfish
27 Immunology , 2006; 20 (2) : 137 - 151.
- 28 MANNING, M. J. Fishes. In: TURNER, R. J. (Ed.). Immunology. Chichester: John
29 Wiley and Sons, 1994. p. 69-100.
- 30 MATOS, F. J. A. Farmácias vivas. 3. ed. ver. atual. Fortaleza: Ed.
31 Universidade Federal do Ceará, 1998. 220p
- 32 MESEGUER, J., ESTEBAN, A. M., LOPEZ-RUIZ, A., BIELEK, E. Ultrastructure of
33 nonspecific cytotoxic cells in teleosts. I. Effector-target cell binding in a marine and a

- 1 freshwater species (seabream: *Sparus aurata* L. and carp: *Cyprinus*
2 *carpio* L.). The Anat. Rec. 1994, 239:468 - 474.
- 3 MILBRADT, E.L.; OKAMOTO, A.S.; GARCIA, E.A.; SANFELICE, C.;
4 CENTENARO, L.P.; ANDREATTI FILHO, R.L. Use of organic acids and competitive
5 exclusion product as an alternative to antibiotic as a growth promoter in the raising of
6 commercial turkeys. Poultry Science, v.93, p.1855–1861, 2014.
- 7 Ministério da Pesca e Aquicultura. Produção 2014. Disponível em:
8 <http://www.mpa.gov.br/aquicultura/producao>.
- 9 MISRA, C.K.; DAS, B.K.; MUKHERJEE, S.C.; PATTNAIK, P. Effect of long term
10 administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo*
11 *rohita* fingerlings. **Aquaculture**, v.255, p.82-94, 2006.MPA - Ministério da pesca e
12 aquicultura. (2013). Boletim estatístico pesca e aquicultura. Disponível:
13 <http://bibspi.planejamento.gov.br/handle/iditem/453>
- 14 MYLONAS, C. C.; CARDINALETTI, G.; SIGELAKI, I.; POLZONETTI-MAGNI, A.
15 2005 Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the
16 aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream
17 (*Sparus aurata*) at different temperatures. Aquaculture, Amsterdam, 246: 467 - 481.
- 18 NYA, E. J.; AUSTIN, B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale*
19 Roscoe as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila*
20 infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish
21 Diseases, v. 32, p. 971 - 977, 2009.
- 22 ONAJOBI, F. D. Smooth muscle contracting lipidic soluble principles in
23 chromatographic fractions of *Ocimum gratissimum*. J. Ethnopharmacol., v. 18, p. 3 - 11,
24 1986.
- 25 ONAJOBI, F. D. Smooth muscle contracting lipidic soluble principles in
26 chromatographic fractions of *Ocimum gratissimum*. J. Ethnopharmacol., v. 18, p. 3 - 11,
27 1986.
- 28 PLYZYCZ, B.; FLORY, C. M.; GALVAN, I.; BAYNE, C. J. Leucocytes of rainbow
29 trout (*Oncorhynchus mykiss*) pronephros: cell types producing superoxide anion.
30 Developmental and Comparative Immunology, Oxford, v. 13, n. 3, p. 217-224, 1989.
- 31 PORTELLA, M. C. e FLORES-QUINTANA, C. I. 2003 Histological analysis of
32 juvenile *Pseudoplatystoma fasciatum* digestive system. In: WORLD AQUACULTURE,
33 2003, 19 - 23 Maio. Salvador, Bahia, 2003. Book of Abstract...Salvador, World
34 Aquaculture Society. p. 591

- 1 PRADO, F. D. do; HASHIMOTO, D. T.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F.;
- 2 PORTOFORESTI, F. 2012. Detection of hybrids and genetic introgression in wild
- 3 stocks of two catfish species (Siluriformes: Pimelodidae): the impact of hatcheries in
- 4 Brazil. Fisheries Research , v.125 - 126, p. 300 - 305.
- 5 QUEIROGA, C.L.; FUKAI, A.; MARSAIOLI, A.J. Composition of essential oil of
- 6 vassourá. J. Braz. Chem. Soc., v1, n.1, p.105-109, 1990.
- 7 RESENDE, et al. 1995 Biologia do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado
- 8 (*Pseudoplatystoma coruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidro-
- 9 gráfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul. Corumbá, MS: EMBRAPA –
- 10 CPAP, 1995.75 p. (EMBRAPA-CPAP. Boletim de Pesquisa, 02)
- 11 RODRIGUES, E. A. et al. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no
- 12 controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. Acta Sci. Agron., v.28, p.213-
- 13 220, 2006.
- 14 ROMAGOSA, E., et al 2000 Observações preliminares sobre o comportamento
- 15 reprodutivo das fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei,
- 16 Siluriformes, Pimelodidae) na região do Vale do Ribeira, São Paulo, em condições de
- 17 confinamento. In: INTEGRAÇÃO DA MORFOLOGIA LUSO-BRASILEIRA
- 18 COMEMORAÇÃO DOS 500 ANOS DO BRASIL, Goiânia, 2000. Anais... Goiânia, p.
- 19 224
- 20 ROYER, A. F. B.; GARCIA, R. G.; BORILLE, R.; SANTANA, M. R. DE; NUNES, K.
- 21 C. Fitoterapia aplicada à avicultura industrial. Enciclopédia Biosfera, v. 9, n. 17, p. 1466
- 22 - 1484, 2013.
- 23 SILVA, L. L., et al . Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish
- 24 (*Rhamdia quelen*). Neotropical Ichthyology, v. 11, p. 443 - 451, 2013.
- 25 SILVA, L. L., et al. Effects of anesthesia with the essential oil of
- 26 *Ocimum gratissimum* L. in parameters of fish stress. Revista Brasileira
- 27 de Plantas Mediciniais, v. 17, n. 2, p. 215-223, 2015.
- 28 SIMÕES, L. N. et al. Clove oil as an anesthetic on Nile tilapia adults. Acta Scientiarum
- 29 Animal Sciences, v.34, n.2, p.175-181, 2012.
- 30 SHOEMAKER, C.; KLESIUS, P. Streptococcal disease problems and control: a review.
- 31 Tilapia Aquaculture, [S.l.], v. 2, p. 671-680, 1997.
- 32 TAKAHASHI, J. D. B. e URBINATI, E. C. Fish Immunology. The modification and
- 33 manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. Anais da
- 34 Academia Brasileira de Ciências, 2014; 86(3)

- 1 TAKAHASHI, J. D. B. Imunoestimulante e imunidade de organismos aquáticos.
2 In: Patologia e sanidade de organismos aquáticos. CAMPOS, C . M.; LIZAMA, M. L.
3 A. P.; TAKEMOTO, R. M. Capítulo 13, 1ed. Maringá: Massoni, 2014. 342 p.: il.color.
4 TAVARES-DIAS, M. *et al.* Haematological characteristics of Brazilian teleosts. III.
5 Parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 x
6 *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) (Osteichthyes: Characidae). *Rev. Bras. Zool.*,
7 Curitiba, v. 17, p. 899 - 926, 2000 b.
8 TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão
9 Preto: Villimpress Complexo Gráfico, 2004
10 TAVECHIO, W. L. G. et al. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em
11 piscicultura. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 35, n. 2, p. 335 - 341, 2009.
12 URIBE, C., FOLCH, H., ENRIQUEZ, R., MORAN, G. Innate and adaptive
13 immunity in teleost fish: a review. *Veterinari Medicina*, 2011, 56, (10): 486–503.
14 VALLEJO, A. N.; MILLER, N. W.; CLEM, L. W. Antigen processing and presentation
15 in teleost immune responses. *Annual Review of Fish Diseases*, Oxford, v. 2, p. 73- 89,
16 1992.
17

**CAPÍTULO 2 - DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E HISTOMORFOMETRIA
INTESTINAL DE *Pseudoplatystoma reticulatum* ALIMENTADOS COM DIETAS
CONTENDO O ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale***

Artigo elaborado conforme as normas (adaptado) da revista: Boletim do Instituto de Pesca

Desempenho zootécnico e histomorfometria intestinal de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo óleo essencial de *Zingiber officinale*

Leonardo Augusto da Silva¹

¹Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Unidade de Aquidauana, Rodovia Aquidauana/UEMS km 12, Zona Rural
Caixa Postal 2579200-000, Aquidauana – MS Brasil.
augusto.nardo@terra.com.br

Resumo

O óleo essencial (OE) de gengibre *Zingiber officinale* é conhecido por conter substâncias de potencial anti-inflamatório, analgésico, anestésico, antifúngico, imunoestimulante, antimicrobiano, hipoglicemiante e promotor de crescimento. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o desempenho zootécnico e as alterações histomorfológicas no intestino médio em cacharas *Pseudoplatystoma reticulatum*, alimentados com dietas contendo OE gengibre em diferentes níveis. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, utilizando 300 juvenis de cacharas com comprimento total médio de $17,5 \pm 0,5$ cm e peso médio 25 ± 1 g, distribuídos em 20 tanques de 80 L, alimentados duas vezes ao dia com dietas contendo ou não OE de gengibre nos níveis: 0,0%, 0,5%, 1% e, 1,5% em cinco repetições. Após 61 dias do fornecimento das dietas, foi realizada a biometria final para determinação do desempenho zootécnico e a colheita de amostras do intestino para histomorfometria. Não foi observada diferença entre os grupos tratados, em análise de variância ($P > 0,05$). Os níveis de OE de gengibre não têm efeito nas variáveis de desempenho zootécnico e de histomorfometria do intestino de cacharas.

Palavras-chave: cachara, gengibre, promotor de crescimento.

Abstract

It is known that the ginger essential oil (EO), *Zingiber officinale*, contain substances of potential anti-inflammatory, analgesic, anesthetic, antifungal, immunostimulant, antimicrobial, hypoglycemic, and growth promoter. This work was conducted to evaluate the performance and the histomorphological changes in the middle intestine in *Pseudoplatystoma reticulatum* striped sorubim, fed with diets of EO ginger at different levels. The experimental design was completely randomized, using three hundred juveniles of Cacharas with average total length and weight of 17.5 ± 0.5 cm and 25 ± 1 g, respectively. Distributed in 20 tanks (80 L), and fed twice times daily with diets containing or not EO ginger at the levels: 0.0%, 0.5%, 1% and, 1.5% in five replicates. After nine weeks of diet delivery, the final biometry was performed to determine the performance, and intestinal samples were collected for histomorphometry. The experiment did not have a difference between groups in the analysis of variance ($p > 0.05$). Ginger EO levels haven't effect on the variables of performance and histomorphometry of the intestine of striped sorubim.

Keywords: ginger, growth promoter, striped sorubim.

INTRODUÇÃO

O cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* (EIGENMANN & EIGENMANN, 1889) é um peixe carnívoro de água doce com hábitos noturnos (BAUMGARTNER et al., 2012) e é uma espécie atrativa tanto para pesca esportiva quanto para peixe ornamental (CAMPOS 2010). Possui destaque comercial por possuir carne de cor clara, macia, saborosa e sem espinhos em formatos de “Y” (HONORATO, 2014). Deste modo, com o crescente interesse pelo cachara, são necessários estudos que apontem melhora nas respostas zootécnicas.

A inclusão de aditivos como os óleos essenciais (OEs), os quais podem ser extraídos de folhas, flores, caules, raiz e sementes de plantas (BIZZO et al. 2009), na dieta dos animais pode melhorar o desempenho sem interferir na qualidade e desenvolvimento dos peixes (BRESSALAU 2009; GONÇALVES 2009, VALLADÃO et al., 2017). O gengibre (*Zingiber officinale*) é uma espécie produtora de rizomas e contém em seu OE o citral, cineol, borneol e os sesquiterpenos zingibereno e bisaboleno, com propriedades imunoestimulantes, anti-inflamatórias, analgésicas, antimicrobianas e hipoglicemiantes (LORENZI & MATOS, 2002).

Os efeitos de dietas contendo OEs nas variáveis histomorfométricas do intestino de peixes foram observados por Valadão et al., (2017), no aumento da altura de vilos após 60 dias de adição 250 mg por kg do OE de *Melaleuca alternifolia* em dietas para *Oreochromis niloticus* e o aumento no número de dobras intestinais em *Rhamdia quelen* que foram alimentados com 1,0 e 2,0 mL OE de *Aloysia triphylla* por kg de dieta (ZEPPEFELD et al., 2016). A histomorfometria intestinal pode ser uma ferramenta de estudo para descrição do desempenho dos animais, tornando possível assegurar a quantidade e o tipo de aditivo a ser incorporado na dieta dos peixes.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o desempenho zootécnico e as alterações histomorfométricas no intestino médio em *Pseudoplatystoma reticulatum*, alimentados com dietas contendo OE *Zingiber officinale* em diferentes níveis.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações, animais e aclimação

O experimento foi certificado pelo comitê de ética no uso animais da UEMS (protocolo 003/2018) e foi realizado no laboratório de sanidade de peixes, utilizando 300 juvenis de cachara da mesma família com comprimento total médio de $17,5 \pm 0,5$ cm e peso médio $25,0 \pm 1,0$ g, já treinados para receber alimentação seca. Os juvenis, oriundos de uma piscicultura comercial, localizada em Terenos, MS, foram aclimatados durante período de 15 dias, distribuídos em 20 tanques com volume útil de 80 litros de água com fluxo e aeração contínua, e baixa luminosidade. Durante este período os juvenis foram alimentados com a mesma ração comercial utilizada na piscicultura de origem, duas vezes ao dia, às 8:00 e 16:00 horas, até a saciedade. Após período de aclimação, foi realizado jejum de um dia para a biometria e início do fornecimento das dietas contendo OE de gengibre.

Delineamento, óleos essenciais e fornecimento das dietas

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, cada um com cinco repetições.

O OE foi adquirido da extração por hidrodestilação com aparelho Clevenger dos rizomas de gengibre e a sua composição química (Tabela 1) foi determinada por cromatografia gasosa e espectrofotômetro de massa, realizado no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoquímica da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Brasil.

Tabela 1. Composição química do OE de *Zingiber officinale*.

Pico	Constituintes	Teor (%)
1	2-heptanol	0,6
2	Triciclano	0,2
3	α -pineno	3,2
4	Canfeno	8,5
5	Sabineno	0,2
6	β -pineno	0,4
7	6-metil-5-hepten-2-ona	1,1
8	Mirceno	2,4
9	α -felandreno	0,5
10	β -felandreno	9,9
11	1,8-cineol	4,4
12	terpinoleno	0,3
13	Linalol	1
14	Citronelol	0,2
15	Borneol	0,9
16	α -terpineol	0,7
17	Citronelol	0,9
19	Geraniol	0,8
20	Citral	16,0
21	α -copaeno	0,4
22	<i>allo</i> -aromadendreno	0,7
23	γ -gurjuneno	0,4
25	<i>ar</i> -curcumeno	3,8
26	β -eudesmol	0,1
27	α -zingibereno	20,4
28	(E,E)- α -farneseno	0,3
30	7-epi- α -selineno	0,2
31	β -sesquifelandreno	7,2
32	(E)- γ -bisaboleno	0,2
33	Elemol	0,2
34	Germacreno	12,5
35	n.i.	1,3

1 n.i. = não identificado.

A inclusão de OE de gengibre na ração foi por meio de diluição em álcool de cereais e aspersão com recobrimento dos grânulos, conforme Dairiki et al. (2013). O OE de gengibre foi incluído na dieta de juvenis de cachara em níveis de 0,0, 0,5, 1,0 e 1,5%, na ração comercial peixes com granulometria de 5 mm e 36 % de proteína bruta, fornecidas às 8:00 e 16:00 horas até a saciedade aparente durante 61 dias.

Diariamente após o fornecimento das dietas foram mensuradas o pH $7,84 \pm 0,54$, oxigênio dissolvido: $7,02 \pm 0,37 \text{ mg L}^{-1}$ e temperatura da água $25,13 \pm 2,07^\circ \text{C}$, por meio de peagâmetro e oxímetro HANNA. Uma vez por semana foram mensurados os níveis de amônia e nitrito por kits colorimétricos Labcon Test, e as unidades experimentais foram sifonadas para a retirada de fezes e resto de ração.

No final do período de fornecimento das dietas os peixes foram submetidos a jejum de 24 horas e posteriormente foi realizada a biometria final para determinação do desempenho zootécnico e a colheita de amostras do intestino para histomorfometria.

Desempenho Zootécnico

O desempenho zootécnico dos juvenis foi avaliado por meio das biometrias (inicial e final) realizadas para obtenção de dados de peso (g) e comprimento (cm). Os índices zootécnicos avaliados foram ganho em peso (g), ganho em comprimento total (cm), consumo de ração (g), consumo médio de ração (g); conversão alimentar; taxa de crescimento específico (%), taxa de sobrevivência (%), taxa de eficiência protéica (%).

Histomorfometria intestinal

Dez peixes de cada tratamento foram amostrados e eutanasiados por aprofundamento do plano anestésico em solução de eugenol (100 mg L^{-1}), para a colheita de amostras do intestino. Foi realizada uma incisão na cavidade abdominal dos peixes para retirada de 3 cm de comprimento do intestino médio, para isso, a porção coletada foi do 4º ao 6º cm do intestino. As amostras foram fixadas em solução formol (10%) tamponado (pH 7,2) por seis horas. Posteriormente, foram transferidas para solução de álcool (70%) até o momento do processamento.

As amostras de intestino foram desidratadas em séries crescentes de álcoois (70 a 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em blocos de parafina. Os cortes histológicos foram realizados na espessura de $5 \mu\text{m}$ e confeccionadas duas lâminas histológicas por amostra contendo quatro cortes cada e coradas em bateria de hematoxilina e eosina. Imagens das lâminas histológicas foram capturadas com câmera

digital acoplada a microscópio ótico na objetiva de 10x. Com o software Image - Pro Plus 2.0, 250 vilosidades por tratamento foram selecionadas para mensurar altura total do vilo (μm), altura do vilo (μm), largura do vilo (μm), espessura do vilo (μm), área do vilo (μm^2), densidade de células caliciformes ($\text{cel}/10.000 \mu\text{m}^2$).

Estatística

Os dados foram submetidos à homogeneidade de variância (Bartlett) e de normalidade (Shapiro-Wilk) e análise de variância ($P < 0,05$), utilizando o programa RStudio 1.0.153.

RESULTADOS

As dietas contendo OE de gengibre nos diferentes níveis não apresentaram efeito ($P > 0,05$) sobre as variáveis ganho em peso, ganho em comprimento total, consumo de ração, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, taxa de sobrevivência e taxa de eficiência protéica (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho zootécnico (média $\pm$ erro padrão) de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo OE de gengibre durante 61 dias

Variáveis de Desempenho Zootécnico	Níveis de OE de gengibre			
	Controle	0,5%	1%	1,5%
PI (g)	25,23 $\pm$ 0,20	24,02 $\pm$ 0,31	24,79 $\pm$ 0,30	24,69 $\pm$ 0,20
CI (cm)	17,26 $\pm$ 0,18	17,13 $\pm$ 0,22	16,97 $\pm$ 0,16	17,35 $\pm$ 0,12
GP (g)	12,68 $\pm$ 1,30	13,18 $\pm$ 1,89	13,49 $\pm$ 0,70	13,62 $\pm$ 0,60
GC (cm)	2,04 $\pm$ 0,26	2,22 $\pm$ 0,20	2,16 $\pm$ 0,39	2,03 $\pm$ 0,22
CR (g)	26,24 $\pm$ 0,56	26,35 $\pm$ 0,37	25,86 $\pm$ 0,67	26,55 $\pm$ 0,53
CA	2,20 $\pm$ 0,5	1,96 $\pm$ 0,14	2,19 $\pm$ 0,16	2,04 $\pm$ 0,11
TCE (%)	2,75 $\pm$ 0,42	3 $\pm$ 0,22	2,93 $\pm$ 0,35	2,71 $\pm$ 0,29
TS (%)	92 $\pm$ 2,49	88 $\pm$ 6,11	89,33 $\pm$ 4,52	88 $\pm$ 4,90
TEP (%)	9,45 $\pm$ 0,20	9,49 $\pm$ 0,13	9,31 $\pm$ 0,24	9,56 $\pm$ 0,19

PI = peso inicial, CI = comprimento inicial, GP = ganho de peso, GC = ganho de comprimento, CR = consumo de ração, CA = conversão alimentar, TCE = taxa de crescimento específico, TS = sobrevivência e TEP = taxa de eficiência protéica.

Os níveis de OE de gengibre não influenciaram ($P > 0,05$) nas variáveis histomorfométricas de intestino de cacharas (Tabela 3).

Tabela 3. Variáveis histomorfométricas (média $\pm$ erro padrão) de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo OE de gengibre durante 61 dias

Variáveis histomorfométricas de intestino	Níveis de OE de gengibre			
	Controle	0,5%	1%	1,5%
ATV (μm)	110,80 $\pm$ 2,52	108,95 $\pm$ 3,68	109,44 $\pm$ 3,41	116,57 $\pm$ 3,62
AV (μm)	91,80 $\pm$ 2,22	93,38 $\pm$ 2,95	91,74 $\pm$ 2,73	95,47 $\pm$ 3,86
LV (μm)	15,69 $\pm$ 0,88	16,51 $\pm$ 0,59	14,21 $\pm$ 0,68	15,20 $\pm$ 0,94
EV (μm)	7,43 $\pm$ 0,43	8,13 $\pm$ 0,43	6,91 $\pm$ 0,40	6,61 $\pm$ 0,42
AV (μm^2)	1396,06 $\pm$ 76,09	1373,56 $\pm$ 82,46	1291,81 $\pm$ 75,45	1222,76 $\pm$ 61,01
CC (cel/10000 μm^2)	2,76 $\pm$ 0,28	2,40 $\pm$ 0,24	2,12 $\pm$ 0,20	3,52 $\pm$ 0,30

Altura total do vilão (ATV), Altura do vilão (TV), Largura do vilão (LV), Espessura do vilão (EV), Área do vilão (AV), Densidade de células caliciformes em 10000 μm^2 (CC).

DISCUSSÃO

O OE utilizado foi adquirido utilizando plantas frescas pelo método onde há conservação dos compostos químicos. Os principais componentes encontrados na composição do OE de gengibre foram os α -zingibereno, citral e germacreno que são utilizados em tratamentos medicinais, repelentes inseticidas, como componente aromático em perfumarias e sedativos. Na composição do mesmo OE, Figueredo (2017) encontrou como componente principal o citral (geranial), um monoterpene. Portanto, a composição dos OEs pode variar em função das espécies de plantas utilizadas, do local onde a planta foi cultivada, da época de colheita e do método de extração.

Neste experimento, o OE de gengibre foi adicionado na dieta e não mostrou efeito para o desempenho zootécnico, uma vez que os principais compostos encontrados na composição desse OE estão relacionados, principalmente, com tratamentos medicinais. Entretanto, estudos mostram o efeito desta planta como promotor de crescimento, quando acrescidas em pó na dieta. A melhora no crescimento, conversão alimentar, eficiência proteica, além de propriedades imunoestimulantes, foram observadas após a adição do pó de gengibre na dieta de *Oncorhynchus mykiss* por 14 dias (NYA & AUSTIN, 2009). Melhorias no crescimento também foram relatadas para *Cyprinus carpio* alimentada com dietas contendo gengibre em pó durante 30 dias (KORNI & KHALIL, 2017). Após 10 semanas da dieta contendo o pó de gengibre em *Oreochromis niloticus* proporcionou maior ganho de peso, taxa de crescimento e melhor conversão alimentar (HASSANIN et al., 2014).

A ausência do efeito das dietas fornecidas por 61 dias nas variáveis de histomorfometria intestinal representa que não houve alterações quanto às áreas de absorção de nutrientes. Ao trabalhar 1 mL kg⁻¹ do OE de gengibre e quantidades de amido na dieta de *Oreochromis niloticus* durante 53 dias, Cardoso (2018) encontrou efeito na mucosa intestinal, mas não no desempenho zootécnico. Em dietas contendo OE de gengibre ou OE de *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) para *Oreochromis niloticus* por 55 dias não se obteve efeito nos parâmetros histomorfométricos do intestino, mas houve na conversão alimentar da dieta com 1,5% kg⁻¹ de OE de gengibre, e maior peso final no grupo alimentado com 0,5% kg⁻¹ de OE de alfavaca (FIGUEREDO et al., 2017).

Apesar de serem poucos os trabalhos na literatura utilizando gengibre na dieta, pode haver efeito em função de doses, espécie animal, tempo de fornecimento, forma de inclusão e estado sanitário do animal.

CONCLUSÃO

Os níveis de OE de gengibre não têm efeito nas variáveis de desempenho zootécnico e de histomorfometria do intestino de cacharas.

REFERÊNCIAS

- BAUMGARTNER, G., et al. Peixes do baixo Iguaçu [online]. Maringá: Eduem, pag. 101- 146. 2012
- BIZZO, H., et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova, São Paulo. v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BRESSLAU, S. Aspectos regulatórios e uso prudente dos aditivos antimicrobianos. In: VIII Seminário de Aves e Suínos, 2009, São Paulo. Anais. São Paulo: Aves, 2009.
- BUITRAGO-SUÁREZ, U. A., BURR, B. M., Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. *Zootaxa*, V.1512, p.1-38, 2007.
- CARDOSO, A. J. S. Eficiência de utilização do amido de milho pela tilápia do nilo alimentada com diferentes níveis de óleo de gengibre, *Zingiber officinale*. 2018. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.
- CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Spix; Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In. Bernardo

- Baldisserotto e Levy de Carvalho Gomes (Orgs.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2010. p. 335 - 361.
- DAIRIKI, J. K. et al. Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes. Embrapa Amazônia Ocidental-Circular Técnica (INFOTECA - E), 2013.
- FIGUEREDO, A. B., et al. Suplementação com óleos essenciais de manjerição (*Ocimum gratissimum* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) na dieta de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.). 2017.
- GONÇALVES, A. Hematologia e macrófagos policariontes em *Colossoma macropomum*, mantidos em duas densidades de estocagem, alimentados com dieta contendo probiótico e espirulina. 2009. Tese (Doutorado em Aquicultura) - UNESP, Jaboticabal, 2009.
- HASSANIN, M., et al. Dietary effect of ginger (*Zingiber officinale roscoe*) on growth performance, immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Aeromonas hydrophila*. Abbassa Int. J. Aqua, v. 7, p. 35-52, 2014.
- HONORATO, C. A., et al. Caracterização física de filés de Surubim (*Pseudoplatystoma* sp.), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Pirarucu (*Arapaimas gigas*). Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama, v. 17, n. 4, p. 237-242, out. /dez. 2014
- KORNI, F. M. M.; KHALIL, F. Effect of ginger and its nanoparticles on growth performance, cognition capability, immunity and prevention of motile *Aeromonas septicaemia* in *Cyprinus carpio fingerlings*. Aquaculture Nutrition, v. 23, n. 6, p. 1492-1499, 2017.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. Plantas medicinais no Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.
- Nya, E.J.; Austin, B., 2009 a. 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 32, 971 - 977.
- Valladão, G. M., et al. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. Aquaculture Research, 48 (11), 5640 - 5649. 2017.
- Zeppenfeld, C. C., et al. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Aquaculture Nutrition, 22(4), 933 - 940. 2016.

CAPÍTULO 3 - EFEITO ZOOTÉCNICO, IMUNOLÓGICO, HISTOMORFOMÉTRICO E RESPOSTA AO DESAFIO POR *Aeromonas hydrophila* EM *Pseudoplatystoma reticulatum* ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum gratissimum*

Artigo elaborado conforme as normas (adaptado) da revista: Boletim do Instituto de Pesca

Efeito zootécnico, imunológico, histomorfométrico e resposta ao desafio por *Aeromonas hydrophila* em *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

Leonardo Augusto da Silva ¹

¹ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós - Graduação em Zootecnia, Unidade de Aquidauana, Rodovia Aquidauana / UEMS km 12, Zona Rural Caixa Postal 2579200-000, Aquidauana – MS Brasil.
augusto.nardo@terra.com.br

Resumo

O óleo essencial (OE) de alfavaca-cravo *Ocimum gratissimum* é conhecido por conter substâncias de potencial imunoestimulante, antimicrobiano, analgésico, anestésico, antifúngico e por ser promotor de crescimento. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de dietas contendo OE de alfavaca-cravo sobre o desempenho zootécnico, hematologia, histomorfometria do intestino e desafio bacteriano com *Aeromonas hydrophila* em cacharas *Pseudoplatystoma reticulatum*. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, utilizando 300 juvenis de cacharas com comprimento total médio de $14,98 \pm 0,28$ cm e peso médio $18,84 \pm 1,22$ g, distribuídos em 20 tanques de 80L, alimentados duas vezes ao dia com dietas contendo ou não OE de alfavaca-cravo nos níveis: 0,0%, 0,5%, 1,0% e, 1,5% em cinco repetições. Após 45 dias do fornecimento das dietas, foi realizada a biometria final, colheita sanguínea, colheita de amostras do intestino médio para histomorfometria e desafio por *Aeromonas hydrophila*. Foi observado efeito no ganho em peso, volume corpuscular médio, quantidade de trombócitos e neutrófilos, atividade respiratória dos

leucócitos e altura do vilo ($P < 0,05$). A resposta da taxa da mortalidade cumulativa foi menor para os peixes que receberam dietas com OE de alfavaca-cravo. Assim, recomenda-se o uso do OE de alfavaca-cravo em dietas para cacharas no nível de 1,0% durante 45 dias.

Palavras-chave: alfavaca-cravo, cachara, imunoestimulante, promotor de crescimento.

Abstract

The essential oil (EO) of alfavaca-clove *Ocimum gratissimum* is known to contain substances of potential immunostimulant, antimicrobial, analgesic, anesthetic, antifungal, and growth promoter. This work was conducted to evaluate the effects of diets containing alfavaca-clove EO on performance, plasma glucose, leukocyte respiratory activity, hematology, intestinal histomorphometry, and bacterial challenge with *Aeromonas hydrophila* in striped sorubim *Pseudoplatystoma reticulatum*. The experimental design was completely randomized, using three hundred juveniles of striped sorubim with average total length and weight of 14.98 ± 0.28 cm and 18.84 ± 1.22 g, respectively. Fish were distributed in 20 tanks (80 L), fed twice times in the day with diets containing or not alfalfa-clove EO at the levels: 0.0%, 0.5%, 1.0% and, 1.5% in five replicates. After 45 days of diet delivery, the final biometry, blood collection, mid intestinal bowel sampling, and *Aeromonas hydrophila* challenge were performed. Was observed an effect on weight gain, mean corpuscular volume, amount of thrombotic and neutrophils, the respiratory activity of leukocytes, and height of the villus ($P < 0.05$). The cumulative mortality rate response was lower for fish fed with alfavaca-clove EO diets. Thus, it is recommended the use of the alfalfa-clove OE in diets for striped sorubim at the level of up to 1.0% kg^{-1} for 45 days.

Keywords: alfavaca-clove, immunostimulant, growth promoter, striped sorubim.

INTRODUÇÃO

O cultivo de peixes vem assumindo importância cada vez maior no panorama do abastecimento alimentar (REBOUÇAS et al., 2014). Conforme aumenta a produção, também intensifica os manejos, que podem ser prejudiciais à produtividade. Segundo Brito et al (2019) devido a intensificação do sistemas de produção é possível que ocorra o surgimento de doenças ocasionadas pelo estresse, levando a prejuízos econômicos

aos produtores. Para redução dos prejuízos na produção, a utilização de aditivos zootécnicos na dieta pode ser uma alternativa para aumentar a eficiência produtiva (PALERMO, 2006).

Os Aditivos são substâncias que não fornecem valor nutricional, mas podem cumprir funções específicas como promotores de crescimento, alteração da textura ou cor dos alimentos, sabores, pigmentos e são adicionados à formulação em baixos níveis de inclusão (RAVINDRAN, 2010). O interesse em pesquisas com substâncias oriundas de plantas como opção ao uso dos antibióticos e quimioterápicos na piscicultura apresenta-se em crescente pelos resultados frente à sanidade (TAVECHIO et al., 2009).

Neste sentido, o uso aditivos fitogênicos estão disponíveis na forma de extratos e óleos essenciais possuindo diversos compostos ativos como fenóis, polifenóis, alcalóides, quinonas, terpenóides, lectinas e polipeptídeos, estabelecendo-se como uma alternativa eficaz frente aos aditivos convencionais (HARIKRISHNAN et al., 2011).

Os óleos essenciais podem ser extraídos de folhas, flores, caules, raiz e sementes (BIZZO et al. 2009). A alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) é uma planta das regiões tropicais, tendo em sua composição o eugenol, que possui ação anestésica, antimicrobiana, analgésica, antifúngica e imunoestimulante. (ROUBACH et al., 2005; ONAJOBI, 1986; JANSSEN et al., 1989; MATOS, 1998; RODRIGUES et al., 2006; FIGUEREDO et al., 2017). Entretanto, os efeitos do uso do óleo essencial de alfavaca-cravo na dieta de cacharas é desconhecido.

Espécie atrativa tanto para pesca esportiva quanto para a atividade ornamental (CAMPOS 2010), além do seu potencial zootécnico e excelentes características organolépticas, por possuir carne de cor clara, macia, saborosa e sem espinhos em formatos de “Y” (HONORATO, 2014), o cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* (EIGENMANN & EIGENMANN, 1889) é uma espécie carnívora de água doce (BAUMGARTNER et al., 2012) de grande interesse para a piscicultura comercial.

Com este trabalho o objetivo foi avaliar os efeitos de dietas contendo OE de alfavaca-cravo no desempenho zootécnico, glicose plasmática, atividade respiratória de leucócitos, hematologia, histomorfometria do intestino e desafio bacteriano com *Aeromonas hydrophila* em cacharas.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações, animais e aclimação

O experimento foi realizado no laboratório de sanidade de peixes da UEMS e certificado pelo comitê de ética no uso animais da referida instituição (protocolo 003/2018). Foram utilizados 300 juvenis de cachara da mesma família com comprimento total médio de $14,98 \pm 0,28$ cm e peso médio $18,84 \pm 1,22$ g, já treinados para receber alimentação seca. Os peixes oriundos de piscicultura comercial, foram aclimatados durante período de 15 dias, distribuídos em 20 tanques com volume útil de 80 litros de água com fluxo e aeração contínua, e baixa luminosidade. Nesse período os juvenis foram alimentados com a mesma ração comercial utilizada na piscicultura de origem, duas vezes ao dia, às 7:00 e 16:00 horas até que apresentassem saciedade. Após período de aclimação, foi realizado jejum de um dia para a biometria e início do fornecimento das dietas contendo OE de alfavaca-cravo.

Delineamento, óleos essenciais e fornecimento das dietas

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, cada um com cinco repetições.

O OE foi adquirido da extração por hidrodestilação com aparelho Clevenger das folhas de plantas adultas de alfavaca-cravo e a sua composição química (Tabela 1), foi determinada por cromatografia gasosa e espectrofotômetro de massa, realizado no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoquímica da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Brasil.

Tabela 1. Composição química do OE de *Ocimum gratissimum*.

Pico	Constituintes	Teor (%)
1	α -pineno	1,4
2	Sabineno	0,8
3	β -pineno	4,2
4	Mirceno	0,8
5	Limoneno	1,7
6	1,8-cineol	39,5
7	(Z)- β -Ocimeno	0,9
8	γ -terpineno	0,3
9	Linalol	1,9
10	δ -terpineol	0,7
11	Terpineol-4-ol	0,6
12	α -terpineol	2
13	Eugenol	14,7
14	α -copaeno	0,5
15	β -bourboneno	0,6
16	β -elemeno	0,4
17	(E)-cariofileno	5,9
18	α -humuleno	1,1
19	<i>allo</i> -aromadendreno	0,3
20	Germacreno	0,7
21	β -selineno	12,6
22	α -selineno	3,4
23	7-epi- α -selineno	1
24	Espatulenol	3,4
25	Óxido de cariofileno	3,4
26	Epóxido de humuleno II	0,4

A inclusão do OE de alfavaca-cravo na ração foi por meio de diluição em álcool de cereais e aspersão com recobrimento dos grânulos, conforme Dairiki et al. (2013), em níveis de 0,0 0,5, 1,0 e 1,5% na ração comercial para peixes carnívoros com granulometria de 4-6 mm e composição proximal: 400 g kg⁻¹ de proteína bruta, 120 g kg⁻¹ de umidade, 75 g kg⁻¹ de extrato etéreo, 130g kg⁻¹ matéria mineral e 50 g kg⁻¹ de fibra bruta. O fornecimento da dieta foram realizados às 7:00 e 16:00 horas até a saciedade aparente durante 45 dias.

Diariamente, após o fornecimento das dietas foram mensuradas o pH 8,01 $\pm$ 0,38, oxigênio dissolvido 7,22 $\pm$ 0,46 mg L⁻¹ e temperatura da água 26,29 $\pm$ 1,07 ° C, por meio de peagâmetro e oxímetro HANNA. Uma vez por semana foram mensurados os

níveis de amônia e nitrito por meio de kits colorimétricos Labcon Test, e as unidades experimentais foram sifonadas para a retirada de fezes e resto de ração. Os valores dos parâmetros de qualidade da água foram adequados para as espécies de acordo com Rebouças (2014).

No final do período de fornecimento das dietas, os peixes foram submetidos a jejum de 24 horas, e posteriormente anestesiados em eugenol (50mg L^{-1}) para realizar biometria final, colheita sanguínea, colheita do intestino e estresse seguido do desafio bacteriano.

Desempenho Zootécnico

O desempenho zootécnico dos juvenis foi avaliado por meio das biometrias (inicial e final) realizadas para obtenção de dados de peso (g) e comprimento (cm). Os índices zootécnicos avaliados foram ganho em peso (g), ganho em comprimento (cm), consumo de ração (g), conversão alimentar; taxa de crescimento específico (%) / dia e taxa de eficiência proteica (%).

Glicose plasmática, atividade respiratória de leucócitos, hematologia

O sangue foi colhido por punção vaso caudal, utilizando seringas e agulhas diferentes, em função do parâmetro a ser analisado. Para a colheita sanguínea que determina a concentração de glicose plasmática, foram utilizadas seringas e agulhas descartáveis banhadas em antiglicolítico (GLISTAB) avaliada a partir de kit comercial colorimétrico LabTest®.

Em relação à análise imunológica foi utilizada seringas e agulhas banhadas com heparina e determinada a análise da atividade respiratória dos leucócitos segundo Biller (2008). Foram determinadas as espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas pelo burst respiratório por meio de ensaio colorimétrico baseado na redução do corante nitroblue tetrazolium (NBT), que dá origem a precipitados de material insolúvel com coloração azul escuro no interior do fagócito, denominados grânulos de formazan. Para determinar a quantidade do precipitado, 50 μL de sangue heparinizado foi adicionado a 50 μL de NBT, esta mistura foi homogeneizada e incubada por 30 min a temperatura ambiente no escuro. Após o período de incubação, 50 μL da mistura foi diluída em 1 ml de N-dimetil formamida (DMF) e centrifugada a 3000 g durante 5 minutos. A densidade óptica da solução foi determinada por espectrofotometria em comprimento de onda de 540 nm.

Foram utilizadas seringas e agulhas descartáveis banhadas em EDTA 3% para as variáveis hematológicas: porcentagem de hematócrito pelo método de microhematócrito de Goldenfarb et al. (1971), hemoglobina pelo método de cianometria hemoglobina de Collier (1944) e contagem do número de eritrócitos - realizado em câmara de Neubauer utilizando a diluição de 1:200 em solução de formol-citrato. Em relação aos índices hematimétricos foram calculados volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média, de acordo o indicado por Wintrobe (1934). Além disso, foram confeccionadas extensões sanguíneas em duplicata de cada animal, secas ao ar e coradas pancromicamente com May Grunwald-Giemsa-Wright, segundo Tavares-Dias & Moraes (2004) para realização da contagem total de eritrócitos, trombócitos e leucócitos, e contagem diferencial de leucócitos.

Histomorfometria intestinal

Dez peixes de cada tratamento foram amostrados e eutanasiados por aprofundamento do plano anestésico em solução de eugenol (100 mg L⁻¹), para a colheita de amostras do intestino. Foi realizada uma incisão na cavidade abdominal dos peixes para retirada de 3 cm de comprimento do intestino médio, para isso, a porção coletada foi do 4º ao 6º cm do intestino. As amostras foram fixadas em solução formol (10%) tamponado (pH 7,2) por 24 horas que posteriormente foram transferidas para solução de álcool (70%) até o momento do processamento.

As amostras de intestino foram desidratadas em séries crescentes de álcoois (70 a 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em blocos de parafina. Os cortes histológicos foram realizados na espessura de 5 µm e confeccionadas duas lâminas histológicas por amostra contendo quatro cortes cada e coradas em bateria de hematoxilina e eosina. As imagens das lâminas histológicas foram capturadas com câmera digital acoplada ao microscópio ótico na objetiva de 10x. Com o software Image-Pro Plus 2.0. Por tratamento foram selecionadas 200 vilosidades para mensurar altura do vilo (µm), largura do vilo (µm) e área do vilo (µm²).

As medidas foram aferidas da seguinte maneira: altura dos vilos (µm), da base até seu ápice; largura do vilo (µm), de uma lateral a outra na região central do vilo e; área do vilo (µm²), obtido com as medidas do perímetro da vilosidade com as reentrâncias, representado na região basal até do ápice do vilo.

*Desafio com *Aeromonas hydrophila* e avaliação de mortalidade*

As cepas da *Aeromonas hydrophila* foram provenientes do Laboratório de Parasitologia e Microbiologia dos Organismos Aquáticos, Jaboticabal, SP, Brasil, isolada de *Pseudoplatystoma* spp. Já em laboratório de Sanidade de Peixes, em estufa bacteriológica as cepas foram cultivadas em meio de cultivo líquido Brain Heart Infusion (BHI) por 48 horas, reisoladas e diluídas em PBS até a dose letal 50% ($0,9 \times 10^6$ UFC mL⁻¹), correspondente à testes com a mesma bactéria em peixes do mesmo lote e que não foram utilizados neste experimento.

Após a alimentação de 45 dias, 15 peixes de cada tratamento, foram estressados por exposição ao ar durante 3 minutos e por meio de injeção intraperitoneal receberam inóculo de *Aeromonas hydrophila*. Os animais amostrados foram separados por tratamento para observação de mortalidade cumulativa, e ocorrência de sinais clínicos durante 10 dias.

Análise Estatística

Os dados foram submetidos à normalidade (Shapiro-Wilk), os valores das variáveis da histomorfometria do intestino foram transformados em log (10) e as médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa RStudio 1.0.153.

RESULTADOS

Desempenho zootécnico

As dietas contendo OE de alfavaca-cravo nos diferentes níveis apresentaram efeito sobre a variável ganho em peso ($P < 0,05$), porém não foi significativo para ganho em comprimento, consumo de ração, conversão alimentar, taxa de crescimento específico e taxa de eficiência protéica (Tabela 2).

Tabela 2. Valor médio e erro padrão do desempenho zootécnico de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.

Variáveis de Desempenho Zootécnico	Níveis de OE de alfavaca-cravo			
	Controle	0,5%	1%	1,5%
PI (g)	18,00 ± 0,57	19,25 ± 0,40	18,98 ± 0,63	19,12 ± 0,52
CI (g)	14,96 ± 0,13	14,88 ± 0,13	15,06 ± 0,15	15,00 ± 11
GP (g)	20,67 ± 0,90 ^b	21,33 ± 0,71 ^{ab}	24,72 ± 0,86 ^a	21,37 ± 0,87 ^{ab}
CA	1,42 ± 0,06	1,40 ± 0,07	1,24 ± 0,01	1,44 ± 0,12
TCE (%) / dia	7,93 ± 0,22	8,42 ± 0,48	8,21 ± 0,41	8,19 ± 0,24
TEP (%)	11,72 ± 0,21	11,95 ± 0,48	12,26 ± 0,40	12,27 ± 0,68

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$). PI = peso inicial, CI = comprimento inicial, GP = ganho de peso, CA = conversão alimentar, TCE = taxa de crescimento específico e TEP = taxa de eficiência protéica.

Glicose plasmática, atividade respiratória de leucócitos e hematologia

Não houve efeito dos níveis na glicose plasmática ($P > 0,05$). Referente à resposta imunológica adição do OE na dieta aumentou a atividade respiratória dos leucócitos ($P < 0,05$). Nas variáveis do hemograma, foi observado aumento no volume corpuscular médio dos animais alimentados com dietas de 0,5% de OE de alfavaca-cravo e o aumento na quantidade de trombócitos em todos os juvenis que receberam o aditivo na dieta ($P < 0,05$). As variáveis de hemoglobina, número de eritrócitos, hematócrito, concentração de hemoglobina corpuscular média e leucócitos não diferiram entre as concentrações testadas ($P > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Valor médio e erro padrão de variáveis hematológicas, plasmática e imunológica de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.

Variáveis do Hemograma	Níveis de OE de alfavaca-cravo			
	Controle	0,5%	1%	1,5%
Gls (g dL ⁻¹)	38,24 ± 2,59	40,00 ± 4,31	36,30 ± 3,24	39,92 ± 8,88
ARL	0,29±0,01 ^b	0,31±0,01 ^{ab}	0,33±0,01 ^{ab}	0,36±0,01 ^a
Hb (g dL ⁻¹)	8,65±0,97	7,72±1,38	7,47±0,53	5,74±1,25
Er (x10 ⁶ µL ⁻¹)	1,23 ± 0,07	0,94 ± 0,08	1,01 ± 0,10	1,33 ± 0,14
Htc (%)	15,40 ± 2,73	20,40 ± 0,68	18,40 ± 2,25	19,20 ± 2,50
Vcm (fL ⁻¹)	121,24 ± 17,96 ^b	224,35 ± 26,25 ^a	180,63 ± 13,99 ^{ab}	149,83 ± 23,58 ^{ab}
Chcm (g dL ⁻¹)	48,87 ± 6,37	38,14 ± 7,07	44,03 ± 7,51	41,13 ± 4,55

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,05). Gls = Glicose plasmática, ARL = Atividade respiratória de leucócitos, Hb = Hemoglobina, Er = Número de eritrócitos, Htc = Hematócrito, VCM = Volume corpuscular médio e CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média.

Foi observado redução no número de neutrófilos dos juvenis alimentados com maior nível de OE de alfavaca-cravo (P<0,05). Os dados referentes à contagem diferencial de leucócitos estão na Tabela 4.

Tabela 4. Contagem diferencial de leucócitos, trombócitos e total de leucócitos (média e erro padrão) de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.

Leucócitos	Níveis de OE de alfavaca-cravo			
	Controle	0,5%	1%	1,5%
Lf	82,00 ± 0,67	81,00 ± 0,51	84,00 ± 0,98	86,00 ± 0,68
Nt	17,00 ± 1,24 ^a	18,00 ± 0,45 ^a	15,00 ± 1,67 ^a	12,00 ± 0,86 ^b
Mn	3,00 ± 0,52	2,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Li	3,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Tr (x10 ³ µL ⁻¹)	8,15 ± 1,69 ^b	38,14 ± 7,07 ^a	44,03 ± 7,51 ^a	41,13 ± 4,55 ^a
Leu (x10 ³ µL ⁻¹)	57,54 ± 8,18	101,98 ± 24,91	86,21 ± 3,52	84,88 ± 5,31

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,05). Lf = Linfócito, Nt = Neutrófilo, Mn = Monócito, Li = Leucócitos imaturos, Tr = Trombócitos e Leu = Leucócitos.

Em relação às variáveis histomorfométricas (Tabela 5), as dietas fizeram com que os peixes apresentassem diferenças na altura do vilo (P<0,05).

Tabela 5. Valores médios e erro padrão de variáveis histomorfométricas de *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 dias.

Variáveis histomorfo-métricas do intestino	Níveis de OE de alfavaca-cravo			
	Controle	0,5%	1%	1,5%
AV (μm)	506,40 $\pm$ 10,07 ^a	458,05 $\pm$ 17,27 ^b	509,64 $\pm$ 13,10 ^a	489,65 $\pm$ 10,89 ^{ab}
LV (μm)	101,63 $\pm$ 3,47	103,32 $\pm$ 4,12	99,73 $\pm$ 4,54	108,70 $\pm$ 3,95
A (μm^2)	47731,00 $\pm$ 1540,91	46131,16 $\pm$ 2288,80	51216,44 $\pm$ 2326,43	51474,39 $\pm$ 1973,03

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$). AV = Altura do vilo, LV = Largura do vilo e A = área do vilo

A taxa de mortalidade cumulativa dos animais infectados foi calculada por meio da retirada e contagem dos peixes mortos de cada tratamento. A figura 1 ilustra a mortalidade cumulativa em cacharas alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo, sendo que a maior mortalidade foi no grupo controle (60%) e a menor nos que receberam os maiores níveis na dieta.

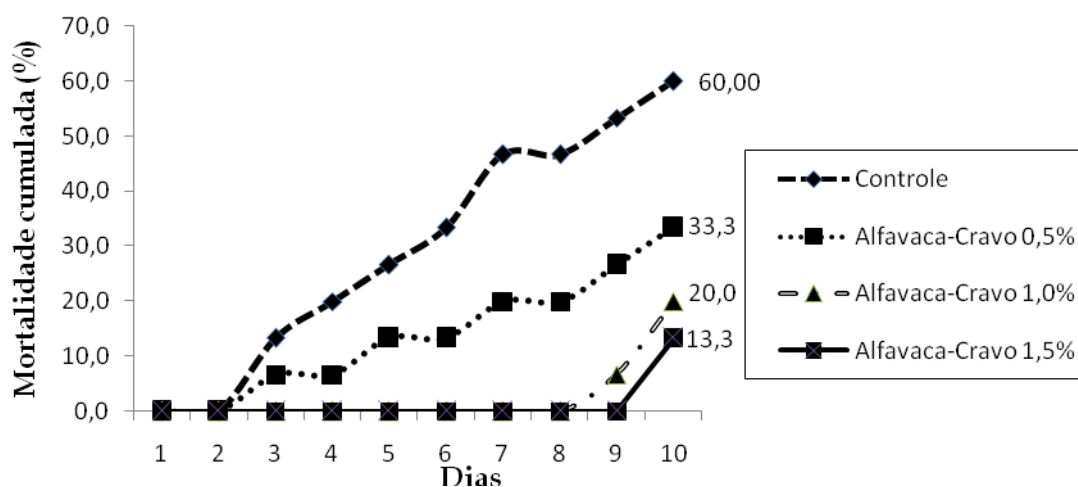


Figura 1. Mortalidade cumulativa em *Pseudoplatystoma reticulatum* alimentados com dietas contendo OE de alfavaca-cravo durante 45 e desafiados com *Aeromonas hydrophila*.

DISCUSSÃO

O principal componente encontrado na composição do OE de alfavaca-cravo foi o 1,8-cineol, um monoterpene com propriedades antibacteriana, anti-inflamatória e analgésica, similar ao encontrado por Figueredo (2017), porém diferente de Silva et al.,

(2012) e Ribeiro et al., (2016), que observaram como componente majoritário o eugenol, um composto encontrado em OEs amplamente testados como anestésicos em diversos peixes. A composição dos OEs podem variar em função das espécies de plantas utilizadas, do ambiente de cultivo da planta, época de colheita e método de extração.

Os fatores que causaram o efeito no aumento do ganho em peso podem ser atribuídos à interação da composição do OE, como modulador do sistema imunológico mantendo bom estado saúde dos peixes e manutenção da homeostasia, além da alteração na variável histomorfométrica do intestino. Figueredo et al., (2017) observaram maior ganho em peso utilizando o mesmo aditivo a 0,5% na dieta de *Oreochromis niloticus*. Em *Sciaenops ocellatus* alimentados com dietas suplementadas com OE de *Ocimum americanum* de 0,25 a 2,0g kg⁻¹ após 7 semanas não houve efeito no desempenho zootécnico (SUTILI et al, 2016).

O aumento do volume corpuscular médio dos animais pode ser consequência da quantidade baixa de eritrócitos e alta porcentagem de hematócrito, essa relação pode ser justificada pela existência do aumento de eritrócitos com células jovens causando anemia macrolítica, conforme Tavares-Dias & Moraes (2004), ou pela hemólise das amostras causando alteração na variável (QUINTÃO, 2014).

Todos os peixes que receberam adição do OE de alfavaca-cravo na dieta tiveram o aumento na concentração de trombócitos no sangue, essa característica é positiva para o organismo, já que essas células atuam no sistema imunológico na atividade fagocítica, por meio do glicogênio intracelular, efetuando processo de defesa orgânica reduzindo a predisposição a infecções.

O aumento da resposta respiratória dos leucócitos foi proporcional aos níveis de inclusão do OE de alfavaca-cravo na dieta. Os componentes químicos com propriedades imuestimulantes contidas na composição exerceram efeito na modulação do sistema imunológico, preparando o organismo para defesa contra possíveis infecções.

Foi observada redução de neutrófilos no grupo que recebeu maior quantia de aditivo, neste momento os animais ainda não tinham sido infectados, portanto essa resposta não atribui baixa ação fagocítica ou de superóxidos bactericida extracelular. Os neutrófilos no sistema imunológico que formam a primeira linha de defesa celular contra agentes invasores e têm como primeira função a ingestão e morte de bactérias, por meio da fagocitose (FELDMAN et al., 2000). Este mesmo OE com 1% na dieta para

Oreochromis niloticus durante 55 dias causou efeito no aumento de neutrófilos (FIGUEREDO et al 2017).

Em relação histomorfometria intestinal, o aumento na altura de vilos pelo grupo 1,0% corrobora o ganho em peso que também mostrou efeito. As variáveis zootécnicas: ganho em comprimento e conversão alimentar, mesmo que não foram significativas, apresentam as maiores e melhores médias avaliadas respectivamente, o que sugere que o aumento das vilosidades aumentou a capacidade de absorção de nutrientes (MOHAMED et al., 2014). Em dietas contendo o mesmo OE nas mesmas contrações para *Oreochromis niloticus* por 55 dias não se obteve efeito nos parâmetros histomorfométricos, porém, dez dias após a infecção com a bactéria *Streptococcus agalactiae*, houve aumento nas variáveis altura de vilo e número de células caliciformes (FIGUEREDO et al., 2017). Em *Oreochromis niloticus* recebendo dietas contendo OE de *Melaleuca alternifolia* não foi observado efeito durante 30 dias, entretanto, houve efeito com 60 dias na altura dos vilos (VALLADÃO et al., 2017) o que pode sugerir que o estado de saúde e tempo de fornecimento contínuo dos OEs podem trazer benefícios aos peixes que recebem a dieta com o aditivo.

No segundo dia após o desafio sanitário com inoculação da *A. hydrophila*, os cacharas apresentaram natação errática e partir do terceiro dia após a inoculação, teve início a mortalidade de alguns peixes com sinais clínicos da bacteriose como, despigmentação da epiderme, ascite, petéquias na região ventral da cabeça e secreção de pus no ânus.

A mortalidade ocorreu principalmente nos peixes que não receberam dietas contendo OE de alfavaca-cravo, no entanto, a adição de 0,5% possibilitou a redução da mortalidade em quase 50% durante os 10 dias de avaliação. A baixa taxa de mortalidade após a infecção nos peixes que receberam OE nas dietas sugere melhora na imunidade inata, uma vez que nesses peixes houve inibição do crescimento do organismo patogênico. Portanto, essa resposta pode estar ligada aos parâmetros onde o aditivo apresentou efeito, como ganho em peso, volume corpuscular médio, altura de vilosidades intestinais, número de neutrófilos e trombócitos e a atividade respiratória de leucócitos.

O fornecimento de dietas com 0,5 e 1,0% de OE durante 55 dias, melhorou a resistência a doenças e capacidade de sobrevivência de 100% frente a infecção por *Streptococcus agalactiae* na concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ (FIGUEREDO et al., 2017). O desafio bacteriano com *A. hydrophila* na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹,

realizada em *Colossoma macropomum* alimentados com dietas contendo de 0,5 a 1,5% de OE de *Mentha piperita* durante 30 dias, não apresentou sinais clínicos externos e relato de mortes (RIBEIRO et al., 2016). O presente trabalho corrobora os resultados observados nos trabalhos supracitados e ressalta o potencial imunoeestimulante do OE de alfavaca-cravo.

CONCLUSÃO

O OE de alfavaca-cravo tem efeito no ganho em peso, resposta imunológica, histomorfometria do intestino e na melhora na resposta de imunidade inata contra a infecção por *Aeromonas hydrophila*. Portanto, o uso deste OE é recomendado em dietas para cacharas em níveis de até 1,0% da dieta por 45 dias.

REFERÊNCIAS

- BAUMGARTNER, G., et al. Peixes do baixo Iguaçu [online]. Maringá: Eduem, pag. 101- 146. 2012
- BILLER, J. D. Respostas fisio-patológicas e desafio por *Aeromonas hydrophila* em Pacu alimentado com ração suplementada com 1, 3 beta-Glucano. 2008.
- BIZZO, H., et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova, São Paulo. v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BRITO, J. M. et al. Desempenho zootécnico de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com cepas probióticas e submetidos a desafio sanitário. Ciência Animal Brasileira, v. 20, p. 1-9, 2019.
- CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Spix; Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In. Bernardo Baldisserotto e Levy de Carvalho Gomes (Orgs.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2010. p. 335-361.
- COLLIER, H. B. The standardizations of blood haemoglobin determinations. Canadian Medical Association Journal 50, 550-552, 1944.
- DAIRIKI, J. K. et al. Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes. Embrapa Amazônia Ocidental-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2013.
- FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. Schalm's veterinary hematology. 5. ed. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2000. 1344 p.
- FIGUEREDO, Aline Brum et al. Suplementação com óleos essenciais de manjerição (*Ocimum gratissimum* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) na dieta de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.) TESE (Doutorado em Aquicultura) - UFSC. Florianópolis, p. 171, 2017.

- GOLDENFARB, P.B., et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology* 56, 35-39. 1971
- HONORATO, C. A., et al. Caracterização física de filés de Surubim (*Pseudoplatystoma sp.*), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Pirarucu (*Arapaimas gigas*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama*, v. 17, n. 4, p.237-242, out./dez. 2014
- JANSEN, H, et al. *Gartnerischer pflanzenban*. 2 ed. Stuttgart: Ulmer, 1989, 467 p.
- MATOS, F. J. A. *Farmácias vivas*. 3. ed. Fortaleza: UFC, 220p, 1998.
- MOHAMED, M. A. et al. Growth performance and histological changes in ileum and immune related organs of broilers fed organic acids or antibiotic growth promoter. *Int. J. Poult. Sci*, v. 13, n. 10, p. 602-610, 2014.
- ONAJOBI, F. D. Smooth muscle contracting lipidic soluble principles in chromatographic fractions of *Ocimum gratissimum*. *J. Ethnopharmacol.*, v.18, p.3-11, 1986.
- PALERMO-NETO, J. N. Uso de Medicamentos Veterinários: Impactos na Moderna Avicultura. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 7, 2006, Chapecó. Anais... Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários e Zootecnistas, 2006.
- QUINTÃO, R. O Diagnóstico clínico veterinário por quem faz. *INFOVET LABTEST*. v.2, p.1-4, 2014.
- RAVINDRAN, V. Aditivos en alimentación animal: Presente y Futuro. (X. C. FEDNA, Ed.) Fundación Española para El desarrollo de La Nutrición Animal, 3- 26, 2010.
- REBOUÇAS, P. M. et al. Influência da oscilação térmica na água da piscicultura. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, v. 2, n. 2, p. 35-42, 2014.
- RIBEIRO, S. C. et al. Hematological responses of tambaqui *Colossoma macropomum* (Serrassalmidae) fed with diets supplemented with essential oil from *Mentha piperita* (Lamiaceae) and challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Acta Amazônica*, v. 46, n. 1, p. 99-106, 2016.
- RODRIGUES, E. A. et al. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. *Acta Sci. Agron.*, v.28, p.213-220, 2006.
- ROUBACH, R. et al. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, v. 36, p. 1056-1061, 2005.

- SILVA, L. de L., et al. Essential oil of *Ocimum gratissimum* L.: anesthetic effects, mechanism of action and tolerance in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, v.350-353, p. 91-97, 2012.
- SUTILI, F. J. et al. 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.; MORAES, F.R. Hematologia de Peixes Teleósteos: Marcos Tavares-Dias, Ribeirão Preto. 144 p, 2004.
- TAVECHIO, W. L. G. et al. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 35, n. 2, p. 335-341, 2009.
- VALLADÃO, G. M., et al. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. *Aquaculture Research*, 48 (11), 5640-5649. 2017.
- WINTROBE, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Hematologica*, v.51, p.32-49, 1934.

CAPÍTULO 4 – POTENCIAL ANESTÉSICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ocimum gratissimum* e *Zingiber officinale* PARA *Pseudoplatystoma reticulatum*

Artigo elaborado conforme as normas (adaptado) da revista: Boletim do Instituto de Pesca

Potencial anestésico de óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* e *Zingiber officinale* para *Pseudoplatystoma reticulatum*

Leonardo Augusto da Silva¹

¹Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Unidade de Aquidauana, Rodovia Aquidauana/UEMS km 12, Zona Rural
Caixa Postal 2579200-000, Aquidauana – MS Brasil.
augusto.nardo@terra.com.br

Resumo

Este trabalho foi conduzido para avaliar o potencial anestésico dos óleos essenciais (OEs) de alfavaca-cravo *Ocimum gratissimum* e gengibre *Zingiber officinale*, e sua influência na glicose plasmática e variáveis hematológicas em juvenis de cachara *Pseudoplatystoma reticulatum*. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com três concentrações de cada OE e o controle isento de OEs e álcool etílico, com seis repetições considerando cada juvenil como uma repetição. Foram utilizados 42 animais, com peso e comprimento médio de 40 ± 10 g e $19 \pm 1,5$ cm respectivamente. Foram testadas as concentrações de 100, 150 e 200 mg L⁻¹ de alfavaca-cravo e de gengibre, sendo os tempos de indução e de recuperação registrados com cronômetro digital. Após a indução, cada animal foi submetido à colheita sanguínea para avaliação da glicose plasmática e hematologia. Os tempos de indução e recuperação com OE de alfavaca e recuperação do OE de gengibre não apresentaram diferenças ($P > 0,05$), entretanto, no tempo de indução com as concentrações do OE gengibre foi significativo ($P < 0,05$). Foi observado efeito no número de eritrócitos na indução com OE de alfavaca-cravo e na variável hemoglobina após a indução com OE de gengibre ($P < 0,05$). As demais variáveis avaliadas não apresentaram efeito ($P > 0,05$). Por fim, conclui-se que os OEs de alfavaca-cravo e gengibre são capazes de anestesiarem cacharas sem apresentar risco de mortalidade, no entanto, apresentam tempo de indução longo, podendo ocasionar alterações fisiológicas conforme o aumento das concentrações.

Palavras-chave: Alfavaca-cravo, cachara, gengibre, indução.

Abstract

This work was conducted to evaluate the anesthetic potential of the essential oils (EOs) of alfavaca-clove *Ocimum gratissimum*, and ginger *Zingiber officinale*, and its influence on plasma glucose, and hematological variables in juvenile *Pseudoplatystoma reticulatum* striped sorubim. A completely randomized design with three concentrations of each EO and the control free of EOs and ethyl alcohol was used, with six replications considering each juvenile as a repetition. Forty-two animals, with average weight and length of 40 ± 10 g and $19 \pm 1,5$ cm respectively. The levels of 100, 150, and 200 mg L⁻¹ of alfavaca-clove, and ginger were tested, and the induction and recovery times were recorded with digital timer. After induction, each animal was submitted to blood sampling for the evaluation of plasma glucose, and hematology. Induction and recovery times with alfalfa EO and ginger EO recovery did not show differences ($P > 0.05$), however, in the induction time with EO ginger concentrations were significant ($P < 0.05$). The effect was observed on the number of erythrocytes in the induction with alfavaca-clove EO and the variable hemoglobin after induction with ginger EO ($P < 0.05$). The other variables evaluated ha effect ($P > 0.05$). Finally, it is concluded that EO of alfavaca-clove and ginger are capable of anesthetizing the Cacharas haven't risk of mortality, however, they present a long induction time, which can cause physiological alterations as the increase of the concentrations.

Key-words: Alfavaca-clove, ginger, induction, striped sorubim.

Introdução

Os manejos inerentes da piscicultura intensiva afetam a homeostasia dos peixes, desencadeiam respostas de estresse, imunossupressão e suscetibilidade às infecções parasitárias e bacterianas (FEITOSA-SILVA, 2019). As práticas de manejos no cultivo são inevitáveis, mas o uso de anestésicos pode facilitar o manejo, minimizar o estresse nos peixes (HONCZARYK & INOUE, 2009; DELBON, 2010; SIMÕES et al., 2012) e reduzir o risco de acidentes no manuseio.

Os principais anestésicos utilizados no Brasil são MS-222 (tricaína metano sulfonato), benzocaína (ethyl-p-aminobenzoato), quinaldina (2-4-metilquinolina), quinaldina sulfato (sulfato de 2-4-metilquinolina), fenoxietanol (fenoxietanol) (Sigma®), etileno glicol, éter fenil $C_8H_{10}O_2$ (Merck®), e o mentol, sendo esse o único anestésico natural (ROUBACH & GOMES, 2001). Com anestésicos sintéticos há preocupação dos efeitos residuais na carne dos peixes alterando as características organolépticas naturais (OLSEN et al., 2006; RIBAS et al., 2007).

Diferente dos anestésicos sintéticos, o tempo residual dos anestésicos naturais na carne dos peixes é inferior a 24 horas, o que os tornam uma alternativa menos agressiva aos animais (ROSS & ROSS 2008). Souza et al. (2017), Bodur et al. (2017), Souza et al. (2018) e Can et al. (2018), têm se dedicado a pesquisas utilizando anestésicos naturais. Logo, os campos de pesquisa com outros óleos essenciais (OEs) como o *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) e *Zingiber officinale* (gingibre) merecem destaque, por conter na composição substâncias de potencial anestésico.

A alfavaca-cravo é uma planta cultivada amplamente em regiões tropicais, tendo o eugenol em sua composição, possuindo ação anestésica, antimicrobiana, analgésica, antifúngica e imunoestimulante. (ROUBACH et al., 2005; ONAJOB, 1986; JANSSEN et al., 1989; MATOS, 1998; RODRIGUES et al., 2006). A eficácia do OE alfavaca-cravo como anestésico em peixes foi registrado por Silva et al., (2012), Benovit et al., (2012), Silva et al., (2015) e Bandera et al. (2017).

Já o gengibre trata-se de uma espécie produtora de rizomas, contendo em seu OE substâncias ativas como gingerol, borneol, citral, cineol, e os sesquiterpenos zingibereno e bisaboleno, com propriedades anestésicas, anti-inflamatórias, analgésicas, imunoestimulantes, antimicrobianas e hipoglicemiantes (KEMPER, 1999; SOUZA et al., 2017; ARAUJO et al., 2010; AMARAL et al., 2018; LORENZI & MATOS, 2002). Apesar dos registros literários afirmarem poder anestésico do gengibre, não se sabe do efeito de seu uso em peixes.

O cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* (EIGENMANN & EIGENMANN, 1889), usado neste estudo, é uma espécie carnívora de água doce (BAUMGARTNER et al., 2012) e muito utilizada em piscicultura para produção de híbridos, pelo fato de ter carne de cor clara, macia, saborosa e sem espinhos (HONORATO, 2014), além de ser atrativa na pesca esportiva e na piscicultura ornamental (CAMPOS 2010).

Com este trabalho o objetivo foi avaliar o potencial anestésico dos OEs de alfavaca-cravo e gengibre e sua influência na glicose plasmática e variáveis hematológicas em juvenis de cachara.

Material e métodos

Instalações, animais e aclimação

O experimento foi certificado pelo comitê de ética no uso de animais da UEMS (protocolo 003/2018). Foram utilizados 42 juvenis de cachara (40 ± 10 g e $19 \pm 1,5$ cm), adquiridos de piscicultura comercial, localizada na cidade de Terenos MS. Os juvenis foram transportados para o laboratório da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul em Aquidauana MS e foram aclimatados em tanque de 500 L, com aeração constante e fluxo de água contínuo pelo período de 30 dias. Diariamente a qualidade de água foi monitorada e os juvenis receberam ração comercial com granulometria de 4 a 6 mm, com 40% de proteína bruta destinada à peixes carnívoros às 8:00 e 16:00 horas.

Fonte dos OEs, composição e preparo das soluções estoque

Os OEs foram adquiridos da extração por hidrodestilação com aparelho Clevenger a partir das folhas de plantas adultas de alfavaca-cravo e a partir dos rizomas de gengibre. As composições químicas (Tabela 1 e 2) foram determinadas por cromatografia gasosa e espectrofotômetro de massa, realizadas no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoquímica da Embrapa Amazônia Ocidental, AM, Brasil.

O preparo das soluções estoque anestésicas foram realizadas a partir da diluição dos OEs de gengibre e alfavaca-cravo em álcool etílico (95%) nas proporções de 10 por 100, 15 por 100 e 20 por 100 g/mL, respectivamente.

Tabela 1. Composição química do OE de *Ocimum gratissimum*

Pico	Constituintes	Teor (%)
1	α -pineno	1,4
2	Sabineno	0,8
3	β -pineno	4,2
4	Mirceno	0,8
5	Limoneno	1,7
6	1,8-cineol	39,5
7	(Z)- β -Ocimeno	0,9
8	γ -terpineno	0,3
9	Linalol	1,9
10	δ -terpineol	0,7
11	Terpineol-4-ol	0,6
12	α -terpineol	2
13	Eugenol	14,7
14	α -copaeno	0,5
15	β -bourboneno	0,6
16	β -elemeno	0,4
17	(E)-cariofileno	5,9
18	α -humuleno	1,1
19	<i>allo</i> -aromadendreno	0,3
20	Germacreno	0,7
21	β -selineno	12,6
22	α -selineno	3,4
23	7-epi- α -selineno	1
24	Espatulanol	3,4
25	Óxido de cariofileno	3,4
26	Epóxido de humuleno II	0,4

Tabela 2. Composição química OE de *Zingiber Officinale*

Pico	Constituintes	Teor (%)
1	2-heptanol	0,6
2	Triciclano	0,2
3	α -pineno	3,2
4	Canfeno	8,5
5	Sabineno	0,2
6	β -pineno	0,4
7	6-metil-5-hepten-2-ona	1,1
8	Mirceno	2,4
9	α -felandreno	0,5
10	β -felandreno	9,9
11	1,8-cineol	4,4
12	terpinoleno	0,3
13	Linalol	1
14	Citronelol	0,2
15	Borneol	0,9
16	α -terpineol	0,7
17	Citronelol	0,9
19	Geraniol	0,8
20	Citral	16,0
21	α -copaeno	0,4
22	<i>allo</i> -aromadendreno	0,7
23	γ -gurjuneno	0,4
25	<i>ar</i> -curcumeno	3,8
26	β -eudesmol	0,1
27	α -zingibereno	20,4
28	(E,E)- α -farneseno	0,3
30	7-epi- α -selineno	0,2
31	β -sesquifelandreno	7,2
32	(E)- γ -bisaboleno	0,2
33	Elemol	0,2
34	Germacreno	12,5
35	n.i.	1,3

n.i. = não identificado.

Delineamento e colheita de dados

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com três concentrações de cada OE (100, 150, 200 mg L⁻¹) e o controle isento de OE e álcool etílico, com seis repetições considerando cada juvenil como uma repetição.

Os peixes foram monitorados visualmente em aquário (13L) buscando avaliar o padrão comportamental para os estágios de anestesia cirúrgica com ausência total de reação, movimentos operculares lentos e irregulares, batimentos cardíacos lentos e perda total de todos os reflexos, descritos por Ross & Ross (2008). Os peixes do grupo controle foram dispostos individualmente no aquário durante 3 minutos sem exposição anestésica e, posteriormente, submetidos à biometria e colheita sanguínea. Em seguida, foram transferidos para um aquário (13L) com aeração contínua e sem anestésico, para a retomada do total equilíbrio e capacidade normal de nado, conforme Hikasa et al. (1986). Os processos de indução e recuperação foram cronometrados com auxílio de um cronômetro digital e foram monitorados pH ($8,5 \pm 0,19$), temperatura ($26,30 \pm 0,72^{\circ}\text{C}$) e oxigênio dissolvido ($6,95 \pm 0,13 \text{ mg L}^{-1}$) da água, com auxílio de peagâmetro e oxímetro HANNA, a cada três repetições. Após a recuperação, os peixes foram separados por tratamento, para acompanhamento de mortalidade durante sete dias.

Glicose plasmática e variáveis hematológicas após anestesia

Depois de anestesiados os peixes foram submetidos à colheita sanguínea e biometria. O sangue foi coletado por punção do vaso caudal, utilizando seringas e agulhas diferentes, em função do parâmetro a ser analisado. Para isso, foram utilizadas seringas e agulhas descartáveis banhadas em anglicolítico GLISTAB para análise de glicose plasmática e em EDTA a 3 % analisando hematologia.

A concentração de glicose plasmática foi avaliada a partir de kit comercial colorimétrico (LabTest®). Na análise hematológica foram avaliados: porcentagem de hematócrito - pelo método de microhematócrito de Goldenfarb et al. (1971), Hemoglobina - pelo método de cianometahemoglobina de Collier (1944) e Contagem do número de eritrócitos - realizado em câmara de Neubauer utilizando a diluição de 1:200 em solução de formol-citrato. Foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média, de acordo com o indicado por Wintrobe (1934).

Foram confeccionadas extensões sanguíneas em duplicata de cada animal, secas ao ar e coradas com May Grünwald-Giemsa-Wright, segundo Tavares-Dias & Moraes (2004) para realização da contagem total de eritrócitos, trombócitos e leucócitos.

Estatística

Os dados foram submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e análise de variância (ANOVA) separadamente, sem comparar os OEs, utilizando o programa RStudio 1.0.153.

RESULTADOS

Tempos de indução e recuperação

Os tempos de indução e recuperação com o OE de alfavaca-cravo, e recuperação de OE de gengibre não apresentaram diferenças entre os níveis ($P>0,05$), entretanto, houve efeito das concentrações de OE de gengibre sobre o tempo de indução ($P<0,05$). Os valores referentes à de indução e recuperação dos cacharas estão dispostos na tabela 3.

Tabela 3. Tempo médio em segundos $\pm$ erro padrão de indução e recuperação de juvenis de cachara *Pseudoplatystoma reticulatum*, submetidos à anestesia com níveis de OE de alfavaca-cravo e gengibre.

Níveis anestésicos (mg L ⁻¹)	Indução (s)	Recuperação (s)
Alfavaca-cravo 100	315,17 $\pm$ 39,52 ^{NS}	197,83 $\pm$ 17,08 ^{NS}
Alfavaca-cravo 150	260,67 $\pm$ 15,97 ^{NS}	229,33 $\pm$ 28,33 ^{NS}
Alfavaca-cravo 200	249 $\pm$ 21,35 ^{NS}	261,67 $\pm$ 22,54 ^{NS}
Gengibre 100	892,83 $\pm$ 13,36 ^b	204,83 $\pm$ 39,53 ^{ns}
Gengibre 150	803,00 $\pm$ 71,74 ^b	294,16 $\pm$ 30,46 ^{ns}
Gengibre 200	647,83 $\pm$ 26,46 ^a	257,33 $\pm$ 22,01 ^{ns}

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Fisher ($P<0,05$). NS = Não significativo.

Variáveis hematológicas

Dentre as variáveis do hemograma dos cacharas anestesiados com níveis de OE de alfavaca-cravo (Tabela 4), foi observado aumento no número de eritrócitos nas contrações de 100 e 200 mg L⁻¹ ($P<0,05$). As variáveis glicose plasmática, hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, hematócrito, trombócitos e leucócitos não diferiram entre as concentrações testadas ($P>0,05$).

Tabela 4. Valores médios e erro padrão do hemograma de *Pseudoplatystoma reticulatum* anestesiados com níveis de OE de alfavaca-cravo, e não anestesiados (Controle).

Hemograma	Níveis anestésicos de alfavaca-cravo			
	Controle	100 mg L ⁻¹	150 mg L ⁻¹	200 mg L ⁻¹
Gls (g dL ⁻¹)	34,64±2,28	36,90±8,43	55,30±12,63	32,22±8,17
Hb (g dL ⁻¹)	4,43±0,97	5,16±0,51	5,48±0,41	3,38±0,64
Er (x10 ⁶ µL ⁻¹)	1,34±0,03 ^b	1,81±0,13 ^a	1,57±0,06 ^{ab}	1,66±0,09 ^a
Htc (%)	17,0±1,06	18,17±0,70	17,5±1,41	17,5±1,26
Vcm (fL ⁻¹)	122,92±9,33	98,63±7,93	116,09±3,11	100,46±11,67
Chcm (g dL ⁻¹)	26,34±5,61	31,56±0,90	32,94±4,88	19,86±3,76
Tr (x10 ³ µL ⁻¹)	55,12±11,47	73,24±13,02	85,03±12,38	75,75±11,57
Leu (x10 ³ µL ⁻¹)	126,19±1,93	179,80±22,47	129,06±17,53	128,49±14,68

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Fisher (P<0,05). Gls = Glicose plasmática, Hb = Hemoglobina, Er = Número de eritrócitos, Htc = Hematócrito, VCM = Volume corpuscular médio, CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média, Tr = Trombócitos e Leu = Leucócitos.

Para o hemograma de cacharas anestesiados com níveis de OE de gengibre (Tabela 5), a concentração de 100 mg L⁻¹ causou aumento na variável hemoglobina quando comparada à concentração de 200 mg L⁻¹ (P<0,05). Entretanto, nas demais variáveis não foram observadas diferenças (P>0,05).

Tabela 5. Valores médios e erro padrão do hemograma de *Pseudoplatystoma reticulatum* anestesiados com níveis de OE de gengibre, e não anestesiados (Controle).

Hemograma	Níveis anestésicos de gengibre			
	Controle	100 mg L ⁻¹	150 mg L ⁻¹	200 mg L ⁻¹
Gls (g dL ⁻¹)	34,64±2,28	67,77±8,66	49,17±10,20	58,21±10,71
Hb (g dL ⁻¹)	4,43±0,97 ^{ab}	6,44±0,65 ^a	4,57±0,86 ^{ab}	3,36±0,30 ^b
Vcm (fL ⁻¹)	122,92±9,33	114,55±7,90	120,15±9,96	124,64±10,04
Chcm (g dL ⁻¹)	26,34±5,61	35,78±3,08	24,59±4,85	17,98±2,28
Er (x10 ⁶ µL ⁻¹)	1,34±0,03	1,48±0,07	1,52±0,07	1,57±0,09
Htc (%)	17,0±1,06	18,00±0,97	18,83±0,31	19,16±0,79
Tr (x10 ³ µL ⁻¹)	55,12±11,47	74,87±5,20	60,16±5,66	69,72±6,07
Leu(x10 ³ µL ⁻¹)	126,19±1,93	120,09±9,42	137,17±17,09	120,69±14,14

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Fisher ($P < 0,05$). Glc = Glicose plasmática, Hb = Hemoglobina, Er = Número de eritrócitos, Htc = Hematócrito, VCM = Volume corpuscular médio, CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média, Tr = Trombócitos e Leu = Leucócitos.

DISCUSSÃO

O principal componente encontrado na composição do OE de alfavaca-cravo foi o 1,8 - cineol, um monoterpeno com propriedades antibacteriana, anti-inflamatória e analgésica, similar ao encontrado por Figueredo (2017), porém diferente de Silva et al., (2012) e Ribeiro et al., (2016), que observaram como componente majoritário o eugenol, um composto encontrado em OEs amplamente testados como anestésicos em diversos peixes. No presente estudo, o OE de gengibre teve como os principais constituintes os sequiterpenos, que contém propriedades anestésicas, antihelmínticas, antiinflamatórias, sedativas e espasmólicas. Na composição do mesmo OE, Figueredo (2017) encontrou como componente principal o citral (geranial), um monoterpeno. A composição dos OEs pode variar em função das espécies de plantas utilizadas, da composição química que pode se alterar conforme sua localização na planta, época de colheita e método de extração.

Na indução dos peixes a utilização do OE de alfavaca-cravo como anestésico apresentou reações adversas. No início da exposição os juvenis apresentaram comportamento de hiperatividade, em todas as concentrações. Esse comportamento também foi observado no trabalho de Honorato et al., (2014) com a hiperatividade em *Leiarius marmoratus* no início da exposição anestésica com o eugenol. Sanchez et al., (2014) também observaram a falta de hiperatividade dos cacharas em primeiro contato com o eugenol como anestésico. Após a indução, nenhum dos peixes ofereceu resistência aos manejos de biometria e colheita sanguínea, consequentemente, é possível assegurar que o estágio de anestesia deste experimento foi eficaz para execução desses procedimentos.

Não foi observada mortalidade durante e após sete dias dos testes de indução e recuperação, o que infere que todos os animais utilizados tiveram uma boa recuperação frente à anestesia e aos manejos. Ao utilizar OE de alfavaca-cravo não houve mortalidade em *Paralichthys orbignyanus* submetidos a induções anestésicas em concentrações de 10 a 100 mgL⁻¹ (BENOVIT, 2012), para *Rhamdia quelen* em concentrações de 70 e 300 mgL⁻¹ (SILVA, 2015) e para *Brycon amazonicus* em concentrações de 20 a 80 mgL⁻¹ (RIBEIRO, 2016).

O padrão indicado por Roubach & Gomes (2001) para se atingir indução anestésica é de um a três minutos e para a recuperação é de até cinco minutos. Todos os peixes foram induzidos até o estado de anestesia cirúrgica, porém com tempos de indução elevados. Portanto, doses maiores de OE de alfavaca-cravo e gengibre poderiam surtir efeito mais rápido de indução, conforme relatado nos trabalhos de Rotili et al., (2012) e Bittencourt et al., (2012) que mostraram que o aumento das doses diminuíram o tempo para indução e aumentaram o tempo de recuperação. Ainda segundo Roubach & Gomes (2001), os efeitos das concentrações dos OEs como anestésicos na recuperação já estavam em tempos próximos do limite recomendado.

Além de tempos elevados de recuperação, uma característica que limita o aumento da concentração do OE de gengibre como anestésico é a turbidez da água, pois quanto mais concentrado, menor é a visualização dos animais, tornando sua utilização insegura aos peixes e ao manipulador.

Na anestesia de peixes, as brânquias fazem absorção dos componentes anestésicos, que se espalham rapidamente na corrente sanguínea assim que estão dispostos à artéria eferente, sendo levado aos órgãos e sistema nervoso central. Neste contexto, o uso dos OEs de alfavaca-cravo e gengibre como anestésicos promoveram alteração nos parâmetros fisiológicos em peixes, implicando em mudanças no hemograma.

Porém, plantas medicinais ou seus derivados, quando utilizados para fins profiláticos e terapêuticos, devem sempre ser testados quanto a sua toxicidade, pois os limites de tolerância podem variar de acordo com a espécie de peixes, idade, tamanho e com o tempo de exposição ao produto (WINKALER et al. 2007; TAVECHIO et al. 2009).

As mudanças no hemograma segundo Morales et al (2005), normalmente são observadas em respostas a exposições de estresse agudo. No experimento com uso do OE de alfavaca-cravo tanto a menor, quanto a maior concentração promoveram o aumento do número de eritrócitos. A indução com OE de alfavaca-cravo nas concentrações de 20 a 80 mg L⁻¹ em *Brycon amazonicus* não alteraram o número de eritrócitos (RIBEIRO, 2016).

Quando o OE de gengibre foi usado na indução aguda, os cacharas apresentaram alteração na hemoglobina no menor e no maior nível testados. Na literatura não há informação dos componentes ativos encontrados no OE de gengibre que explique os mecanismos de ação que causam essa alteração, mas pode-se sugerir

que ocorram ações inibitórias no sistema nervoso central, que induz a anestesia, redução dos movimentos respiratórios e dos batimentos cardíacos (IGGO & KLEMM, 1996), ou possíveis interações dos componentes naturais que podem causar danos nas brânquias causando hipóxia, prejudicar as trocas gasosas e provocar hemólise de eritrócitos, exigindo maior síntese hematopoiética.

CONCLUSÃO

Os OEs de alfavaca-cravo e gengibre são capazes de anestésias cacharas sem apresentar risco de mortalidade, no entanto, apresentam tempo de indução longo, podendo ocasionar alterações fisiológicas indesejáveis conforme o aumento das concentrações.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, M. P. M. Efeitos farmacológicos do monoterpeno (-) - borneol em modelos animais visando o planejamento de um novo fármaco no tratamento da ansiedade e adição. Tese. 2018
- ARAÚJO, F. O. L. et al. Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico do óleo volátil de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Mirtaceae). Quím. Nova, São Paulo, v. 33, n.7, p.1510-1513, 2010.
- BAUMGARTNER, G., et al. Peixes do baixo Iguaçu [online]. Maringá: Eduem, pag. 101- 146. 2012
- BENOVIT, S. C., et al. Anesthesia and transport of Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. Journal of the World Aquaculture Society, v. 43, n. 6, p. 896-900, 2012.
- BITTENCOURT, F., et al. Benzocaine and eugenol as anesthetics for golden fish (*Carassius auratus*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 64(6): 1597-1602. 2012
- BODUR, T., et al. Assessment of effective dose of new herbal anesthetics in two marine aquaculture species: *Dicentrarchus labrax* and *Argyrosomus regius*. Aquaculture, v. 482, p. 78-82, 2018.
- CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* , Spix; Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In. Bernardo Baldisserotto e Levy de Carvalho Gomes (Orgs.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2010. p. 335-361.

- CAN, E. et al. Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. *Aquaculture*, v. 491, p. 59-64, 2018.
- COLLIER, H.B. The standardizations of blood haemoglobin determinations.(1944) *Canadian Medical Association Journal* 50, 550-552.
- DELBON, M. C. Análises cromatográficas e parâmetros hematológicos de tilápia, *Oreochromis niloticus*, anestesiadas com eugenol em condições laboratoriais e de transporte. 2010. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Centro de Aquicultura, Jaboticabal.
- FEITOZA-SILVA, A. Eficácia do levamisol como modulador de respostas de estresse, do sistema imune inato e anti-helmíntico em tambaqui Jaboticabal, 2019 FIGUEREDO, A. B., et al. Suplementação com óleos essenciais de manjerição (*Ocimum gratissimum* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) na dieta de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.). 2017.
- GOLDENFARB, P.B., et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology* 56, 35-39. 1971
- HIKASA, Y., et al. Anesthesia and recovery with tricaine methenesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Veterinary Science*, v.48, p.341-351, 1986.
- HONCZARYK, A.; INOUE, L. A. K. A. Anesthesia in pirarucu by eugenol sprays in the gills. *Ciência Rural*, 39: 577-579 (in Portuguese, with abstract in English). 2009.
- HONORATO, C. A., et al. Caracterização física de filés de Surubim (*Pseudoplatystoma* sp.), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Pirarucu (*Arapaimas gigas*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 17, n. 4, p.237-242, out./dez. 2014
- IGGO, A.; KLEMM, W. R. Nervos, sinapses e reflexos. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. *Dukes: fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.699-713.
- JANSEN, H, et al., *Gartnerischer pflanzenban*. 2 ed. Stuttgart: Ulmer, 1989, 467 p.
- KEMPER, K. J. Ginger (*Zingiber officinale*). *Longwood Herbal Task Force*, p. 1-18, 1999.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. *Plantas medicinais no Brasil*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.
- MATOS, F. J. A. *Farmácias vivas*. 3. ed. Fortaleza: UFC, 1998. 220p

- OLSEN, D. H, et al. Effect of slaughter methods on blood spotting and residual blood in fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, v.258, p.462-469, 2006.
- ONAJOBI, F. D. Smooth muscle contracting lipidic soluble principles in chromatographic fractions of *Ocimum gratissimum*. *J. Ethnopharmacol.*, v.18, p.3-11, 1986.
- RIBAS, L., et al. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. *Aquaculture*, v.269, p.250-258, 2007.
- RIBEIRO, A. S., et al. Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrinx. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v.38, n.1., p.1-7, 2016.
- RODRIGUES, E. A. et al. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. *Acta Sci. Agron.*, v.28, p. 213-220, 2006.
- ROSS, L. G.; ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3 .ed. Oxford: Blackwell Science, 240 p, 2008.
- ROTILI, D. A., et al. Uso de eugenol como anestésico em pacu. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 288-294, 2012.
- ROUBACH, R. et al. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, v. 36, p. 1056-1061, 2005.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.V. O uso de Anestésico durante o manejo de peixes. *Panorama da Aquicultura*, v.11, p. 37-40, 2001.
- SANCHEZ, M. S. S., et al. Respostas fisiológicas de cacharas *Pseudoplatystoma reticulatum* submetidos a anestésicos naturais. *Semina: Ciências Agrárias*, 35 (2): 1061-1070, 2014 a.
- SILVA, L. L. et al. Effects of anesthesia with the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. in parameters of fish stress. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v. 17, n. 2, p. 215-223, 2015.
- SILVA, L. L., et al. Essential oil of *Ocimum gratissimum* L.: Anesthetic effects, mechanism of action and tolerance in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, v. 350, p. 91-97, 2012.
- SIMÕES, L.N. et al. Clove oil as an anesthetic on Nile tilapia adults. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v.34, n.2, p.175-181, 2012.

- SOUZA, C. F., et al. Is monoterpene terpinen-4-ol the compound responsible for the anesthetic and antioxidant activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil (tea tree oil) in silver catfish? *Aquaculture*, v. 486, p. 217-223, 2018.
- SOUZA, C. F., et al. Citral and linalool chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for fish: a detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Fish physiology and biochemistry*, v. 44, n. 1, p. 21-34, 2017.
- SOUZA, C. F., et al. Physiological responses of *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. 2017 *Neotrop. Ichthyol.* vol. 15, n.1, 2017.
- TAVARES-DIAS, M. & MORAES, F.R. (2004) *Hematologia de Peixes Teleósteos*: Marcos Tavares-Dias, Ribeirão Preto. 144 pp.
- TAVECHIO, W. L. G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L.. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. *Boletim Instituto de Pesca*, 35 (2): 335 – 341. 2009
- WINKALER, E. U.; SANTOS, T. R. M.; MACHADO-NETO, J.G.; MARTINEZ, C. B. R. Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology (Part C)*, 145: 236-244. 2007
- WINTROBE, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*, v.51, p.32-49, 1934.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos com o uso de óleos essenciais na dieta e como anestésicos para peixes tem ganhado espaço entre os pesquisadores, a fim de melhorar a eficiência produtiva, com possibilidade de facilitar os manejos e reduzir a utilização de antibióticos. Entretanto, os compostos ativos encontrados nos OEs podem variar conforme a parte da planta utilizada, época de colheita e método de extração e isso dificulta avaliação dos efeitos causados pelos componentes, porque a interação ou proporção diferenciada podem gerar resultados distintos.

O emprego do OE de gengibre em dietas para cacharas durante 61 dias não é eficiente para a melhoria do desempenho zootécnico e histomorfologia do intestino.

O OE de alfavaca-cravo apresenta efeito no ganho em peso, resposta imunológica e melhora a resposta contra a infecção por *Aeromonas hydrophila*. Portanto, o uso deste OE é recomendado para cacharas em níveis de 1,0% da dieta por 45 dias.

Os OEs de alfavaca-cravo e gengibre são capazes de anestésiar cacharas sem apresentar risco de mortalidade, no entanto, apresentam tempo de indução elevado, podendo ocasionar alterações fisiológicas indesejáveis. Pesquisas com a utilização de componentes específicos como os sequiterpenos encontrados no gengibre e o eugenol na alfavaca-cravo devem ser conduzidas para aumentar o nível de conhecimento acerca do assunto.