

Efeito de Óleos Essenciais de Alfavaca-Cravo e Gengibre em Tilápias- -do-Nilo Desafiadas com *Streptococcus agalactiae*



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 137

Efeito de Óleos Essenciais de Alfavaca-Cravo e Gengibre em Tilápias- -do-Nilo Desafiadas com *Streptococcus agalactiae*

*Aline Brum Figueredo
Edsandra Campos Chagas
Francisco Célio Maia Chaves
Maurício Laterça Martins*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM 010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

<https://www.embrapa.br/amazonia-ocidental>

www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa, Maria Perpétua Beleza Pereira e Ricardo Lopes*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Ilustração da capa: *Francisco Célio Maia Chaves*

1ª edição

1ª impressão (2017): 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação
Embrapa Amazônia Ocidental**

Efeito de óleos essenciais de alfavaca-cravo e gengibre em tilápias-do-nilo desafiadas com *Streptococcus agalactiae* / Aline Brum Figueredo...[et al.]. – Manaus : Embrapa Amazônia Ocidental, 2017.
32 p. : il. color. - (Documentos / Embrapa Amazônia Ocidental, ISSN 1517-3135; 137).

1. Óleo essencial. 2. Alfavaca-cravo. 3. Gengibre. 4. *Ocimum gratissimum*. 5. *Zingiber officinale*. 6. Bactéria. I. Figueredo, Aline Brum. II. Chagas, Edsandra Campos. III. Chaves, Francisco Célio Maia. IV. Martins, Maurício Laterça. V. Série.

CDD 639.3

Autores

Aline Brum Figueredo

Engenheira de aquicultura, doutora em Desenvolvimento Sustentável do Trópico Úmido, Florianópolis, SC.

Edsandra Campos Chagas

Engenheira de pesca, doutora em Aquicultura, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Francisco Célio Maia Chaves

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia (Horticultura), pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

Maurício Laterça Martins

Biólogo, doutor em Aquicultura, professor da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

Apresentação

A intensificação dos cultivos de peixes traz como consequência a elevação da matéria orgânica, o que favorece a multiplicação de microrganismos. Entre eles, destacam-se as bactérias, que se proliferam rapidamente em ambiente aquático e acometem os peixes. A terapia mais utilizada são os antibióticos, que, se administrados de forma errada, podem induzir o aparecimento de bactérias resistentes ou deixar resíduos na água e na carne.

Sendo assim, o uso de produtos naturais vem ganhando destaque na sanidade animal, pois eles apresentam, em sua composição, substâncias bioativas contra parasitos e microrganismos. São produtos que podem substituir os antibióticos, por serem menos prejudiciais ao meio ambiente e menos agressivos à saúde do homem.

Diante disso, este documento apresenta os óleos essenciais como alternativa de tratamento de doenças infecciosas para peixes de cultivo.

Celso Paulo de Azevedo
Chefe-Geral Interino

Sumário

Efeito de Óleos Essenciais de Alfavaca-Cravo e Gengibre em Tilápias-do-Nilo Desafiadas com *Streptococcus agalactiae*...9

Introdução.....9

Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) e gengibre (*Zingiber officinale*).....10

Óleos essenciais de alfavaca-cravo e gengibre em dietas para tilápias.....11

Preparo e fornecimento das dietas suplementadas.....11

Análises hemato-imunológicas e infecção com *Streptococcus agalactiae*.....12

Resultados e Discussão.....13

Considerações finais.....27

Referências.....28

Efeito de Óleos Essenciais de Alfavaca-Cravo e Gengibre em Tilápias-do-Nilo Desafiadas com *Streptococcus agalactiae*

Aline Brum Figueredo

Edsandra Campos Chagas

Francisco Célio Maia Chaves

Maurício Laterça Martins

Introdução

As infecções causadas por bactérias do gênero *Streptococcus*, representadas principalmente pelas espécies *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus iniae*, são a principal causa de perdas econômicas na tilapicultura. *S. agalactiae* causa também infecções em humanos e bovinos, sendo considerado recentemente como um patógeno emergente de peixes que apresenta potencial zoonótico (EVANS et al., 2009). Os sinais clínicos da infecção em peixes incluem septicemia, exoftalmia, opacidade nas córneas, melanose, natação errática, ascite e hemorragias nos órgãos internos (CHEN et al., 2012).

Atualmente, o mercado dispõe de vacinas efetivas contra *S. agalactiae*, porém a vacinação de peixes abaixo de 15 g é inviável, pois o volume da dose recomendada pelo fabricante não é considerado seguro para ser injetado em peixes abaixo desse tamanho. Além disso, a tilápia é susceptível a muitas outras categorias de patógenos (MSD ANIMAL HEALTH, 2012).

As plantas sintetizam diversos compostos ativos capazes de aumentar a capacidade imunológica em animais (KOTZEKIDOU et al., 2007). Muitos extratos vegetais têm se mostrado eficazes como

imunomoduladores em peixes, proporcionando maior resistência a enfermidades (CHAGAS et al., 2014). Esses extratos podem ser utilizados nos períodos mais críticos do ciclo produtivo, como reprodução e larvicultura. As principais vantagens do uso desses produtos são a redução da contaminação aquática, da quantidade de resíduos tóxicos na carne de peixes destinada ao consumo humano e do risco de seleção de patógenos resistentes, além de menor custo em comparação com os produtos sintéticos (COIMBRA et al., 2006).

Considerando essas questões, propõe-se o uso de produtos naturais com objetivo de proporcionar resistência a enfermidades em peixes de cultivo.

Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) e gengibre (*Zingiber officinale*)

As plantas popularmente conhecidas como “manjericões” pertencem ao gênero *Ocimum* (Família Lamiaceae), herbáceas de grande importância econômica que ocorrem em áreas tropicais da África, América e Ásia (ORAFIDIYA et al., 2001). A espécie *Ocimum gratissimum* L., popularmente conhecida como “manjericão-cravo”, “alfavaca” ou “alfavaca-cravo”, apresenta propriedades antimicrobianas, anestésicas e de melhoria da composição corporal em peixes (ANYANWU et al., 2012; HANIFFA; KAVITHA, 2012).

O gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) (Família Zingiberaceae) é amplamente utilizado para incrementar a resposta imunológica, possuindo compostos imunoestimulantes concentrados principalmente em seu caule, do tipo rizoma. Estudos recentes têm mostrado efeitos benéficos do gengibre sobre o crescimento, resposta imune e resistência a enfermidades em peixes (DÜGENCI et al., 2003; NYA; AUSTIN, 2009; TALPUR et al., 2013; KANANI et al., 2014).

O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da suplementação dietária com óleos essenciais de alfavaca-cravo e gengibre sobre o crescimento, parâmetros hemato-imunológicos e resistência à infecção por *S. agalactiae* em tilápias-do-nilo.

Óleos essenciais de alfavaca-cravo e gengibre em dietas para tilápias

Os óleos essenciais utilizados no presente estudo foram extraídos de folhas e inflorescências de alfavaca-cravo (*O. gratissimum*) e rizomas de gengibre (*Z. officinale*). A extração foi feita por hidrodestilação com aparelho Clevenger, no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoquímica da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Brasil (03° 06' 23.04"S 60° 01' 35.14" O). Logo após a extração, os óleos foram acondicionados em recipientes de vidro âmbar e armazenados a -18 °C. A composição química dos óleos essenciais foi determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas na Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

Preparo e fornecimento das dietas suplementadas

Para inclusão dos óleos essenciais na dieta, utilizou-se a metodologia de Dairiki et al. (2013). Para cada quilograma de ração, uma solução de óleo essencial em 100 mL de álcool de cereais foi aspergida e misturada a uma dieta comercial para peixes onívoros com 40% de proteína bruta. Ao longo do experimento, a granulometria da ração foi adequada ao tamanho dos peixes, conforme recomendações do fabricante. Inicialmente forneceu-se ração em pó e, a partir do momento em que os peixes atingiram 10 g, foi fornecida ração com 2,5 mm de diâmetro. A ração controle foi aspergida somente com álcool de cereais. A secagem da ração foi feita a 25 °C durante 24 h, em seguida esta foi embalada e armazenada a -18 °C. Foram fornecidas sete diferentes dietas: não suplementada (controle) e suplementada com óleo essencial de alfavaca-cravo a 0,5%, 1% e 1,5% e com óleo essencial de gengibre nas mesmas proporções.

Para verificação dos efeitos in vivo, 1.080 juvenis de tilápia-do-nylo ($3,92 \pm 0,36$ cm e $1,84 \pm 0,52$ g) foram obtidos de uma piscicultura comercial, localizada no município de Paulo Lopes, SC (27° 57' 42"S 48° 41' 01"O), e aclimatados em sistema de recirculação. O

sistema possuía 24 tanques acoplados a sistema de recirculação com filtros mecânica, biológica e ultravioleta, aeração constante, e fotoperíodo controlado de 12 horas. Foram distribuídos 45 peixes por tanque e, após três dias de aclimação, foram alimentados por 55 dias com as dietas experimentais a seguir: controle (quatro réplicas), óleo essencial de alfavaca-cravo a 0,5% (três réplicas), 1,0% (três réplicas) e 1,5% (três réplicas) e óleo essencial de gengibre a 0,5% (três réplicas), 1,0% (três réplicas) e 1,5% (quatro réplicas), totalizando sete tratamentos em 24 unidades experimentais. Os parâmetros de qualidade da água foram medidos diariamente, pela manhã e à tarde. A temperatura, a concentração de oxigênio dissolvido, o pH, a salinidade, a condutividade elétrica e a concentração de sólidos em suspensão na água foram determinados com equipamento multiparâmetro. O fornecimento da ração foi feito de acordo com tabela de alimentação fornecida pelo fabricante, sendo que a frequência alimentar variou de seis a três rações por dia e a taxa de alimentação variou de 9,5% a 4,4% da biomassa, ao início e ao final do experimento, respectivamente. As concentrações de amônia total, nitrito, nitrato e alcalinidade foram determinadas por testes colorimétricos. Os peixes foram pesados semanalmente para cálculo da taxa de crescimento específico (TCE) e do fator de conversão alimentar (TCA) (FU et al., 1998), a partir das seguintes fórmulas:

$$\text{TCE} = 100 \times (\ln \text{ peso final [g]} - \ln \text{ peso inicial [g]}) / \text{tempo (dias)}$$

$$\text{FFCA} = \text{consumo de ração (g)} / (\text{peso final [g]} - \text{peso inicial [g]})$$

Análises hemato-imunológicas e infecção com *Streptococcus agalactiae*

Aos 35 e 55 dias de suplementação, foram coletadas amostras de sangue de cinco peixes de cada tanque para determinação do hemograma e da atividade fagocitária dos leucócitos. Outros cinco peixes de cada tanque tiveram sangue coletado para determinação de parâmetros imunológicos do soro.

Após 55 dias de suplementação, todos os peixes restantes foram infectados com *S. agalactiae* via gavagem. O procedimento consistiu em inserir a suspensão bacteriana diretamente no esôfago dos peixes, com o auxílio de uma seringa sem agulha. Após o desafio, os peixes foram observados durante dez dias a cada 3 horas, com exceção do período noturno, para registro de sinais clínicos e mortalidade. A porcentagem de sobrevivência relativa (PRS) foi calculada de acordo com Amend (1981). Dez dias após a infecção foram coletadas amostras de sangue para determinação do hemograma, além de amostras de fígado, cérebro e rim para reisolamento da bactéria.

Todos os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS) (27° 35' 10.9" S 48° 30' 30.6" W), que integra o Núcleo de Estudos em Patologia Aquícola do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, SC).

Resultados e Discussão

O óleo essencial de alfavaca-cravo mostrou 1,8-cineol como componente principal (40,4%), seguido do eugenol (22,4%) e do β -selineno (12,9%). O óleo essencial de gengibre apresentou principalmente geranial ou citral A (23,9%) e neral ou citral B (17,2%), dois compostos isoméricos que totalizam 41,1% de citral (Tabela 1).

O óleo essencial de alfavaca-cravo mostrou composição diferente da encontrada em outros estudos, que registram o eugenol como componente majoritário (SILVA et al., 2012; RIBEIRO et al., 2016). No presente estudo, o principal componente foi o 1,8-cineol, também conhecido como eucaliptol, que possui atividade antimicrobiana e anti-inflamatória (ZHANG et al., 2013). Não foram encontrados outros estudos relatando o 1,8-cineol como principal componente do óleo essencial de alfavaca-cravo.

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) e gengibre (*Zingiber officinale*). n.i.: não identificado.

Alfavaca-cravo		Gengibre	
Composto	(%)	Composto	(%)
1,8-cineol	40,4	Geranial	23,9
Eugenol	22,4	Neral	17,2
β -selineno	12,9	1,8-cineol	16,0
(E)-cariofileno	4,9	Canfeno	11,3
Óxido de cariofileno	4,0	Borneol	4,0
β -pineno	3,8	β -felandreno + silvestreno	3,7
α -selineno	3,2	α -Pineno	2,9
α -terpineol	1,6	α -terpineol	2,9
Linalol	1,6	Geraniol	1,6
α -pineno	1,4	Mirceno	1,6
BHT	1,0	Linalol	1,5
α -humuleno	0,8	(E,E)- α -farneseno	1,2
Sabineno	0,8	6-metil-5-hepten-2-ona	1,1
Limoneno	0,7	β -sesquifelandreno	1,1
δ -terpineol	0,6	Ar-curcumeno	1,0
		Citronelol	1,0
		2-heptanol	0,9
		β -pineno	0,6
		n.i.	0,6
		Terpinen-4-ol	0,6
		(E)-isocitral	0,5
		Mirtenal	0,5
		Cânfora	0,4
		n.i.	0,4
		α -felandreno	0,3
		Citronelal	0,3
		Terpinoleno	0,3
		Tricicleno	0,3

Porém, diferenças na composição podem ocorrer, considerando que os componentes do óleo são resultantes de produtos metabólicos vegetais. Fatores intrínsecos da planta, como fase de desenvolvimento, ciclo circadiano, características genéticas, podem ser responsáveis por diferenças na proporção de compostos, além de fatores ambientais aos quais a planta estiver exposta, como temperatura, luminosidade, composição do solo, entre outros (REIS; MARIOT, 2004). Alguns componentes podem se transformar em outros, inclusive após a extração do óleo (RIBEIRO et al., 2016).

No óleo essencial de gengibre, o principal componente foi o citral, antimicrobiano visado como suplemento alimentar para tratamento de infecções em animais de produção (YANG et al., 2016). Em outro estudo, o citral também foi encontrado como componente majoritário (51%-71%) no óleo essencial extraído de diferentes cultivares de gengibre (WOHLMUTH et al., 2006), corroborando o presente resultado.

Aos 55 dias de suplementação (Tabela 2), os peixes tratados com alfavaca e gengibre a 1,5% mostraram comprimento significativamente menor, enquanto os demais não mostraram diferença em relação ao controle. Portanto, as concentrações mais altas de óleo essencial na dieta interferiram no crescimento de forma prejudicial.

Quanto à taxa de crescimento específico (Tabela 2), os peixes tratados com alfavaca a 0,5% mostraram valores similares ao controle e maiores que todos os demais tratamentos, enquanto os peixes alimentados com gengibre a 1,5% apresentaram valores mais baixos que todos os outros. A conversão alimentar (Tabela 2) foi melhor nos peixes alimentados com alfavaca a 0,5% do que em todos os demais tratamentos, enquanto os peixes tratados com gengibre a 1,5% apresentaram o pior fator de conversão alimentar.

Tabela 2. Parâmetros de desempenho zootécnico (média \pm desvio padrão) de tilápias-do-nilo após 55 dias de suplementação com óleos essenciais de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) e gengibre (*Zingiber officinale*).

Tratamentos	Comprimento (cm)	Peso (g)	TCE (%.dia ⁻¹)	FCA
Controle	10,18 \pm 0,81 ^a	19,25 \pm 2,38 ^b	4,36 \pm 0,17 ^{ab}	1,34 \pm 0,13 ^{bc}
Gengibre 0,5%	10,09 \pm 0,58 ^a	18,05 \pm 1,72 ^{bc}	4,27 \pm 0,18 ^{ab}	1,39 \pm 0,08 ^{bc}
Gengibre 1,0%	9,71 \pm 0,58 ^{ab}	15,88 \pm 2,71 ^{bcd}	4,05 \pm 0,22 ^{bc}	1,47 \pm 0,21 ^{bc}
Gengibre 1,5%	9,06 \pm 1,18 ^b	12,54 \pm 2,87 ^d	3,83 \pm 0,20 ^c	1,85 \pm 0,11 ^a
Alfavaca 0,5%	9,63 \pm 0,56 ^{ab}	22,88 \pm 1,51 ^a	4,61 \pm 0,11 ^a	1,21 \pm 0,09 ^c
Alfavaca 1,0%	9,68 \pm 0,69 ^{ab}	15,76 \pm 3,31 ^{bcd}	4,06 \pm 0,11 ^{bc}	1,48 \pm 0,13 ^{bc}
Alfavaca 1,5%	9,25 \pm 1,19 ^b	14,37 \pm 4,61 ^{cd}	3,97 \pm 0,14 ^{bc}	1,62 \pm 0,14 ^{ab}

TCE: taxa de crescimento específico; FCA: fator de conversão alimentar.

Letras distintas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos pelo teste de Tukey.

Com relação ao gengibre, os resultados diferem do encontrado por Nya e Austin (2009), que relataram aumento no ganho de peso, na taxa de crescimento específico e melhoria na conversão alimentar em truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) suplementadas com gengibre em pó a concentrações entre 0,05% e 1,0%. Esturjões (*Huso huso*), cuja dieta foi suplementada com gengibre em pó a 1%, também não apresentaram diferenças no desempenho de crescimento e eficiência alimentar (KANANI et al., 2014). As concentrações de 0,5% e 1,0% não produziram vantagens em relação ao controle, e os prejuízos observados nos peixes tratados com gengibre a 1,5% possivelmente estão relacionados à toxicidade da alta concentração.

A suplementação com óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) incrementou a eficiência alimentar e o ganho de peso, sendo 0,5% a concentração mais próxima da ideal, pois as mais altas não produziram esse efeito. Ainda não há estudos prévios que verifiquem os efeitos da suplementação dietária com extratos de alfavaca-cravo sobre o desempenho zootécnico em peixes, porém resultado semelhante foi observado por Sivaram et al. (2004), que, após suplementar garoupas (*Epinephelus tauvina*) com extrato metanólico de manjerição-santo (*Ocimum sanctum*) por 12 semanas, verificaram incremento significativo na taxa de crescimento específico e na conversão alimentar.

Após 35 dias de suplementação (Tabela 3), observou-se diferença significativa no hematócrito e na concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). No hematócrito, nenhum dos tratamentos suplementados diferiu significativamente do controle, porém o tratamento com gengibre a 0,5% proporcionou valores significativamente maiores do que o com alfavaca a 1,0%. Estudos prévios com truta-arco-íris (*O. mykiss*), robalo-asiático (*Lates calcarifer*) e esturjão (*Huso huso*) mostraram aumento nos valores de hematócrito em peixes suplementados com gengibre, coincidindo com a tendência a aumento mostrada pelo tratamento gengibre 0,5% (NYA; AUSTIN, 2009; TALPUR et al., 2013; KANANI et al., 2014).

A CHCM mostrou comportamento exatamente inverso ao do hematócrito, tendo o gengibre 0,5% proporcionado valores mais baixos e a alfavaca 1,5%, valores mais altos, porém nenhum tratamento diferiu do controle. Essa relação inversa entre CHCM e o hematócrito deve-se à inserção do hematócrito como denominador na fórmula de cálculo do CHCM. Considerando que os valores de hemoglobina foram semelhantes em todos os tratamentos, as diferenças significativas no CHCM devem-se às diferenças no hematócrito entre os tratamentos.

Em relação à contagem de leucócitos, houve diferença significativa nos valores de neutrófilos. Nenhum dos tratamentos suplementados foi significativamente diferente do controle, porém os animais alimentados com alfavaca 1,0%, que teve a maior média de neutrófilos,

diferiram dos alimentados com alfavaca 0,5% e gengibre 1,0%, que apresentaram os menores valores. Os alimentados com alfavaca 1,0% apresentaram menores valores de hematócrito, sendo possível supor que essa redução seja devido a um desvio de energia para a produção de células de defesa, neste caso, os neutrófilos. Adel et al. (2015) também observaram aumento significativo dos neutrófilos no ciprinídeo *Rutilus frisii kutum* após suplementação dietária com hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), afirmando que houve estímulo da resposta imune inata. Os demais parâmetros hematológicos não mostraram diferença significativa após 35 dias de suplementação (Tabela 3).

Após 55 dias de suplementação (Tabela 4), os valores de eritrócitos nos peixes alimentados com gengibre 1,5% mostraram-se mais baixos, enquanto os demais não diferiram do controle. Quanto ao hematócrito, os alimentados com gengibre a 0,5% não apresentaram diferença do controle, sendo os demais significativamente mais baixos. Novamente, os peixes alimentados com gengibre a 1,5% apresentaram valores mais baixos do que todos os demais. A redução simultânea nos valores de eritrócitos e hematócrito indica um quadro de anemia nesse tratamento. Gabor et al. (2012), ao suplementar a dieta da carpa-comum (*Cyprinus carpio*) com 1% de gengibre em pó por 93 dias, também relataram anemia caracterizada por redução do hematócrito e do número de eritrócitos, o que pode ser devido ao consumo prolongado dessa dieta. No presente estudo, o período de suplementação foi menor (55 dias), porém a concentração que causou esses efeitos foi mais alta. Desta forma, supõe-se que é necessário ajustar a dose ao período de fornecimento, para evitar efeitos tóxicos causados pelo excesso.

A suplementação dietária com gengibre em pó para robalo-asiático (*L. calcarifer*), truta-arco-íris (*O. mykiss*) e esturjão (*H. huso*) proporcionou aumento no hematócrito, contrariando o presente resultado (TALPUR et al., 2013; KANANI et al., 2014). Essa discrepância possivelmente é devido à concentração dos princípios ativos, que nos óleos essenciais é muito maior do que no gengibre em pó, sendo que concentrações acima de certo limite podem ter efeitos prejudiciais ao organismo.

Tabela 3. Médias \pm desvio padrão dos parâmetros hematológicos: número de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteína plasmática total (PPT) e contagem total e diferencial de leucócitos após 35 dias de suplementação.

Parâmetros	Controle			Gengibre			Alfavaca		
	0%	0,5%	1,0%	0,5%	1,0%	1,5%	0,5%	1,0%	1,5%
Eritrócitos ($\times 10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	2,0 \pm 0,3	1,8 \pm 0,4	1,8 \pm 0,5	1,8 \pm 0,4	1,6 \pm 0,4	1,6 \pm 0,4	1,8 \pm 0,4	1,7 \pm 0,5	1,9 \pm 0,4
Hematócrito (%)	28,6 \pm 5,8 ^{ab}	32,8 \pm 5,3 ^a	29,4 \pm 7,7 ^{ab}	27,1 \pm 5,3 ^{ab}	27,1 \pm 5,3 ^{ab}	27,1 \pm 5,3 ^{ab}	28,8 \pm 8,5 ^{ab}	25,4 \pm 6,6 ^b	26,2 \pm 6,5 ^{ab}
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	8,0 \pm 0,8	8,0 \pm 0,9	7,6 \pm 1,4	7,6 \pm 0,8	7,6 \pm 0,8	7,6 \pm 0,8	7,8 \pm 1,1	7,7 \pm 1,1	8,1 \pm 1,0
VCM (fL)	144,0 \pm 35,7	183,5 \pm 42,3	170,6 \pm 50,9	177,5 \pm 59,6	177,5 \pm 59,6	177,5 \pm 59,6	164,0 \pm 52,3	158,5 \pm 80,6	137,0 \pm 46,7
CHCM (g.dL ⁻¹)	29,3 \pm 6,9 ^{ab}	24,9 \pm 3,9 ^b	27,3 \pm 7,4 ^{ab}	29,5 \pm 7,7 ^{ab}	29,5 \pm 7,7 ^{ab}	29,5 \pm 7,7 ^{ab}	28,7 \pm 6,9 ^{ab}	31,8 \pm 5,9 ^{ab}	32,4 \pm 7,1 ^a
PPT (g.dL ⁻¹)	6,6 \pm 0,5	6,4 \pm 0,5	6,6 \pm 0,5	6,5 \pm 0,4	6,5 \pm 0,4	6,5 \pm 0,4	6,9 \pm 1,0	6,6 \pm 0,5	7,0 \pm 0,8
Leucócitos totais ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	41,1 \pm 11,9	39,6 \pm 19,8	39,2 \pm 14,5	47,0 \pm 14,9	47,0 \pm 14,9	47,0 \pm 14,9	52,8 \pm 17,2	48,4 \pm 24,8	48,3 \pm 22,0
Trombócitos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	29,6 \pm 14,7	24,0 \pm 9,2	23,6 \pm 3,5	30,8 \pm 18,1	30,8 \pm 18,1	30,8 \pm 18,1	36,1 \pm 21,4	36,0 \pm 16,4	26,2 \pm 8,7
Linfócitos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	37,1 \pm 10,4	36,4 \pm 18,3	37,2 \pm 14,1	44,3 \pm 14,5	44,3 \pm 14,5	44,3 \pm 14,5	51,0 \pm 16,4	43,5 \pm 24,4	44,4 \pm 20,6
Neutrófilos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	2,5 \pm 1,6 ^{ab}	1,8 \pm 1,5 ^{ab}	1,2 \pm 0,8 ^b	2,2 \pm 3,3 ^{ab}	2,2 \pm 3,3 ^{ab}	2,2 \pm 3,3 ^{ab}	1,2 \pm 1,5 ^b	4,1 \pm 2,1 ^a	2,9 \pm 2,2 ^{ab}
Monócitos ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	1,1 \pm 0,9	1,2 \pm 1,3	0,7 \pm 0,4	0,3 \pm 0,3	0,3 \pm 0,3	0,3 \pm 0,3	0,5 \pm 0,5	0,6 \pm 0,9	0,8 \pm 1,0

Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 4. Médias \pm desvio padrão dos parâmetros hematológicos: número de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteína plasmática total (PPT) e contagem total e diferencial de leucócitos após 55 dias de suplementação.

Parâmetros	Controle			Gengibre			Alfavaca		
	0%	0,5%	1,0%	1,0%	1,5%	1,5%	0,5%	1,0%	1,5%
Eritrócitos ($\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$)	2,1 \pm 0,4 ^a	1,9 \pm 0,4 ^{ab}	1,6 \pm 0,7 ^{ab}	1,6 \pm 0,7 ^{ab}	1,3 \pm 0,5 ^b	1,3 \pm 0,5 ^b	1,5 \pm 0,7 ^{ab}	1,8 \pm 0,5 ^{ab}	1,8 \pm 0,3 ^{ab}
Hematócrito (%)	29,2 \pm 5,9 ^a	24,4 \pm 0 ^{abc}	23,2 \pm 5,8 ^{bc}	23,2 \pm 5,8 ^{bc}	18,9 \pm 6,0 ^c	18,9 \pm 6,0 ^c	19,8 \pm 4,4 ^{bc}	25,6 \pm 4,7 ^{bc}	21,9 \pm 6,4 ^{bc}
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	7,1 \pm 0,8 ^a	6,2 \pm 0,7 ^{abc}	5,8 \pm 1,2 ^{bcd}	5,8 \pm 1,2 ^{bcd}	4,9 \pm 1,3 ^d	4,9 \pm 1,3 ^d	5,5 \pm 1,0 ^{cd}	6,9 \pm 1,1 ^{ab}	6,1 \pm 1,0 ^{bc}
VCM (fl)	140,4 \pm 31,8	135,7 \pm 46,0	186,0 \pm 118	186,0 \pm 118	197,3 \pm 152	197,3 \pm 152	201,6 \pm 230	155,0 \pm 82,2	119,1 \pm 22,7
CHCM (g.dL ⁻¹)	25,0 \pm 24,0	26,3 \pm 26,1	26,0 \pm 24,4	26,0 \pm 24,4	26,6 \pm 26,0	26,6 \pm 26,0	28,0 \pm 27,9	27,6 \pm 26,4	29,9 \pm 28,4
PPT (g.dL ⁻¹)	6,9 \pm 0,5	6,9 \pm 0,6	7,0 \pm 0,6	7,0 \pm 0,6	6,9 \pm 0,4	6,9 \pm 0,4	6,7 \pm 0,5	6,7 \pm 0,6	7,0 \pm 0,6
Leuc. totais ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	55,4 \pm 15,8	35,3 \pm 16,6	53,0 \pm 19,1	53,0 \pm 19,1	31,4 \pm 17,4	31,4 \pm 17,4	41,6 \pm 25,6	59,4 \pm 17,4	35,6 \pm 8,7
Trombócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	46,1 \pm 29,7	27,4 \pm 14,5	20,1 \pm 8,4	20,1 \pm 8,4	14,3 \pm 4,9	14,3 \pm 4,9	21,3 \pm 9,7	44,4 \pm 20,2	28,4 \pm 18,4
Linfócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	52,0 \pm 16,5	33,6 \pm 15,9	48,0 \pm 18,1	48,0 \pm 18,1	30,1 \pm 16,8	30,1 \pm 16,8	39,4 \pm 24,5	55,2 \pm 18,4	31,3 \pm 12,0
Neutrófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	1,9 \pm 1,6 ^{ab}	0,8 \pm 0,9 ^b	3,1 \pm 1,6 ^a	3,1 \pm 1,6 ^a	0,6 \pm 0,5 ^b	0,6 \pm 0,5 ^b	1,4 \pm 1,3 ^{ab}	2,5 \pm 0,3 ^{ab}	3,0 \pm 4,0 ^{ab}
Monócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	1,2 \pm 0,4	0,8 \pm 1,1	1,9 \pm 2,4	1,9 \pm 2,4	0,6 \pm 0,3	0,6 \pm 0,3	0,8 \pm 0,5	1,6 \pm 0,8	1,2 \pm 0,9

Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

As concentrações de hemoglobina nos peixes alimentados com gengibre a 0,5% e alfavaca a 1,0% foram as únicas que não diferiram do controle, sendo que os demais tratamentos apresentaram valores mais baixos. Assim como ocorreu no hematócrito e eritrócitos, os peixes tratados com gengibre a 1,5% apresentaram valores de hemoglobina mais baixos do que todos os demais. A redução de valores da série vermelha é mais um indício de toxicidade nesse tratamento. Na contagem diferencial de leucócitos, a única diferença significativa entre os tratamentos foi no número de neutrófilos, o qual foi mais alto nos peixes alimentados com gengibre a 1,0% do que em gengibre 1,5%, porém nenhum dos tratamentos diferiu do controle. Essa tendência a aumento nos neutrófilos nos peixes tratados com gengibre a 0,5% pode ser justificada pela estimulação da resposta imune inata, pelo aumento da produção de neutrófilos. Nya e Austin (2009), ao suplementar a dieta de truta-arco-íris com gengibre em pó, também observaram incremento nos neutrófilos, reforçando essa hipótese. Os demais parâmetros não mostraram diferença significativa aos 55 dias de suplementação.

Dez dias após a infecção experimental com *S. agalactiae* nenhum dos parâmetros hematológicos relativos à série vermelha mostrou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 5). Porém, os tratamentos proporcionaram diferença significativa nos leucócitos totais, trombócitos, linfócitos e neutrófilos. Nos leucócitos totais, os tratamentos gengibre 1,0%, gengibre 1,5% e alfavaca 0,5% diferiram do controle, apresentando valores significativamente mais baixos. É possível que esses tratamentos tenham estimulado a migração de leucócitos para os focos da infecção. Porém, Alsaid et al. (2015) observaram aumento dos leucócitos totais em tilápias híbridas (*Oreochromis* sp.) infectadas com *S. agalactiae*, concluindo que, em infecções bacterianas, essa é uma resposta natural de defesa inata induzida pela presença do patógeno. É possível que tenha havido esse aumento somente no controle e nos tratamentos semelhantes (gengibre 0,5%, alfavaca 1,0% e alfavaca 1,5%).

Tabela 5. Médias \pm desvio padrão dos parâmetros hematológicos: número de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteína plasmática total (PPT) e contagem total e diferencial de leucócitos aos dez dias após infecção experimental com *Streptococcus agalactiae*.

Parâmetros	Controle			Gengibre			Alfavaca		
	0%	0,5%	1,0%	1,0%	1,5%	1,5%	0,5%	1,0%	1,5%
Eritrócitos (x10 ⁶ . μ L ⁻¹)	1,7 \pm 0,4	1,8 \pm 0,7	1,4 \pm 0,3	1,4 \pm 0,3	1,5 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	1,5 \pm 0,3	1,6 \pm 0,3	1,5 \pm 0,3
Hematócrito (%)	25,1 \pm 5,4	25,0 \pm 13,6	19,6 \pm 2,3	19,6 \pm 2,3	24,8 \pm 7,0	24,8 \pm 7,0	19,7 \pm 6,0	29,1 \pm 14,4	28,3 \pm 15,8
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	7,8 \pm 0,9	7,5 \pm 1,1	6,8 \pm 1,1	6,8 \pm 1,1	7,9 \pm 0,7	7,9 \pm 0,7	7,6 \pm 0,7	7,8 \pm 0,6	7,9 \pm 0,8
VCM (fL)	151,8 \pm 21,1	145,5 \pm 69,9	146,7 \pm 40,8	146,7 \pm 40,8	163,4 \pm 41,8	163,4 \pm 41,8	130,7 \pm 35,7	194,8 \pm 141	172,2 \pm 75,4
CHCM (g.dL ⁻¹)	31,9 \pm 4,9	35,6 \pm 12,1	35,0 \pm 5,1	35,0 \pm 5,1	34,9 \pm 12,3	34,9 \pm 12,3	41,4 \pm 11,4	33,2 \pm 18,1	34,1 \pm 14,0
PPT (g.dL ⁻¹)	6,4 \pm 0,8	6,1 \pm 0,3	6,2 \pm 0,3	6,2 \pm 0,3	5,7 \pm 0,7	5,7 \pm 0,7	6,3 \pm 1,5	6,2 \pm 0,8	6,7 \pm 0,8
Leuc. Totais (x10 ³ . μ L ⁻¹)	51,8 \pm 15,1 ^a	56,1 \pm 23,6 ^a	22,8 \pm 22,7 ^c	22,8 \pm 22,7 ^c	29,5 \pm 12,2 ^{bc}	29,5 \pm 12,2 ^{bc}	30,3 \pm 13,7 ^{bc}	47,5 \pm 3,6 ^{ab}	31,4 \pm 13,8 ^{abc}
Trombócitos (x10 ³ . μ L ⁻¹)	21,4 \pm 8,5 ^a	22,3 \pm 17,5 ^a	6,5 \pm 4,9 ^b	6,5 \pm 4,9 ^b	17,7 \pm 14,9 ^{ab}	17,7 \pm 14,9 ^{ab}	20,4 \pm 10,3 ^a	25,2 \pm 13,2 ^a	17,6 \pm 10,4 ^{ab}
Linfócitos (x10 ³ . μ L ⁻¹)	47,0 \pm 13,8 ^{ab}	53,4 \pm 23,8 ^a	20,5 \pm 19,6 ^d	20,5 \pm 19,6 ^d	27,2 \pm 11,7 ^{cd}	27,2 \pm 11,7 ^{cd}	27,7 \pm 12,4 ^{cd}	43,0 \pm 3,5 ^{abc}	28,7 \pm 13,9 ^{bcd}
Neutrófilos (x10 ³ . μ L ⁻¹)	4,2 \pm 1,3 ^a	1,7 \pm 1,27 ^b	1,6 \pm 1,9 ^b	1,6 \pm 1,9 ^b	1,5 \pm 0,8 ^b	1,5 \pm 0,8 ^b	2,3 \pm 1,9 ^b	4,4 \pm 0,5 ^a	2,1 \pm 0,8 ^b
Monócitos (x10 ³ . μ L ⁻¹)	0,5 \pm 0,8	0,9 \pm 1,0	0,5 \pm 1,1	0,5 \pm 1,1	0,7 \pm 0,7	0,7 \pm 0,7	0,3 \pm 0,5	0,1 \pm 0,3	0,5 \pm 0,6

Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Quanto aos trombócitos, somente o tratamento gengibre 1,5% foi significativamente mais baixo, sendo os demais tratamentos similares ao controle. Nya e Austin (2009) relatam que a suplementação dietária com gengibre não proporcionou diferença na contagem de trombócitos no sangue de truta-arco-íris (*O. mykiss*), portanto a redução no tratamento gengibre 1,5% possivelmente é mais uma evidência da toxicidade dessa dose.

As médias de linfócitos foram mais baixas do que no controle nos peixes alimentados com gengibre a 1,0% e 1,5% e alfavaca a 0,5% e 1,5%. Barroso et al. (2014) também observaram redução nos linfócitos em linguado (*Solea senegalensis*) alimentado com probióticos e desafiado com *Photobacterium damsela* var. *piscicida*. Os autores sugeriram que o aditivo pode ter estimulado a migração de linfócitos em direção aos locais onde estariam concentradas as bactérias, com o objetivo de liberar anticorpos. Essa hipótese é baseada no estudo de Santos et al. (2001), que observaram essas células secretando anticorpos no tecido branquial de robalo-europeu (*Dicentrarchus labrax*) após imersão em solução contendo bacterina de *Photobacterium damsela* var. *piscicida*.

O número de neutrófilos foi similar ao controle somente nos alimentados com alfavaca 1,0%, sendo significativamente mais baixo nos demais tratamentos (Tabela 5). Pode-se supor que os óleos essenciais tenham proporcionado maior migração de neutrófilos para os tecidos injuriados pela infecção, o que reduz sua quantidade no sangue (SECOMBES; FLETCHER, 1992). O tratamento alfavaca 1,0% foi o único a não mostrar redução significativa em relação ao controle, possivelmente porque neste havia anteriormente maior quantidade de neutrófilos no sangue, conforme resultados das coletas anteriores.

Em relação ao percentual de fagocitose (Tabela 6), aos 35 dias de suplementação, o único tratamento que não diferiu do controle foi o gengibre 1,5%, tendo os demais tratamentos apresentado percentuais significativamente maiores. Esses mesmos resultados foram observados aos 55 dias de suplementação. Ambos os óleos proporcionaram

aumento da atividade fagocitária, com exceção do tratamento gengibre 1,5%, ao qual podem ser atribuídos efeitos prejudiciais devido à alta concentração. Em razão da característica altamente imunestimulante do gengibre (DUGENCI et al., 2003), também é possível que a dieta 1,5% por 55 dias tenha causado esgotamento dos mecanismos de defesa, devido a uma ativação intensa e excessivamente prolongada. Desta forma, é possível concluir que a suplementação com óleos essenciais proporcionou aumento na capacidade fagocitária em quase todos os tratamentos, com exceção do gengibre 1,5%, cuja alta concentração possivelmente causou efeitos negativos ao organismo. Em estudo com truta-arco-íris (*O. mykiss*), a suplementação dietária com 0,1% e 1% de gengibre em pó por três semanas proporcionou incremento da atividade fagocitária no sangue, corroborando o presente resultado (DUGENCI et al., 2003).

Com relação à concentração de proteína sérica total, imunoglobulinas e título aglutinante do soro, não houve diferença significativa entre os tratamentos, tanto em 35 quanto em 55 dias de suplementação (Tabela 6). A determinação da concentração de proteína total no soro é de grande importância clínica, pois sua concentração plasmática é responsável pela pressão coloidosmótica do plasma (MELO et al., 2009). A proteína total é alterada principalmente por mudanças no volume plasmático, causadas por desequilíbrio osmótico entre os compartimentos extracelular e intracelular, e qualquer estresse que induza tal desequilíbrio pode alterar os valores de proteína no plasma (MELO et al., 2009). A similaridade dos peixes tratados com os do controle indica que, mesmo nas concentrações mais altas, os tratamentos não prejudicaram o equilíbrio osmótico do plasma.

O processo de aglutinação de patógenos é um importante mecanismo de defesa na resposta imune dos peixes teleósteos, realizado por moléculas presentes no soro sanguíneo. A maior capacidade de aglutinação é das imunoglobulinas, proteínas que possuem ação mais específica aos antígenos, sendo produzidas pelos linfócitos B (SWAIN et al., 2006). Assim, como não houve diferença significativa nas imunoglobulinas, por consequência a capacidade de aglutinação do soro também permaneceu inalterada.

Tabela 6. Taxa de fagocitose dos leucócitos e parâmetros imunológicos do soro e aos 35 e 55 dias de suplementação. Em ambas as ocasiões não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$).

Tratamentos	Fagocitose (%)		Proteína sérica total (mg.mL ⁻¹)		Imunoglobulinas (mg.mL ⁻¹)		Título aglutinante (log ₂ (x + 1))	
	35 dias	55 dias	35 dias	55 dias	35 dias	55 dias	35 dias	55 dias
Controle	7,2 ± 1,7 ^c	8,0 ± 4,0 ^c	48,9 ± 9,9	51,1 ± 17,6	27,7 ± 2,6	33,4 ± 12,3	0,9 ± 0,3	0,7 ± 0,2
Gengibre 0,5%	35,3 ± 16,4 ^b	35,0 ± 14,3 ^{ab}	59,3 ± 26,9	51,7 ± 10,2	36,2 ± 13,6	32,8 ± 10,2	0,9 ± 0,0	0,7 ± 0,0
Gengibre 1,0%	65,3 ± 5,2 ^a	53,3 ± 7,6 ^a	55,4 ± 5,0	42,7 ± 6,4	36,5 ± 1,4	29,9 ± 5,9	0,9 ± 0,0	0,7 ± 0,0
Gengibre 1,5%	28,1 ± 3,4 ^{bc}	20,6 ± 3,2 ^{bc}	44,7 ± 4,8	42,4 ± 1,7	24,5 ± 8,8	26,6 ± 1,6	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1
Alfavaca 0,5%	40,1 ± 13,3 ^{ab}	43,6 ± 10,7 ^{ab}	45,0 ± 13,1	37,8 ± 4,0	28,7 ± 10,3	24,6 ± 3,4	1,5 ± 0,8	0,7 ± 0,0
Alfavaca 1,0%	33,5 ± 18,4 ^b	30,3 ± 16,7 ^{ab}	55,6 ± 10,5	43,1 ± 4,3	37,4 ± 16,4	26,2 ± 2,1	1,2 ± 0,4	0,5 ± 0,1
Alfavaca 1,5%	28,3 ± 18,3 ^b	34,2 ± 25,2 ^{ab}	52,3 ± 10,1	44,1 ± 5,3	33,7 ± 6,5	28,3 ± 3,4	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,1

Na ausência de infecção, a falta de alterações nos parâmetros imunológicos é positiva, pois um aspecto importante a se considerar na escolha de um composto imunomodulador é que ele não mantenha os mecanismos de defesa constantemente ativados sem necessidade (DOTTA et al., 2015). Isso teria alto custo energético para os animais, prejudicando o crescimento e desenvolvimento, além de que muitas substâncias de defesa são altamente tóxicas e líticas, podendo causar danos ao próprio animal. O ideal é que o composto imunomodulador proporcione resposta imune intensa somente nas ocasiões em que for de fato necessário, como no presente estudo, no qual peixes cuja dieta foi suplementada com óleos essenciais apresentaram melhor resultado na presença da bactéria patogênica *S. agalactiae*, tanto in vitro (sangue misturado às bactérias no teste de percentual de fagocitose) quanto in vivo (infecção experimental).

Após a infecção, em todos os tratamentos foram observados peixes com sinais clínicos característicos da infecção por *S. agalactiae*, como manchas no tegumento, pontos hemorrágicos, natação errática, ascite e anorexia. A partir do primeiro dia após o desafio, a maior parte dos peixes cessou a alimentação. Somente alguns peixes, em tanques correspondentes aos tratamentos gengibre 0,5%, alfavaca 1,0% e alfavaca 1,5%, continuaram se alimentando durante o período de monitoramento pós-infecção. A infecção foi confirmada por reisolamento da bactéria a partir de fragmentos do fígado e do encéfalo. De modo geral, as taxas de mortalidade foram baixas (abaixo de 5%), sendo que apenas o tratamento gengibre 0,5% apresentou valor mais baixo do que o controle. Esse resultado coincide com o registrado por Nya e Austin (2009), que observaram drástica redução na mortalidade de trutas-arco-íris suplementadas com gengibre em pó, após infecção experimental com *Aeromonas hydrophila*.

De modo geral, foi possível obter melhorias no crescimento e na conversão alimentar com a adição de óleo essencial de alfavaca-cravo a 0,5% na dieta. Os parâmetros hematológicos e a atividade fagocitária in vitro demonstram que os óleos essenciais de alfavaca-cravo e

gengibre na dieta intensificaram a resposta imune contra *S. agalactiae*, patógeno responsável por grandes perdas na tilapicultura.

Tabela 7. Mortalidade e porcentagem relativa de sobrevivência (PRS) em tilápias-do-nylo dez dias após desafio com *Streptococcus agalactiae*.

Tratamento	Mortalidade (%) ^{NS}	PRS (%) ^{NS}
Controle	2,86	-
Gengibre 0,5%	0,00	100
Gengibre 1,0%	3,81	-33,22
Gengibre 1,5%	5,71	-99,65
Alfavaca-cravo 0,5%	3,81	-33,22
Alfavaca-cravo 1,0%	4,76	-66,43
Alfavaca-cravo 1,5%	5,00	-74,83

Considerações finais

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que é possível incrementar o crescimento e a resistência à infecção por *S. agalactiae* em juvenis de tilápias-do-nylo por meio da administração de óleos essenciais na dieta, porém a obtenção desses efeitos depende crucialmente da dose utilizada. Em relação aos parâmetros analisados no presente estudo, os melhores resultados foram obtidos com o óleo essencial de alfavaca-cravo a 0,5% na dieta. As doses de 1,5% produziram resultados indesejáveis, portanto é possível que este seja um valor próximo dos limites de toxicidade desses óleos para larvas e juvenis de tilápia. Futuros experimentos precisam ser conduzidos para avaliar os efeitos de concentrações intermediárias às aqui utilizadas.

Este resultado fornece subsídios para a substituição do uso de quimioterápicos no tratamento de doenças infecciosas por produtos naturais na prevenção da manifestação dessas enfermidades. Espera-se que os óleos essenciais testados sirvam como alternativa aos produtos sintéticos convencionalmente utilizados, que apresentam diversas desvantagens econômicas e ambientais.

Referências

- ADEL, M.; AMIN, A. A.; ZORRIEHZAHRA, J.; NEMATOLAH, A.; ESTEBAN, M. A. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 45, n. 2, p. 841-847, 2015.
- ALSAID, M.; ABUSELIANA, A. F.; DAUD, H. H.; MUSTAPHA, N. M.; BEJO, S. K.; ABDELHADI, Y. M.; HAMDAN, R. H. Haematological, biochemical and clinical signs changes following experimental infection of *Streptococcus agalactiae* in red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.). **Basic Research Journal of Agricultural Science and Review**, v. 4, n. 9, p. 289-285, 2015.
- AMEND, D. Potency testing of fish vaccines. **Developments in Biological Standardization**, v. 49, p. 447-454, 1981.
- ANYANWU, D. C.; ORUSHA, J. O.; OFFOR, J. I. Effects of *Ocimum gratissimum* leaf meal on carcass composition and quality of *Claria gariepinus*. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 6, n. 11, 532-535, 2012.

BARROSO, C.; OZÓRIO, R. O. A.; AFONSO, A.; MORAES, J. R. E.; COSTAS, B. Immune responses and gut morphology in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fed dietary probiotic supplementation and following exposure to *Photobacterium damsela* subsp. piscicida. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 3, p. 951-960, 2014.

CHAGAS, E. C.; MAJOLO, C.; BOIJINK, C. L.; CHAVES, F. C. M.; HASHIMOTO, G. S. O.; FIGUEREDO, A. B.; MARTINS, M. L. Uso de óleos essenciais e extratos no tratamento de enfermidades de peixes. In: MADI, R. R.; CAMPOS, C. M.; LIZAMA, M. L. P.; TAKEMOTO, R. M. **Patologia e sanidade em ambientes aquáticos**. Maringá: Massoni, 2014. p. 269-294.

CHEN, M.; LI, L. P.; WANG, R.; LIANG, W. W.; HUANG, Y.; LI, J.; LEI, A. Y.; HUANG, W. Y.; GAN, X. PCR detection and PFGE genotype analyses of streptococcal clinical isolates from tilapia in China. **Veterinary Microbiology**, v. 159, p. 526-530, 2012.

COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; SOUZA, C. S.; RIBEIRO, F. L. B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 7, p. 1209-1211, 2006.

DAIRIKI, J. K.; MAJOLO, C.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; OLIVEIRA, M. R. de; MORAIS, I. da S. de. **Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixes**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2013. 8 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Circular técnica, 42). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/100643/1/Circ-Tec-42.pdf>>. Acesso em: 7 dez. 2017.

DOTTA, G.; BRUM, A.; JERÔNIMO, G. T.; MARASCHIN, M.; MARTINS, M. L. Effect of dietary supplementation with propolis and *Aloe barbadensis* extracts on hematological parameters and parasitism in Nile tilapia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 66-71, 2015.

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

EVANS, J. J.; KLESIUS, P. H.; PASNIK, D. J.; BOHNSACK, J. F. Human *Streptococcus agalactiae* isolate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 15, n. 5, p. 774-746, 2009.

FU, C.; CUI, Y.; HUNG, S. S. O.; ZHU, Z. Growth and feed utilization by F4 human growth hormone transgenic carp fed diets with different protein levels. **Journal of Fish Biology**, v. 53, p. 115-129, 1998.

GABOR, E.; AUREL, S.; BENTEÁ, M.; MALDARASANU, T.; ARION, A. The effects of some phytoadditives on growth performances and blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) L. juveniles. **Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies**, v. 69, p. 1-2, 2012.

HANIFFA, M. A.; KAVITHA, K. Antibacterial activity of medicinal herbs against the fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. **Journal of Agricultural Technology**, v. 8, n. 1, p. 205-211, 2012.

KANANI, H. G.; NOBAHAR, Z.; KAKOOLAKI, S.; JAFARIAN, H. Effect of ginger- and garlic-supplemented diet on growth performance, some hematological parameters and immune responses in juvenile *Huso huso*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 481-490, 2014.

KOTZEKIDOU, P.; GIANNAKIDS, P.; BOULAMATSIS, A. Antimicrobial activity of some plants extracts and essential oils against foodborne pathogens in vitro and on the fate of inoculated pathogens in chocolate. **Food Science and Technology**, London, v. 41, p. 119-127, 2007.

MELO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; MELO, M. M.; JUNIOR, D. V.; TEIXEIRA, E. A.; GUIMARÃES, S. R. Proteic electrophoretic profile of chitralada tilapia nilotic (*Oreochromis niloticus*), exposed to hypoxia chronic stress. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1183-1190, 2009.

MSD ANIMAL HEALTH. **Technical bulletin:** Streptococcus in the tilapia environment. 2012. Disponível em: <http://aqua.merck-animal-health.com/binaries/AquaVac_StreSa_tech01_0Nov12_050STREP_tcm56-35564.pdf> Acesso em: 25 nov. 2017.

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

ORAFIDIYA, L. O.; OYEDELE, A. O.; SHITTU, A. O.; ELUJOBA, A. A. The formulation of an effective topical antibacterial product containing *Ocimum gratissimum* leaf essential oil. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 224, p. 177-183, 2001.

REIS, M. S.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2004. p. 41-62.

RIBEIRO, A. S.; BATISTA, E. dos S.; DAIRIKI, J. K.; CHAVES, F. C. M.; INOUE, L. A. K. A. Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrinxã. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 1-7, jan.-mar. 2016.

SANTOS, M. M.; TAVERNE-THIELE, J. J.; BARNES, A. C.; VAN MUISWINKEL, W. B.; ELLIS, A. E.; ROMBOUT, J. H. The gill is a major organ for antibody secreting cell production following direct immersion of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in a *Photobacterium damsela* ssp. piscicida bacterin: an ontogenetic study. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 11, p. 65-74, 2001.

SECOMBES, C. J.; FLETCHER, T. C. The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 2, p. 53-71, 1992.

SILVA, L. L.; PARODI, T. V.; RECKZIEGEL, P.; GARCIA, V. D. O.; BÜRGER, M. E.; BALDISSEROTTO, B.; MALMANN, C. A.; PEREIRA, A. M. S.; HEINZMANN, B. R. 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.

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

SWAIN, P.; SAHOO, P. K.; AYYAPAN, S. **Fish & shellfish immunology: an introduction**. Delhi: Narendra Publishing House, 2006. 296 p.

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

WOHLMUTH, H.; SMITH, M. K.; BROOKS, L. O.; MYERS, S. P.; LEACH, D. N. Essential oil composition of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) grown in Australia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1414-1419, 2006.

YANG, Y.; WANG, Q.; DIARRA, M. S.; YU, H.; HUA, Y.; GONG, J. Functional assessment of encapsulated citral for controlling necrotic enteritis in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 95, n. 4, p. 780-789, 2016.

ZHANG, Q.; XU, D. H.; KLESIUS, P. H. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. **Veterinary Parasitology**, v. 198, p. 45-53, 2013.

Divulgação e acabamento
Embrapa Amazônia Ocidental



Amazônia Ocidental

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 14317