



OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL

8 TRABALHO DECENTE
E CRESCIMENTO
ECONÔMICO



COMUNICADO
TÉCNICO

164

Macapá, AP
Dezembro, 2022

Embrapa

Estudo da atividade anti-helmíntica in vitro de oleorresina de copaíba contra monogenéticos de tambaqui

Marcos Tavares-Dias
Dayna Filocreão Malheiros

Estudo da atividade anti-helmíntica in vitro de oleorresina de copaíba contra monogenéticos de tambaqui¹

¹ Marcos Tavares-Dias, Biólogo, doutor em Aquicultura de Águas Continentais, pesquisador da Embrapa Amapá, Macapá, AP. Dayna Filocreão Malheiros, Bióloga, mestre em Biodiversidade Tropical, doutoranda em Biodiversidade Tropical, Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP.

Introdução

Monogenea são ectoparasitos encontrados principalmente nas brânquias e na superfície corporal dos peixes hospedeiros (Alves et al., 2019; Barriga et al., 2020; Malheiros et al., 2020). Nos peixes, os parasitos monogenéticos podem provocar reações infecciosas quando em elevado parasitismo. Nas brânquias, essas reações ao parasitismo podem variar com a abundância e espécies de parasitos, levando a hiperplasia celular, hipersecreção de muco, hemorragias e edemas nos filamentos branquiais e, ainda, podem favorecer a ocorrência de infecções secundárias causadas por bactérias (Martins; Romero, 1996; Tavares-Dias et al., 2021). Assim, os monogenéticos estão entre os mais importantes parasitos para a piscicultura. Como esses parasitos podem ser patogênicos, seu controle pode representar até 22% dos custos totais da produção de uma piscicultura (Forwood et al., 2013; Ernst et al., 2002).

Em peixes, a investigação da ação antiparasitária de agentes anti-helmínticos

pode ser feita usando ensaios in vitro, realizados em placa de Petri. Os ensaios in vivo podem ser conduzidos usando banhos terapêuticos ou adição do fármaco na ração dos peixes (Tavares-Dias, 2018), para o tratamento das infecções parasitárias. Assim, usualmente, o que ocorre é a investigação prévia in vitro dos níveis de eficácia dos anti-helmínticos para posterior aplicação nos tratamentos com banhos terapêuticos (Sitjà-Bobadilla et al., 2006; Tavares-Dias, 2018).

Oleorresina de *Copaifera* spp. apresenta propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, gastroprotetora, antitumoral, antisséptica, antifúngica, tripanossomicida e larvicida (Veiga Júnior; Pinto, 2002; Santos et al., 2008; Heck et al., 2012; Guimarães et al., 2016; Trindade et al., 2018), devido à presença de vários sesquiterpenos e diterpenos em sua composição química (Leandro et al., 2012; Trindade et al., 2018). Além disso, oleorresina de copaíba (*Copaifera reticulata*) demonstrou atividade anti-helmíntica in vitro e in vivo contra monogenéticos das brânquias de tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Malheiros

et al., 2020, 2022). Como oleorresina de copaíba é usada também na preparação de uma variedade de produtos terapêuticos e cosméticos (Rigamonte-Azevedo et al., 2006; Trindade et al., 2018), pode ser encontrada em redes farmacêuticas.

O objetivo desta publicação foi descrever a metodologia para estudo da atividade anti-helmíntica *in vitro* de oleorresina de copaíba contra monogenéticos de tambaqui.

O trabalho aborda aspectos importantes do desenvolvimento da piscicultura de água doce, visando sustentar o crescimento econômico e expandir essa atividade produtiva na região amazônica, contribuindo para o alcance do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 8 – Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo e trabalho decente para todos.

Este teve aprovação da Comissão de Ética para o Uso de Animais da Embrapa Amapá (Protocolo: 013-CEUA/CPAFAP) e tem cadastro no Sisgen (ABAB016).

Materiais e métodos

Arcos branquiais de *C. macropomum* ($44,8 \pm 19,2$ g e $15,3 \pm 3,5$ cm) foram utilizados para avaliar o tempo de exposição e as concentrações de oleorresina de *C. reticulata* que podem causar mortalidade *in vitro* em espécimes de monogenéticos. Cada arco branquial de tambaqui, naturalmente parasitado por monogenéticos, foi individualizado em placa de Petri (5 cm de diâmetro) e imerso em diferentes

concentrações (200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L e 1000 mg/L) de oleorresina de copaíba, usando três repetições para cada concentração testada. Um grupo controle com água do tanque de cultivo foi usado e um outro grupo controle com água do tanque de cultivo + dimetilsulfóxido (DMSO), utilizado como solvente da oleorresina de copaíba. Oleorresina de copaíba deve ser diluída na proporção de 1:10 (1 g de óleo: 10 mL de DMSO).

Usando um estereomicroscópio (aumento 4x), campos de visão contendo em torno de 20 monogenéticos (Figura 1) foram selecionados em cada repetição, e, após a submersão dos arcos branquiais nas diferentes concentrações de copaíba, a cada 5 minutos foram realizadas visualizações para quantificar o número de monogenéticos vivos e mortos, até a mortalidade de 100%. Parasitos mortos foram considerados aqueles que

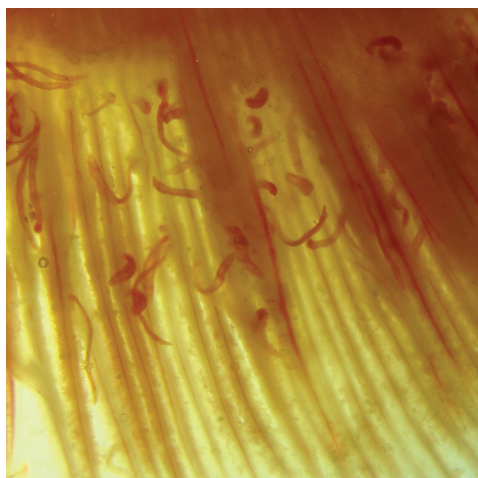


Foto: Marcos Tavares-Dias

Figura 1. Monogenéticos observados em estereomicroscópio com aumento de 4x.

se desprenderam do tecido branquial ou quando aderidos ao tecido branquial perderam totalmente a mobilidade (Soares et al., 2016). Em seguida, a eficácia de cada tratamento foi calculada usando a seguinte fórmula: $E (\%) = [B-T] \times 100\%/B$, em que E é a eficácia da oleorresina de copaíba, B é o número médio de monogenéticos sobrevivente no grupo controle com DMSO e T é o número médio de monogenéticos sobreviventes no grupo tratado com copaíba (Zhang et al., 2014).

Resultados

Os monogenéticos encontrados nos arcos branquiais pertencem a três espécies: *Anacanthorus spathulatus*, *Notozothecium janauachensis* e *Mymarothecium boegeri*. Esses parasitos foram encontrados vivos ou com movimentos lentos após 1 hora e 45 minutos de exposição nos grupos controle, com água do tanque de cultivo e água do tanque de cultivo + DMSO. No grupo controle com água do tanque, os parasitos tiveram 100% de mortalidade

após 8 horas de exposição e, no grupo controle com água do tanque de cultivo + DMSO, a mortalidade total (100%) ocorreu após 6 horas de exposição. Variação no tempo de mortalidade dos monogenéticos ocorreu para as concentrações de 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L e 1.000 mg/L de oleorresina de *C. reticulata*. Houve eficácia de 100% em todas as concentrações usadas, sendo que na maior concentração de oleorresina de copaíba (1.000 mg/L) ocorreu alta eficácia (97,2%) após 15 minutos de exposição dos parasitos (Tabela 1).

Concentrações *in vitro* de oleorresina de *C. reticulata* foram testadas, verificando-se que a maior concentração utilizada mostrou alta atividade anti-helmíntica, com eficácia maior que 97% depois de apenas 15 minutos de exposição dos parasitos. Porém, devem ser realizados testes de tolerância dos peixes a esses produtos naturais, pois a concentração ideal para eliminação dos parasitos pode não ser tolerada pelos peixes em banhos terapêuticos.

Tabela 1. Atividade anti-helmíntica *in vitro* de diferentes concentrações da oleorresina de *Copaifera reticulata* no controle de monogenéticos de brânquias de *Colossoma macropomum*.

Tempo de exposição	Concentrações (mg/L)	Parasitos vivos	Parasitos mortos (%)
0	Água do tanque	34,0 ± 14,2	0
	Água + DMSO (250 µL)	35,3 ± 17,0	0
	200 mg/L	29,7 ± 4,7	0
	400 mg/L	26,3 ± 3,2	0
	600 mg/L	21,7 ± 2,9	0
	800 mg/L	26,0 ± 2,6	0
	1.000 mg/L	25,0 ± 5,0	0

Continua

Continuação da Tabela 1

Tempo de exposição	Concentrações (mg/L)	Parasitas vivos	Parasitas mortos (%)
15 min	Água do tanque	34,0 ± 14,2	0
	Água + DMSO (250 µL)	35,3 ± 17,0	0
	200 mg/L	28,0 ± 5,0	5,7
	400 mg/L	25,0 ± 4,4	4,9
	600 mg/L	14,7 ± 11,1	32,2
	800 mg/L	9,3 ± 11,0	60,0
	1.000 mg/L	0,7 ± 1,2	97,2
30 min	Água do tanque	34,0 ± 14,2	0
	Água + DMSO (250 µL)	35,3 ± 17,0	0
	200 mg/L	24,3 ± 9,0	18,1
	400 mg/L	15,7 ± 13,2	40,3
	600 mg/L	0	100
	800 mg/L	0,3 ± 0,6	98,7
	1.000 mg/L	0	100
60 min	Água do tanque	33,7 ± 14,4	0,9
	Água + DMSO (250 µL)	31,3 ± 14,4	11,3
	200 mg/L	0,3 ± 0,6	98,9
	400 mg/L	0,7 ± 1,2	97,3
	600 mg/L	0	100
	800 mg/L	0	100
	1.000 mg/L	0	100
90 min	Água do tanque	32,3 ± 15,5	5,0
	Água + DMSO (250 µL)	24,0 ± 9,8	32,0
	200 mg/L	0	100
	400 mg/L	0	100
	600 mg/L	0	100
	800 mg/L	0	100
	1.000 mg/L	0	100
105 min	Água do tanque	31,3 ± 16,1	8,0
	Água + DMSO (250 µL)	24,0 ± 9,8	32,0
	200 mg/L	0	100
	400 mg/L	0	100
	600 mg/L	0	100
	800 mg/L	0	100
	1.000 mg/L	0	100

Referências

- ALVES, C. M. G.; NOGUEIRA, J. N.; BARRIGA, I. B.; SANTOS, J. R.; SANTOS, G. G.; TAVARES-DIAS, M. Albendazole, levamisole and ivermectin are effective against monogeneans of *Colossoma macropomum* (Pisces: Serrasalminidae). **Journal of Fish Diseases**, v. 42, n. 3, p. 405-412, 2019.
- BARRIGA, I. B.; GONZALES, A. P. P. F.; BRASILIENSE, A. R. P.; CASTRO, K. N. C.; TAVARES-DIAS, M. Essential oil of *Lippia grata* (Verbenaceae) is effective in the control of monogenean infections in *Colossoma macropomum* gills, a large Serrasalminidae fish from Amazon. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 9, p. 3804-3812, 2020.
- ERNST, I.; WHITTINGTON, I. D.; CORNEILLIE, S.; TALBOT, C. Monogenean Parasites in Sea-Cage Aquaculture. **Austasia Aquaculture**, v. 16, p. 46-48, Feb./Mar. 2002.
- FORWOOD, J. M.; HARRIS, J. O.; DEVENNEY, M. R. Efficacy of bath and orally administered praziquantel and fenbendazole against *Lepidotrem abidyana* Murray, a monogenean parasite of silver perch, *Bidyanus didyanus* (Mitchell). **Journal of Fish Diseases**, v. 36, n. 11, p. 939-947, 2013.
- GUIMARÃES, A. L. A.; CUNHA, E. A.; MATIAS, F. O.; GARCIA, P. G.; DANOPOULOS, P.; SWIKIDISA, R.; PINHEIRO, V. A.; NOGUEIRA, R. J. L. Antimicrobial activity of copaiba (*Copaifera officinalis*) and pracaxi (*Pentaclethra macroloba*) oils against *Staphylococcus aureus*: importance in compounding for wound care. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 20, n. 1, p. 58-62, Jan./Feb. 2016.
- HECK, M. C.; VIANA, L. A.; VICENTINI, V. E. P. Importância do óleo de *Copaifera* sp. (Copaíba). **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, p. 82-90, 2012.
- LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3866-3889, 2012.
- MALHEIROS, D. F.; SARQUIS, I. R.; FERREIRA, I. M.; MATHEWS, P. D.; OMAR, M.; TAVARES-DIAS, M. Nanoemulsions with oleoresin of *Copaifera reticulata* (Leguminosae) improve antihelmintic efficacy in the control of monogenean parasites when compared to oleoresin without nanoformulation. **Journal of Fish Diseases**, v. 43, n. 6, p. 687-695, 2020.
- MALHEIROS, D. F.; VIDEIRA, M. N.; FERREIRA, I. M.; TAVARES-DIAS, M. Anthelmintic efficacy of *Copaifera reticulata* oleoresin in the control of monogeneans and haematological and histopathological effects on *Colossoma macropomum*. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 11, p. 4087-4094, Aug. 2022.
- MARTINS, M. L.; ROMERO, N. G. Efectos del parasitismo sobre el tejido branquial en peces cultivados: estudio parasitologico e histopatologico. **Revista Brasileira Zoologia**, v. 13, n. 2, p. 489-500, 1996.
- RIGAMONTE-AZEVEDO, O. C.; WADT, P. G. S.; WADT, L. H. O. Potencial de produção de óleo resina de copaiba (*Copaifera* spp.) de populações naturais do sudoeste da Amazônia. **Revista Árvore**, v. 30, n. 4, p. 583-591, 2006.
- SANTOS, A. O.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS-FILHO, B. P.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; NAKAMURA, C. V. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 3, p. 277-281, 2008.

SITJÀ-BOBADILLA, A.; FELIPE, M. C.; ALVAREZ-PELLITERO, P. *In vivo* and *in vitro* treatments against *Sparicotyle chrysoiphrii* (Monogenea: Microcotylidae) parasitizing the gills of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture**, v. 261, n. 3, p. 856-864, 2006.

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

TAVARES-DIAS, M. Current knowledge on use of essential oils as alternative treatment against fish parasites. **Aquatic Living Resources**, v. 31, p. 2-11, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1051/alr/2018001>.

TAVARES-DIAS, M.; FERREIRA, G. V.; VIDEIRA, M. N. Histopathological alterations caused by monogenean parasites the gills of tambaqui *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 2057-2064, 2021.

TRINDADE, R.; SILVA, J. K.; SETZER, W. N. *Copaifera* of the Neotropics: A review of the phytochemistry and pharmacology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, Article 1511, 2018.

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

ZHANG, X. P.; LI, W. X.; AI, T. S.; ZOU, H.; WU, S. G.; WANG, G. T. The efficacy of four common anthelmintic drugs and traditional Chinese medicinal plant extracts to control *Dactylogyrus vastator* (Monogenea). **Aquaculture**, v. 420-421, p. 302-307, 2014.

Embrapa Amapá

Rodovia Josmar Chaves Pinto,
Km 05, nº 2.600
CEP 68903-419, Macapá, AP
Fone: (96) 3203-0201
www.embrapa.br/fale-conosco/sac
1ª edição
Publicação digital (2022): PDF



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações

Presidente
Sônia Maria Schaefer
Secretário-Executivo
Daniel Marcos de Freitas Araújo

Membros
Adelina do Socorro Serrão Belém, Gilberto Ken Iti Yokomizo, José Adriano Marini, Leandro Fernandes Damasceno, Ricardo Adaime da Silva, Wardsson Lustrino Borges

Supervisão editorial e normalização bibliográfica
Adelina do Socorro Serrão Belém

Revisão de texto
Maria Pêrpeta Beleza Pereira

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Fábio Sian Martins

Foto da capa
Marcos Tavares-Dias

CGPE 017836