

CRISTIANA LEONOR DA SILVA CARNEIRO

**CRESCIMENTO E HIGIDEZ DE PACAMÃ (*Lophiosilurus alexandri*)  
ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE  
ORÉGANO (*Origanum vulgare*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Carneiro, Cristiana Leonor da Silva, 1991-

C289c  
2018

Crescimento e higidez de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) alimentados com dietas contendo óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) / Cristiana Leonor da Silva Carneiro. – Viçosa, MG, 2018.

xv, 46 f.: il.; 29 cm.

Orientador: Ana Lúcia Salaro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Pacamã (Peixe) - Alimentação e rações. 2. Carvacrol.  
3. Essências e óleos essenciais. 4. Stress oxidativo. 5. Pacamã (Peixe) - Histologia. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. II. Título

CDD 22. ed. 597.49

CRISTIANA LEONOR DA SILVA CARNEIRO

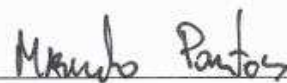
**CRESCIMENTO E HIGIEDEZ DE PACAMÃ (*Lophiosilurus alexandri*)  
ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE  
ORÉGANO (*Origanum vulgare*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

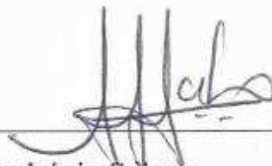
APROVADA: 10 de agosto de 2018



Galileu Crovatto Veras



Marcelo Duarte Pontes



Ana Lúcia Salaro  
(Orientadora)

“Não há barreira, fechadura ou  
ferrolho que possas impor à  
liberdade da minha mente”.

Virginia Woolf

## DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, **Ozanan Gomes Carneiro** e **Maria Luiza da Silva Carneiro**. Obrigada pelo amor incondicional, pelo apoio durante esses anos de estudos, pela compreensão e principalmente por serem quem vocês são, meus maiores exemplos de vida.

Dedico às minhas irmãs, **Luciane Gomes Silva** e **Aline Juliete Gomes Silva**. Obrigado por serem sempre as melhores amigas e por me apoiarem nesta jornada. Vocês são muito importantes para mim.

Dedico à minha avó **Ana de Freitas Silva**. Gratidão por toda vida à minha segunda mãe e mais querida madrinha.

Aos demais familiares e amigos que sempre depositaram confiança e me deram força para chegar até aqui.

Amo vocês!

## AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Viçosa (UFV)**, por toda a estrutura fornecida para o desenvolvimento desta pesquisa e pela oportunidade de realização da Pós-graduação em Biologia Animal;

Ao **Departamento de Biologia Animal** e seus funcionários por conceder a infraestrutura necessária e por me auxiliarem na realização desta pesquisa.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa durante a realização do mestrado;

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** e **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)** pelo apoio financeiro que me concederam durante a pós-graduação.

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Salaro**, pela orientação na graduação e no mestrado, pelos conhecimentos e experiências compartilhadas e por toda colaboração no desenvolvimento deste projeto de pesquisa. Muito obrigada por estes seis anos de aprendizado, e sobretudo pela amizade, paciência e companheirismo.

Ao **Prof. Dr. Jener Alexandre Sampaio Zuanon**, pela sua disponibilidade em me coorientar e por toda colaboração no desenvolvimento desta pesquisa. Obrigada também pela disponibilização do Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura para confecção das lâminas histológicas e pelas aulas essenciais na minha formação.

Ao **Prof. Dr. Ronald Kennedy Luz**, por me coorientar e também por fornecer os peixes utilizados nesta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Daniel Abreu Vasconcelos Campelo**, pela colaboração durante todo o processo de desenvolvimento desta pesquisa.

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariella Bomtempo Duca de Freitas**, pela disponibilização do Laboratório de Cultura de Células e Ecofisiologia do Departamento de Biologia Animal para as análises de estresse oxidativo e glicogênio.

À **Profa. Dra. Reggiani Vilela Gonçalves** por disponibilizar equipamentos do Laboratório de Patologia Experimental do Departamento de Biologia Animal da UFV para realizar as análises de estresse oxidativo e glicogênio.

À **Profa. Dra. Josefina Bressan** por disponibilizar o Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV para a realização das análises sanguíneas.

Ao **Prof. Dr. Edênio Detmann**, pela disponibilização do Laboratório de Nutrição Animal, do Departamento de Zootecnia para a realização das análises químicas das dietas e das carcaças;

Ao **Prof. Dr. Antônio Policarpo Souza Carneiro** do Departamento de Estatística da UFV, por toda ajuda e esclarecimentos durante a elaboração da análise estatística deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Eduardo Arruda Teixeira Lanna** por fornecer a farinha de peixe utilizada no preparo das dietas utilizadas nesta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. José Eduardo Serrão** por disponibilizar o Laboratório de Ultraestrutura Celular do Departamento de Biologia Geral da UFV para confecção das lâminas histológicas.

Ao **Prof. Dr. Jorge Abdala Dergam dos Santos** por disponibilizar o Laboratório de Sistemática Molecular (BEAGLE) do Departamento de Biologia Animal da UFV para o preparo e armazenamento das amostras e também utilização do fotomicroscópio.

Ao **Prof. Dr. Antônio Jacinto Demunner** por possibilitar a realização da análise cromatográfica do óleo essencial utilizado nesta pesquisa, disponibilizando o Laboratório de Síntese de Agroquímicos do Departamento de Química da UFV.

À **Drª. Pollyana de Moraes França Ferreira**, pela disponibilidade e ajuda nas análises realizadas neste trabalho.

À **Drª. Mariáurea Matias Sarandi**, pela disponibilidade e ajuda nas análises realizadas neste trabalho.

Aos integrantes do Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura (LAFAP), **Wanderson Valente dos Santos, Maria Tatiana Soares Martins e Alex Júnio da Silva Cardoso**, que me auxiliaram na confecção das lâminas histológicas, nas análises de estresse oxidativo e glicogênio e também na interpretação dos dados.

Ao mestre em Biologia Animal **Davi Justinico Castro** por me ensinar e ajudar a realizar as análises de glicogênio.

Aos funcionários do Setor de Piscicultura da UFV: **João Antônio de Oliveira e José Francisco Delfino** pelo auxílio durante o experimento de mestrado.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Animal da UFV, **Helvécio de Freitas e Geraldo Pereira Filho**, por toda ajuda prestada ao longo de toda minha vida acadêmica.

Aos funcionários da Secretaria do Departamento de Biologia Animal da UFV **Nilo Souza, Lúcia Helena Campos e Adenilson Antônio Brasileiro**, por mostrarem-se sempre dispostos a ajudar.

Aos técnicos do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFV, **Mateus Dias Nunes e Mario Rita Julião**, pela colaboração nas análises químicas das dietas e da carcaça dos peixes desta pesquisa.

À técnica do Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV, **Solange Mara Bigonha**, pela ajuda durante a avaliação das variáveis plasmáticas.

Ao técnico **José Luís Pereira** e a aluna **Gabriella Almeida de Moura** do Laboratório de Síntese de Agroquímicos do Departamento de Química da UFV pela colaboração na análise cromatográfica do óleo essencial utilizado nesta pesquisa.

Aos companheiros e amigos da pós-graduação, **André Luiz Fialho Ladeira, André Luís Souza Modesto e Gustavo Augusto de Carvalho**, que me ajudaram em todo decorrer do mestrado, e que tornaram os momentos difíceis mais leves e descontraídos com suas brincadeiras e conselhos.

Aos bolsistas de iniciação científica **Rafael Rusth Costa Teixeira e Cidimar Assis Estevam** que estiveram durante todo o decorrer da pesquisa, sem vocês nada seria possível.

À toda equipe do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal da UFV, em especial aos estagiários: **João Felipe Ribeiro Maciel, Nilton Júnior Teixeira Martins, Túlio Vitor de Oliveira Dutra, Denis Augusto da Silva Pontífice de Oliveira, Vitor Hugo Penariol Morante, Érica Caroline Almeida, Isabelle Pinheiro Siqueira, Fábio Ferreira Oikava, Eferson Duarte Sena e Bruno Figueiredo de Almeida** que colaboraram direta ou indiretamente para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos mestres em Biologia Animal, **Alfredo Rúben Palomino Ramos, Frederico Werneck Lima, Sendy Moreira Reis, Márcio Yoshiyuki Kanashiro, Uyara Duarte Vieira, Renato Barbosa Ferraz, Mariana Molica Silveira, José Carlos de Oliveira Júnior e William Chaves** por toda ajuda e amizade nestes anos de vida acadêmica.

Aos meus pais, **Ozanan Gomes Carneiro e Maria Luiza da Silva Carneiro**, pelo amor incondicional, apoio emocional e financeiro, e por nunca medirem esforços para a realização desse sonho.

Às minhas irmãs **Luciane Gomes Silva e Aline Juliete Gomes Silva** que sempre estiveram comigo nos momentos mais importantes.

A todos os familiares pelo constante apoio e incentivo.

Aos amigos pela amizade e companheirismo ao longo destes anos em Viçosa.

A todos que, de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

CRISTIANA LEONOR DA SILVA CARNEIRO, filha de Ozanan Gomes Carneiro e Maria Luiza da Silva Carneiro, nasceu em 1 de julho de 1991, no município de Guarulhos-SP, Brasil.

Em dezembro de 2008, concluiu o ensino médio pela Escola Estadual Raul Soares, Ubá - MG, Brasil.

Em julho de 2016, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em agosto de 2016, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	xi
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	1
CAPÍTULO 1- Efeitos do óleo essencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) em dietas para o bagre neotropical <i>Lophiosilurus alexandri</i> .....	11
1. INTRODUÇÃO .....	13
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	14
2.1 Delineamento e dietas experimentais .....	14
2.2 Peixes e condições de cultivo.....	16
2.3 Desempenho Produtivo.....	17
2.4 Metabolismo Energético .....	17
2.5 Crescimento muscular.....	18
2.6 Histomorfometria intestinal .....	18
2.7 Composição da carcaça .....	19
2.8 Análises estatísticas .....	19
3. RESULTADOS .....	19
3.1 Desempenho produtivo .....	19
3.2 Metabolismo energético.....	19
3.3 Crescimento muscular.....	19
3.4 Histomorfometria intestinal .....	20
3.5 Composição química da carcaça .....	20
4. DISCUSSÃO .....	22
5. AGRADECIMENTOS.....	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
CAPÍTULO 2- Efeito do óleo essencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) na bioquímica sérica, atividade antioxidante e histomorfometria hepática de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> .....	31
1. INTRODUÇÃO .....	33
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	34
2.1 Delineamento e dietas experimentais .....	34
2.2 Peixes e condições de cultivo.....	36

2.3 Bioquímica sérica .....	37
2.4 Atividade antioxidante .....	37
2.5 Histomorfometria hepática.....	37
2.6 Análises estatísticas .....	38
3. RESULTADOS .....	38
3.1 Bioquímica sérica .....	38
3.2 Atividade antioxidante .....	38
3.3 Histomorfometria hepática.....	39
4. DISCUSSÃO .....	40
5. AGRADECIMENTOS.....	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Benefícios da utilização de extratos vegetais em dietas para peixes. ....	2
Tabela 2. Efeitos do OEO em dietas para peixes.....	4
Tabela 3. Composição e análise química das dietas experimentais.....	15
Tabela 4. Composição química do OEO.....	16
Tabela 5. Desempenho produtivo de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.....	20
Tabela 6. Valores médios dos parâmetros energéticos de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.....	21
Tabela 7. Frequência das três classes de diâmetro de fibras musculares de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO. ....	21
Tabela 8. Histomorfometria intestinal de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.....	22
Tabela 9. Composição corporal de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.....	22
Tabela 10. Composição e análise química das dietas experimentais.....	35
Tabela 11. Composição química do OEO.....	36
Tabela 12. Bioquímica sérica de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.....	39
Tabela 13. Atividade antioxidante no fígado de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis OEO. ....	39
Tabela 14. Atividade antioxidante nas brânquias de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas .....	40
Tabela 15. Histomorfometria hepática de juvenis de <i>Lophiosilurus alexandri</i> alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.....	40

## RESUMO

CARNEIRO, Cristiana Leonor da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2018. **Crescimento e hígidez de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) alimentados com dietas contendo óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*).** Orientador: Ana Lúcia Salaro. Coorientadores: Jener Alexandre Sampaio Zuanon e Ronald Kennedy Luz.

Com a finalidade de melhorar os índices de desempenho produtivo e a sanidade dos peixes, aditivos como os óleos essenciais podem ser incorporados às dietas. O óleo essencial de orégano (OEO), possui princípios ativos que melhoram os processos de digestão, a utilização de nutrientes e a capacidade antioxidante dos peixes. Este trabalho teve como objetivo avaliar o OEO como promotor de crescimento para o bagre neotropical *Lophiosilurus alexandri*. Foram avaliadas quatro dietas isoproteicas (350 g kg<sup>-1</sup> de proteína bruta) e bioenergéticas (440 kcal kg<sup>-1</sup> de energia bruta) contendo 0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO. Juvenis (15,7 ± 1,8 g, 9,5 ± 0,45 cm) foram distribuídos em 16 tanques circulares (80 L) com densidade de cinco peixes por tanque. Ao final de 90 dias, o desempenho produtivo, metabolismo energético, crescimento muscular, histomorfometria intestinal, composição corporal, bioquímica sérica, atividade antioxidante e histomorfometria hepática foram avaliadas por meio de análise de variância uma via (ANOVA) e regressão polinomial, com nível de significância de 5%. Os níveis dietéticos de OEO não interferiram no desempenho produtivo dos peixes. De acordo com a análise polinomial, o nível estimado de 2,08 g kg<sup>-1</sup> de OEO leva ao maior nível de glicose sérica nos peixes. As concentrações séricas de colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de alta densidade (HDL) e glicogênio muscular não foram afetadas pelos níveis de OEO. De acordo com a análise polinomial, 1,60 g kg<sup>-1</sup> de OEO leva à menor concentração de glicogênio hepático. A frequência de fibras musculares de menor diâmetro (< 20 µm) seria maior com o valor estimado de 2,26 g kg<sup>-1</sup> de OEO. A frequência de fibras musculares intermediárias (20 – 50) µm diminui linearmente com o aumento dos níveis de OEO na dieta. Peixes alimentados com diferentes níveis dietéticos de OEO apresentaram a mesma frequência de fibras musculares de maior diâmetro (> 50 µm). Esses resultados indicam que estes peixes estavam em crescimento por hiperplasia. A altura, a largura, e a área de superfície de absorção das vilosidades intestinais não foram afetadas pelos níveis de OEO. A composição corporal total não foi afetada pelos níveis dietéticos de OEO. O OEO não alterou as concentrações séricas de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), proteína total, ureia e creatinina. O nível estimado de 1,28 g kg<sup>-1</sup>

de OEO levou à maior concentração sérica de gama-glutamyl transferase (GGT) nos peixes. Não houve efeito do OEO sobre a atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido-dismutase (SOD) e do produto malondealdeído (MDA) no fígado dos peixes. O nível estimado de 0,87 g kg<sup>-1</sup> de OEO levou à maior atividade da glutathione-S-transferase (GST) no tecido hepático. Nas brânquias não houve efeito do OEO sobre a atividade da SOD e GST. No entanto, o nível estimado de 2,5 g kg<sup>-1</sup> levou a menor atividade da CAT e o de 2,0 g kg<sup>-1</sup> à maior concentração de MDA nas brânquias dos peixes. Não houveram efeitos dos diferentes níveis de OEO sobre a histomorfometria hepática dos peixes. Nossos resultados indicam que o OEO é um bom aditivo para o bagre neotropical *Lophiosilurus alexandri*, pois atua no crescimento muscular e na melhoria da capacidade antioxidante dos peixes.

## ABSTRACT

CARNEIRO, Cristiana Leonor da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2018. **Growth and healthiness of pacama (*Lophiosilurus alexandri*), fed with diets containing oregano essential oil (*Origanum vulgare*).** Adviser: Ana Lúcia Salaro. Co-Advisers: Jener Alexandre Sampaio Zuanon and Ronald Kennedy Luz.

In order to improve growth performance and fish health, additives such as essential oils can be incorporated into diets. Oregano essential oil (OEO) has active ingredients that improve digestion processes, nutrient utilization and antioxidant capacity of fish. The objective of this work was to evaluate OEO as a growth promoter for the neotropical catfish *Lophiosilurus alexandri*. Four isoproteic (350 g kg<sup>-1</sup> crude protein) and bioenergetic (440 kcal kg<sup>-1</sup> crude energy) diets containing 0.0; 1.0; 2.0 and 4.0 g kg<sup>-1</sup> OEO. Juveniles (15.7 ± 1.8 g, 9.5 ± 0.45 cm) were distributed in 16 circular tanks (80 L) with a density of five fish per tank. At the end of 90 days, the productive performance, energy metabolism, muscle growth, intestinal histomorphometry, body composition, serum biochemistry, antioxidant activity and liver histomorphometry were evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) and polynomial regression at 5% of significance. Dietary levels of OEO did not interfere in the fish growth performance. According to polynomial analysis, estimated level of 2.08 g kg<sup>-1</sup> of OEO leads to the highest serum glucose. Serum concentrations of total cholesterol, triglycerides, low density lipoproteins (LDL), high density lipoproteins (HDL), and muscle glycogen were not affected by OEO levels. According to polynomial analysis, 1.60 g kg<sup>-1</sup> of OEO leads to lower hepatic glycogen concentration. The frequency of smaller diameter muscle fibers (< 20 µm) would be higher with the estimated value of 2.26 g kg<sup>-1</sup> OEO. The frequency of intermediate muscle fibers (20 - 50) µm decreases linearly with increasing dietary OEO levels. Fish fed different dietary OEO levels had the same frequency of larger diameter muscle fibers (> 50 µm). These results indicate that these fish were growing due to hyperplasia. The height, width, and surface area of absorption of the intestinal villi were not affected by OEO levels. Total body composition was not affected by dietary OEO levels. OEO did not alter serum concentrations of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total protein, urea and creatinine. The estimated level of 1.28 g kg<sup>-1</sup> of OEO led to the highest serum gamma glutamyl transferase (GGT) concentration in fish. There was no effect of OEO on the activity of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and malonaldehyde (MDA)

enzymes in fish liver. The estimated level of 0.87 g kg<sup>-1</sup> OEO led to increased glutathione-S-transferase (GST) activity in liver tissue. In the gills there was no effect of OEO on SOD and GST activity. However, the estimated 2.5 g kg<sup>-1</sup> level led to lower CAT activity and the 2.0 g kg<sup>-1</sup> level to the highest MDA concentration in fish gills. There were no effects of different OEO levels on liver histomorphometry of fish. Our results indicate that OEO is a good additive for the neotropical catfish *Lophiosilurus alexandri*, as it acts on muscle growth and improving the antioxidant capacity of fish.

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A aquicultura vem se destacando por ser o setor da produção animal que mais cresce no mundo. Grande parte desse sucesso deve-se aos esforços da comunidade científica para desenvolver rações nutricionalmente balanceadas, que atendam às exigências nutricionais dos peixes. No entanto, ainda se torna necessário encontrar formas de melhorar o aproveitamento das dietas processadas, especialmente para espécies carnívoras, viabilizando sua produção em cativeiro.

Nesse contexto, o uso de promotores de crescimento em dietas para peixes surge como uma interessante alternativa, uma vez que estes produtos podem resultar em melhorias significativas na saúde e no desempenho produtivo dos animais (Hashemi & Davoodi, 2010). Em definição, promotores de crescimento são substâncias naturais ou sintéticas adicionadas às dietas com a finalidade de melhorar a eficiência de utilização dos alimentos e os desempenhos zootécnico e reprodutivo dos animais (Andreotti & Nicodemo, 2004). Convencionalmente, antibióticos sintéticos têm sido os aditivos promotores de crescimento mais utilizados na produção animal. Todavia, a preocupação com o surgimento de bactérias patogênicas resistentes e a consequente proibição do uso de antibióticos como promotores pela União Europeia (Regulamento EC nº 1831/2003), elevou a demanda por aditivos que sejam biologicamente seguros nas últimas duas décadas.

Extratos vegetais são preparações concentradas obtidas de diversas partes das plantas (raízes, folhas, flores, frutos, sementes) (Cardoso et al., 2008), compreendendo uma grande gama de substâncias, tais como ervas, óleo-resinas e óleos essenciais (Reverter et al., 2014). Estes produtos já vêm sendo explorados com sucesso como alternativa aos antibióticos em dietas para aves e suínos, o que demonstra seu grande potencial para uso também na aquicultura (Reverter et al., 2014; Karásková et al., 2015). Além disso, os extratos vegetais destacam-se por serem considerados seguros tanto à saúde animal como à humana (Kalemba & Kunicka, 2003).

Recentemente, alguns estudos apontam os benefícios da utilização destes extratos em dietas para peixes. No entanto, os resultados encontrados podem variar de acordo com o tipo de extrato, dose administrada, espécie, fase de desenvolvimento, entre outros fatores. Portanto, torna-se necessário a avaliação destes compostos em diferentes condições experimentais e de cultivo. A seguir são apresentados alguns estudos que demonstram a

eficiência de alguns extratos vegetais como aditivos promotores de crescimento em dietas para peixes (tabela 1).

Tabela 1. Benefícios da utilização de extratos vegetais em dietas para peixes.

Extrato vegetal	Espécie	Efeitos	Referência
Óleo essencial de laranja ( <i>Citrus sinensis</i> )	tilápia-de-moçambique ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	Melhorias no desempenho produtivo e na sobrevivência.	Acar et al. (2015)
Extrato de hortelã-pimenta ( <i>Mentha piperita</i> )	Peixe branco do Mar Cáspio ( <i>Rutilus frisii kutum</i> )	Melhorias no desempenho produtivo e nos parâmetros hematológicos e imunológicos.	Adel et al. (2015)
Óleos essenciais de Erva doce ( <i>Foeniculum vulgare</i> ) e Alho ( <i>Allium sativum</i> )	tilápia-do-Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Melhorias no desempenho produtivo e na sobrevivência.	Hassan & Soltam (2016)
Óleo essencial de casca de limão ( <i>Citrus limon</i> )	tilápia-de-moçambique ( <i>Oreochromis mossambicus</i> )	Melhorias no desempenho produtivo, nos parâmetros imunes e na sobrevivência.	Baba et al. (2016)
Óleo essencial de gengibre ( <i>Zingiber officinale</i> )	truta-arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Melhorias no desempenho produtivo e atividade enzimática.	Shaluei et al. (2017)

Dentre os extratos vegetais, os óleos essenciais são considerados uma das melhores alternativas como aditivos em dietas para animais (Sutili et al., 2018). Óleos essenciais são substâncias voláteis oriundas do metabolismo secundário das plantas, geralmente extraídos por destilação (Tongnuanchan & Benjakul, 2014). Eles são compostos de diversas substâncias, tais como: monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoídes, as quais lhes conferem suas características organolépticas (Ribeiro et al., 2018).

A suplementação de dietas com óleos essenciais pode estimular o consumo, aumentar a secreção de enzimas digestivas (Mitsch et al., 2004) e digestibilidade das dietas (Platel &

Srinivasan, 2000; Sutili et al., 2018), melhorando assim a absorção dos nutrientes (Oetting et al., 2006; Windisch et al., 2008) pelos peixes. Esses benefícios são atribuídos principalmente ao papel desses óleos sobre o equilíbrio da microbiota intestinal (Hashemi & Davoodi, 2010).

Dentre os óleos essenciais, o óleo essencial de orégano destaca-se como promotor de crescimento em dietas para animais (Fukayama et al., 2005). O óleo essencial de orégano é extraído de plantas do gênero *Origanum*, pertencentes à família Lamiaceae. Dentre as espécies do gênero a planta *Origanum vulgare* é a mais conhecida (Jesus, 2007), e uma das mais ricas em óleo essencial (Costa, 2009). O óleo essencial desta planta contém mais de 34 compostos, sendo suas principais propriedades benéficas atribuídas a seus princípios ativos primários: o carvacrol e o timol (Bampidis et al., 2005). Entretanto os princípios ativos secundários também são importantes, visto que o carvacrol e o timol isolados não produzem a mesma eficácia do óleo essencial no crescimento dos peixes (Zheng, et al., 2009).

Os compostos presentes no óleo essencial de orégano atuam sobre o equilíbrio da microbiota intestinal (Giannenas et al., 2012), o que melhora os processos de digestão (Platel & Srinivasan, 2000) e aumenta a disponibilidade e absorção de nutrientes essenciais (Windisch et al., 2008). O óleo essencial de orégano também atua melhorando os mecanismos de defesa antioxidante das células (Zheng et al., 2009; Giannenas et al., 2012; Diler et al., 2017) e o sistema imunológico dos peixes (Basmacioğlu Malayoğlu et al., 2010). Dessa forma o óleo essencial de orégano é capaz de melhorar o desempenho e a saúde animal (Jamroz & Kamel, 2002; Hashemi & Davoodi, 2010; Ferreira et al., 2014; Diler et al., 2016).

O modo de ação do óleo essencial de orégano ocorre provavelmente pela sua ação antimicrobiana (Hammer et al., 1999; Ultee et al., 1999; Santúrio et al., 2007), sendo um dos óleos essenciais com maior espectro de ação antibacteriano (Baratta et al., 1998). Seus compostos podem alterar a permeabilidade da membrana celular dos microrganismos, causando desestruturação e alteração da permeabilidade das células, levando por vezes à perda de íons e metabólitos celulares (Lambert et al., 2001) e por fim morte do micro-organismo.

A suplementação com óleo essencial de orégano em dietas tem proporcionado efeitos positivos sobre o desempenho e saúde de peixes (tabela 2). Foram observadas melhorias sobre o desempenho produtivo e a sanidade do bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (Zheng et al., 2009), do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) (Ferreira et al., 2014,

2016), da truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Diler et al., 2017) e da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (El-Hawarry et al., 2018).

Apesar dos resultados positivos observados na maioria dos estudos, o uso do óleo essencial de orégano, também tem mostrado resultados negativos ou insignificantes. Em truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) a suplementação promoveu levou à danos histopatológicos no fígado e rim dos peixes (Ygit et al., 2017). Em jundiá (*Rhamdia* sp) também não houve melhorias no desempenho produtivo e sobrevivência dos animais (Cararo et al., 2017).

Tabela 2. Efeitos do OEO em dietas para peixes.

Óleo essencial de orégano	Espécie	Efeitos	Referência
<i>Origanum heracleoticum</i> L.	bagre do canal ( <i>Ictalurus punctatus</i> )	Zheng et al. (2009)	
<i>Origanum vulgare</i>	lambari-do-rabo-amarelo ( <i>Astyanax altiparanae</i> )	Melhorias no desempenho produtivo, composição da carcaça e aspectos morfológicos intestinais e hepáticos.	Ferreira et al. (2014; 2016)
<i>Origanum onites</i>	truta-arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Melhoria no desempenho produtivo e sobrevivência pós desafio com <i>Lactococcus garvieae</i> .	Diler et al. (2017)
<i>Origanum onites</i>	truta-arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Não houve melhorias na digestibilidade das dietas e nos aspectos histopatológicos hepático e renal.	Ygit et al. (2017)
<i>Origanum vulgare</i>	jundiá ( <i>Rhamdia</i> sp)	Não houve melhorias no desempenho produtivo e sobrevivência pós desafio com <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> .	Cararo et al. (2017)
<i>Origanum vulgare</i>	tilápia-do-Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Melhoria no desempenho produtivo e na atividade antioxidante.	El-Hawarry et al. (2018)

O catfish *Lophiosilurus alexandri*, também conhecido como pacamã, é um peixe de hábito alimentar carnívoro, endêmico da Bacia do Rio São Francisco (Tenório et al., 2006; Sato & Godinho, 2008; Figueiredo et al., 2014). Esta espécie possui alto potencial de

mercado, sendo muito apreciada pela população local devido à qualidade de sua carne e a ausência de espinhos intramusculares (Luz et al., 2008; Luz & Santos, 2008). Adicionalmente, apresenta características favoráveis à produção em cativeiro, como: facilidade de propagação artificial (Cardoso, 1992), rusticidade (Sato et al., 2003) e boa aceitação de dietas secas quando condicionados (Salaro et al., 2015).

Assim, com este estudo objetivou-se avaliar os efeitos do óleo essencial de orégano para juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), uma espécie carnívora de água doce, alimentados com dietas contendo farinha de peixe ou farelo de soja. Para alcançar tal objetivo, o presente estudo foi estruturado na forma de dois artigos científicos: o Capítulo 1, denominado: “Efeitos do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) em dietas para o bagre neotropical *Lophiosilurus alexandri*”(redigido com base nas normas do periódico Aquaculture) e o Capítulo 2, denominado: “Efeito do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na bioquímica sérica, atividade antioxidante e histomorfometria hepática de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* ” (redigido com base nas normas do periódico Journal of Fish Biology).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acar, Ü., Kesbiç, O. S., Yılmaz, S., Gültepe, N., & Türker, A. (2015). Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. **Aquaculture**, 437, 282-286.

Adel, M., Amiri, A. A., Zorriehzakra, J., Nematollahi, A., & Esteban, M. Á. (2015). 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**, 45(2), 841-847.

Andreotti, R., & Nicodemo, M. L. F. (2004). Uso de antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento da resistência. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2004.

Baba, E., Acar, Ü., Öntaş, C., Kesbiç, O. S., & Yılmaz, S. (2016). Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture**, 465, 13-18.

Bampidis, V. A., Christodoulou, V., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Spais, A. B., & Chatzopoulou, P. S. (2005). Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal feed science and technology**, 121(3-4), 285-295.

Baratta, M. T., Dorman, H. D., Deans, S. G., Biondi, D. M., & Ruberto, G. (1998). Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, 10(6), 618-627.

Basmacioğlu Malayoğlu, H., Baysal, Ş., Misirlioğlu, Z., Polat, M., Yilmaz, H., Turan, N. (2010). Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. **British poultry science**, 51(1), 67-80.

Cararo, L. M., Sado, R. Y., Muelbert, B., & de Borba, M. R. (2017). Evaluation of oregano essential oil as a growth promoter and resistance stimulator against *Ichthyophthirius multifiliis* (Protozoa, Ciliophora) in silver catfish juveniles, *Rhamdia* sp. (Siluriformes, Heptapteridae). **Semina: Ciências Agrárias**, 38(6), 3871-3885.

Cardoso, A. J. D. S. (2018). Eficiência de utilização do amido de milho pela tilápia-do-nilo alimentada com diferentes níveis de óleo de gengibre, *Zingiber officinale* (**Dissertação de doutorado**, Universidade Federal de Viçosa).

Cardoso, E. L. (1992). Toxidez de amônia não ionizada e seu efeito sobre a pele e brânquias de *Lophiosilurus alexandri* Steindachner 1876; *Prochilodus affinis* Reinhardt, 1874; *Prochilodus marggravii* (Walbaum, 1792); *Leporinus elongatus* Valenciennes, 1849; (Pisces, Teleostei).

Costa, A. C. D. (2009). Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Cinnamomum zeylanicum* B. contra bactérias multirresistentes.

Diler, O., Gormez, O., Diler, I., & Metin, S. (2017). Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition**, 23(4), 844-851.

El-Hawarry, W. N., Mohamed, R. A., & Ibrahim, S. A. (2018). Collaborating effects of rearing density and oregano oil supplementation on growth, behavioral and stress response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, 44(2), 173-178.

Ferreira, P. M. F., Nascimento, L. S., Coelho Dias, D., Moreira, D. M. V., Salaro, A. L., Freitas, M. B. D., & Zuanon, J. A. S. (2014). Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 45(1), 28-34.

Ferreira, P. M., Caldas, D. W., Salaro, A. L., Sartori, S. S., Oliveira, J. M., Cardoso, A. J., & Zuanon, J. A. (2016). Intestinal and liver morphometry of the Yellow Tail Tetra (*Astyanax altiparanae*) fed with oregano oil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 88(2), 911-922.

Figueiredo, R. A. C. R., Souza, R. C., Bezerra, K. S., Campeche, D. F. B., Campos, R. M. L., Souza, A. M., & Melo, J. F. B. (2014). Relação proteína:carboidrato no desempenho e metabolismo de juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 66(5), 1567-1576.

Fukayama, E. H., Bertechini, A. G., Geraldo, A., Kato, R. K., & Murgas, L. D. S. (2005). Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2316-2326.

Giannenas, I., Triantafillou, E., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, S., Steiner, T., & Karagouni, E. (2012). Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 350, 26-32.

Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of applied microbiology**, 86(6), 985-990.

Hashemi, S. R., & Davoodi, H. (2010). Phytonics as new class of feed additive in poultry industry. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9(17), 2295-2304.

Hassaan, M. S., & Soltan, M. A. (2016). Evaluation of essential oil of fennel and garlic separately or combined with *Bacillus licheniformis* on the growth, feeding behaviour,

hemato-biochemical indices of *Oreochromis niloticus* (L.) fry. **Journal of Aquaculture Research. Dev**, 7, 422-429.

Jamroz, D. & Kamel, C. (2002). Plant extracts enhance broiler performance. In non-ruminant nutrition: Antimicrobial agents and plant extracts on immunity, health and performance.

Jesus, D. N. C. D. (2007). Avaliação dos efeitos da adição do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta, sobre a fisiologia e a produtividade de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*).

Kalemba, D. A. A. K. & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current medicinal chemistry**, 10(10), 813-829.

Karásková, K., Suchý, P., & Straková, E. (2015). Current use of phytogetic feed additives in animal nutrition: a review. **Czech Journal of Animal Science**, 60(12), 521-530.

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of applied microbiology**, 91(3), 453-462.

Luz, R. K. & Santos, J. C. E. D. (2008). Avaliação da tolerância de larvas do pacamã *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1877 (Pisces: Siluriformes) a diferentes salinidades. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 30(4).

Mitsch, P., Zitterl-Eglseer, K., Köhler, B., Gabler, C., Losa, R., Zimpernik, I. (2004). The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. **Poultry Science**, 83(4), 669-675.

Oetting, L. L., Utiyama, C. E., Giani, P. A., Ruiz, U. S., & Miyada, V. S. (2006). Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(4), 1389-1397.

Petrolli, T. G., Albino, L. F. T., Rostagno, H. S., Gomes, P. C., Tavernari, F. D. C., & Balbino, E. M. (2012). Herbal extracts in diets for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(7), 1683-1690.

Platel, K. & Srinivasan, K. (2000). Influence of dietary spican creaticides and their active principles on digestive enzymes in albinorats. **Nahrung.**, 44:42–46.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. **Aquaculture**, 433, 50-61.

Ribeiro, S. M., Bonilla, O. H., & Lucena, E. M. P. (2018). Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia. Série Botânica.**, 73(1), 31-38.

Salaro, A. L., Oliveira Junior, J. C., Lima, F. W., Ferraz, R. B., Pontes, M. D., Campelo, D. A., & Luz, R. K. (2015). Gelatin in replacement of bovine heart in feed training of *Lophiosilurus alexandri* in different water salinities. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 87(4), 2281-2287.

Luz, R. K., & Santos, J. C. E. D. (2008). Avaliação da tolerância de larvas do pacamã *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1877 (Pisces: Siluriformes) a diferentes salinidades. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 30(4).

Santúrio, J. M., Santúrio, D. F., Pozzatti, P., Moraes, C., Franchin, P. R., & Alves, S. H. (2007). Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, 37(3), 803-808.

Sato, Y. (2003). Padrões reprodutivos de peixes da bacia do São Francisco. **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**, 229-274.

Shaluei, F., Nematollahi, A., Naderi-Farsani, H. R., Rahimi, R., & Kaboutari Katadj, J. (2017). Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* on growth performance and mucosal immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture nutrition**, 23(4), 814-821.

Sutili, F. J., Gatlin III, D. M., Heinzmann, B. M., & Baldisserotto, B. (2018). Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. **Reviews in Aquaculture**, 10(3), 716-726.

Tenório, R.A., Guerra Santos, A. J., Lopes, J. P., & Nogueira, E. M. S. (2006). Crescimento do niquim (*Lophiosilurus alexandri* Steindachner 1876), em diferentes

condições de luminosidade e tipos de alimento. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, 28(4).

Tongnuanchan, P. & Benjakul, S., 2014. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. **Journal of food science**, 79(7), R1231-R1249.

Ultee, A., Kets, E. P. W., & Smid, E. J. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and environmental microbiology**, 65(10), 4606-4610.

Windisch, W. M., K. Schedle, C. Plitzner, & A. Kroismayr. (2008). Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of animal science**, 86: 140-148.

Yigit, N. O., Diler, O., Koca, S. B., & Gormez, O. (2017). Effect on Histology and Nutrient Digestibility of Supplemented *Origanum onites* Essential Oil to Rainbow Trout Diets (*Oncorhynchus mykiss*). **Indian journal of pharmaceutical education and research**, 51(3), S262-S267.

Zheng, Z. L., Tan, J. Y., Liu, H. Y., Zhou, X. H., Xiang, X., & Wang, K. Y. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, 292(3-4), 214-218.

## **CAPÍTULO 1**

### **Efeitos do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) em dietas para o bagre neotropical *Lophiosilurus alexandri***

Artigo redigido de acordo com as normas do periódico *Aquaculture*.

**Efeitos do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) em dietas para o bagre neotropical *Lophiosilurus alexandri***

**RESUMO:** Este trabalho teve como objetivo avaliar o óleo essencial de orégano (OEO) como promotor de crescimento para o bagre neotropical *Lophiosilurus alexandri*. Foram avaliadas quatro dietas isoproteicas (350 g kg<sup>-1</sup> de proteína bruta) e bioenergéticas (440 kcal kg<sup>-1</sup> de energia bruta) contendo 0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO. Juvenis (15,7 ± 1,8 g, 9,5 ± 0,45 cm) foram distribuídos em 16 tanques circulares (80 L) com densidade de cinco peixes por tanque. Ao final de 90 dias, o desempenho produtivo, metabolismo energético, crescimento muscular, histomorfometria intestinal e a composição corporal foram avaliadas por meio de análise de variância uma via (ANOVA) e regressão polinomial, com nível de significância de 5%. Os níveis dietéticos de OEO não interferiram no desempenho produtivo dos peixes. De acordo com a análise polinomial, o nível estimado de 2,08 g kg<sup>-1</sup> de OEO leva ao maior nível de glicose sérica. As concentrações séricas de colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de alta densidade (HDL) e glicogênio muscular não foram afetadas pelos níveis de OEO. De acordo com a análise polinomial, 1,60 g kg<sup>-1</sup> de OEO leva à menor concentração de glicogênio hepático. A frequência de fibras musculares de menor diâmetro (< 20 µm) seria maior com o valor estimado de 2,26 g kg<sup>-1</sup> de OEO. A frequência de fibras musculares intermediárias (20 – 50) µm diminui linearmente com o aumento dos níveis de OEO na dieta. Peixes alimentados com diferentes níveis dietéticos de OEO apresentaram a mesma frequência de fibras musculares de maior diâmetro (> 50 µm). Esses resultados indicam que estes peixes estavam em crescimento por hiperplasia. A altura, a largura, e a área de superfície de absorção das vilosidades intestinais não foram afetadas pelos níveis de OEO. A composição corporal total não foi afetada pelos níveis dietéticos de OEO. Nossos resultados indicam que o OEO atua como promotor de crescimento para o bagre neotropical *Lophiosilurus alexandri* ao estimular o desenvolvimento de novas fibras musculares.

**Palavras-chave:** pacamã, extrato vegetal, carvacrol, crescimento muscular, histomorfometria intestinal, fitogênico.

## 1. INTRODUÇÃO

Melhorar a assimilação dos nutrientes das dietas pelos peixes é de grande importância para a sustentabilidade econômica da aquicultura (Francis et al., 2005). Promotores de crescimento são substâncias naturais ou sintéticas adicionadas às dietas para melhorar a eficiência do uso de alimentos e o desempenho zootécnico e reprodutivo dos animais (Andreotti & Nicodemo, 2004). Produtos fitogênicos como óleos essenciais (OE), podem ser utilizados na alimentação animal como promotores de crescimento (Reverter et al. 2014), sem representar perigo à saúde animal e humana (Kalemba & Kunicka, 2003).

Dentre os OE estudados como promotor de crescimento de peixes, o óleo essencial de orégano (OEO) (*Origanum vulgare*) é composto principalmente de monoterpenos e hidrocarbonetos monoterpenos (Teixeira et al., 2013), e tem como principais princípios ativos o carvacrol e o timol (Bampidis et al., 2005, Teixeira et al., 2013). Estes compostos conferem ao OEO um amplo espectro de ação antimicrobiana (Santúrio et al., 2007) e ação digestiva (Basmacioğlu Malayoğlu et al., 2010, Hashemipour et al., 2013). Assim, o OEO atua no equilíbrio da microbiota intestinal (Giannenas et al., 2012) e na melhoria da capacidade de digestão intestinal (Platel & Srinivasan, 2000), aumentando a disponibilidade e absorção dos nutrientes (Windisch et al., 2008).

Outros estudos avaliaram o uso do OEO e demonstraram o efeito promotor de crescimento em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Seden et al., 2009; Abdel-Latif & Khalil, 2014; El-Hawarry et al., 2018), bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) (Zheng et al., 2009), lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) (Ferreira et al., 2014) e truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Ahmadifar et al., 2011; Diler et al., 2016). Entretanto, outros autores não encontraram relação entre o uso do OEO ou seus princípios ativos e melhorias no desempenho produtivo de algumas espécies de peixes, como robalo (*Dicentrarchus labrax*) (Volpatti et al., 2013), tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Campagnolo et al., 2013), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Yilmaz et al., 2015) e jundiá (*Rhamdia* sp.) (Melo et al., 2016, Cararo et al., 2017).

Isso indica que outros fatores, tais como dose administrada, fase de desenvolvimento e características intrínsecas de cada espécie, podem influenciar o sucesso do OEO como promotor de crescimento para peixes (Campagnolo et al., 2013; Yilmaz et al., 2015). Além disso, existem poucos estudos avaliando o crescimento muscular e as alterações morfológicas nos órgãos de peixes alimentados com dietas com níveis de OEO.

O bagre *Lophiosilurus alexandri* é um peixe carnívoro neotropical, endêmico da bacia do rio São Francisco, Brasil (Gonçalves Junior et al., 2019). Esta espécie tem alto potencial de mercado, sendo muito apreciada pela qualidade de sua carne com ausência de espinhos intramusculares (Luz & Santos, 2008; Sant'Ana et al., 2017). Além disso, apresenta características favoráveis à produção em cativeiro, como facilidade de propagação artificial (Costa et al., 2015; Gonçalves Junior et al., 2019), rusticidade (Sato et al., 2003) e boa aceitação de dietas secas quando condicionadas (Salaro et al., 2015).

Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar diferentes níveis de inclusão de OEO como promotor de crescimento para o bagre *Lophiosilurus alexandri*.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Peixes I da Universidade Federal de Viçosa - UFV, Brasil, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção, processo n° 56/2017.

### **2.1 Delineamento e dietas experimentais**

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições. Os tratamentos consistiram de dietas isoproteicas (350g kg<sup>-1</sup> de proteína bruta) e isoenergéticas (440kcal kg<sup>-1</sup> de energia bruta) formuladas para conter 0,0; 1,0; 2,0 e 4,0g kg<sup>-1</sup> de OEO (tabela 3). A composição química do OEO foi avaliada por meio de cromatografia gasosa de alta resolução (tabela 4).

Para preparar as dietas experimentais, os macronutrientes foram moídos em um moinho tipo martelo (TRF-400 Trapp, Jaraguá do Sul, SC) com telas de 0,5 mm e em seguida, misturados aos micronutrientes. Para incorporação do OEO, este foi misturado ao óleo de soja. A mistura foi peletizada em moedor de carne (Filizola, P-22, Brasil), seca em estufa a 30°C (Marconi, MA035, São Paulo, Brasil) por 36 horas e triturada em moinho manual (Botimetal, Bilac, Brasil) para obtenção de peletes de cinco milímetros.

Tabela 3. Composição e análise química das dietas experimentais.

Ingredientes (g kg <sup>-1</sup> )	OEO (g kg <sup>-1</sup> )			
	0,00	1,00	2,00	4,00
Farelo de soja	195,00	195,00	195,00	195,00
Farinha de peixe	400,00	400,00	400,00	400,00
Fubá de milho	175,20	175,20	175,20	175,20
Farelo de trigo	100,00	100,00	100,00	100,00
Óleo essencial de orégano <sup>1</sup>	0,00	1,00	2,00	4,00
Caulin	20,00	19,00	18,00	16,00
Celulose	20,00	20,00	20,00	20,00
Lisina	4,00	4,00	4,00	4,00
Metionina	5,50	5,50	5,50	5,50
Óleo de soja	70,00	70,00	70,00	70,00
Vitamina C	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal	5,00	5,00	5,00	5,00
Premix mineral e vitaminico <sup>2</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00
BHT <sup>3</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20
Análises químicas <sup>4</sup>				
Matéria seca (MS) (%)	91,59	91,21	91,07	92,10
Proteína bruta (% MS)	35,17	35,32	35,17	35,42
Energia Bruta <sup>5</sup> (Kcal kg <sup>-1</sup> )	4494,0	4439,0	4494,0	4432,0
Energia Bruta:Proteína Bruta (Kcal kg <sup>-1</sup> )	1,27	1,25	1,27	1,25
Extrato etéreo (% MS)	13,60	12,39	14,75	13,27
Cinzas (% MS)	10,89	10,89	11,04	10,80

<sup>1</sup>Produto comercial óleo essencial de orégano – *Origanum vulgare* (Mundo dos Óleos LDTA);

<sup>2</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000UI; Vit. D3; 200.000UI; Vit. E, 12.000mg; Vit. K3, 2.400mg ;Vit. B1, 4.800mg; Vit. B2, 4.800mg; Vit. B6, 4.000mg; Vit. B12, 4.800mg; Ac. Fólico, 1.200mg; Pantotenato Ca, 12.000mg; Vit. C, 48.000mg; Biotina, 48mg; Colina, 65.000mg; Niacina, 24.000mg; Ferro, 10.000mg; Cobre, 6.000mg; Manganês, 4.000mg; Zinco, 6.000mg; Iodo, 20mg; Cobalto, 2mg; Selênio, 20mg.

<sup>3</sup>Butilhidroxi tolueno (antioxidante).

<sup>4</sup>Analisada de acordo com Detmman et al., (2002).

<sup>5</sup>Composição química por meio de análises laboratoriais (INCT, 2012), realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Tabela 4. Composição química do OEO.

Composição química <sup>1</sup>	g 100g <sup>-1</sup>
Carvacrol	630,0
Timol	47,0
$\rho$ -cimeno	128,0
$\gamma$ -terpineno	84,0
$\alpha$ -pineno	16,0
Cis-sabineno hidrato	16,0
$\beta$ -cariofileno	14,0
Mirceno	14,0
$\alpha$ -Terpineno	11,0
Sabineno	8,0
Canfeno	7,0
$\alpha$ -thujeno	0,4
1,8-cineol	0,3

Método de análise: cromatografia gasosa de alta resolução (HP 5890, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Coluna: 25 m  $\times$  0,25 mm BP1 (SGE). Temperaturas: Coluna: 60°C (3 min), 3 °C/min até 200°C. Injetor: 250 C Split: 1/200. Detector FID: 250°C. Volume de injeção: 1  $\mu$ L (0,5% concentração de 0,5% de clorofórmio).

## 2.2 Peixes e condições de cultivo

Juvenis de *L. alexandri* ( $15,7 \pm 1,8$  g; peso médio  $\pm$  DP) foram pesados em balança de precisão (modelo MB45, Toledo® 0,01 g, Bernardo do Campo, SP) e medidos ( $9,5 \pm 0,45$  cm comprimento médio  $\pm$  DP) em paquímetro digital. Os animais ( $n = 60$ ) foram aleatoriamente distribuídos em 12 tanques circulares (80L) com densidade de cinco peixes por tanque. Os tanques foram mantidos em sistema de recirculação ( $1,5 \text{ L min}^{-1}$ ) com filtros biológico, mecânico e ultravioleta, aeração contínua e sistema de aquecimento controlado por termostato e aquecedores.

Durante o período experimental a temperatura da água permaneceu em  $26,18 \pm 0,13$  °C (termômetro de mercúrio). O oxigênio dissolvido manteve-se em  $5,36 \pm 0,5$  mg L<sup>-1</sup> (analisador automático de oxigênio YSI-550a, Life Science, Greene, EUA). A amônia tóxica foi medida em  $0,0 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup> (kits de análise Labcon®, Florianópolis, Brasil), usando a equação: amônia tóxica = amônia total /  $(1 + 10^{((0,0902 - \text{pH}) + (2730 / 237,2 + T^{\circ}\text{C})))}$ ). O fotoperíodo

foi ajustado para 12 horas por lâmpadas fluorescentes (60W) controladas por temporizador analógico.

Os peixes foram alimentados manualmente às 8:00 da manhã e às 17:00 da tarde, até a aparente saciedade por 90 dias. A água foi substituída em 25% todos os dias para retirada das fezes.

### **2.3 Desempenho Produtivo**

No final do período de 90 dias os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas, contados e eutanasiados com uma dose letal de anestésico (400 mg L<sup>-1</sup> de óleo de cravo). Todos os peixes foram pesados em balança de precisão (modelo MB45, Toledo® 0,01g, Bernardo do Campo, SP) e medidos em paquímetro digital para calcular taxa de sobrevivência, ganho de peso, ganho de comprimento, taxa de crescimento específico e fator de condição corporal. Para determinação do índice viscerossomático, índice hepatossomático e gordura visceral, foram pesadas separadamente as vísceras (estômago, intestino, gônadas, coração, fígado, vesícula biliar, bexiga natatória e gordura).

### **2.4 Metabolismo Energético**

Os peixes foram eutanasiados (400 mg L<sup>-1</sup> de óleo de cravo) e amostras de sangue de dois animais de cada unidade experimental (n = seis por tratamento) foram coletadas com seringa heparinizada cortando-se a região do pedúnculo caudal. O sangue foi centrifugado por 15 minutos a 5.000rpm e os níveis plasmáticos de glicose (GLI), colesterol total (COT), triglicerídeos (TRI), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL) foram estimados utilizando-se kit colorimétrico Bioclin® (Quibasa - Química Básica, Belo Horizonte, Brasil). As leituras foram realizadas no BS 200 (Clinical Chemistry Analyzer Mindray®, Shenzhen, China).

Para análise glicogênica dos tecidos hepático (GH) e muscular (GM), amostras (200 mg) foram coletadas e analisadas de acordo com a metodologia proposta por Carroll et al. (1956). Os tecidos foram dissolvidos em solução de hidróxido de potássio (30% KOH) e hidrolisados em banho de água durante uma hora, com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturado e álcool absoluto adicionado após o banho. Os tubos foram centrifugados a 2000 rpm (Fanem, São Paulo, Brasil, modelo 206-R) por 10 minutos e o sobrenadante descartado. Para a quantificação do glicogênio também foi utilizado o método descrito por Carroll et al. (1956), porém com modificações para leitura em ELISA. O precipitado foi diluído em água destilada e depois adicionado antrona. A solução foi colocada em banho-maria durante 10 minutos e depois pipetada em microplacas. A

leitura foi feita em 620nm. Os padrões foram feitos com concentrações conhecidas de glicose, obtendo-se equações de regressão linear a partir das quais as concentrações da amostra foram calculadas. A concentração obtida foi expressa em g de glicogênio por 100 g de tecido<sup>-1</sup> (%).

## **2.5 Crescimento muscular**

Para avaliar o desenvolvimento muscular, após eutanásia com dose letal de anestésico (400 mg de óleo de cravo L<sup>-1</sup>), foram coletadas amostras de músculo de dois peixes por unidade experimental (n = seis peixes por tratamento). A coleta foi feita na região central do músculo dorsal direito do peixe. As amostras foram fixadas em solução de formalina (10%) por 12 horas e desidratadas em série alcoólica crescente para incorporação em glicol metacrilato (Historesin®, Leica, São Paulo, Brasil). Secções semi-seriadas de três µm de espessura foram obtidas em micrótomo (Leica RM225, São Paulo, Brasil) e dispostas em lâmina histológica. As lâminas foram coradas com azul de toluidina e fotodocumentadas em microscópio de luz (Leica DM750, São Paulo, Brasil) acopladas a uma câmera (Leica MC170 HD, São Paulo, Brasil). Dez imagens foram obtidas e analisadas usando o software Image Pro-Plus®. O menor diâmetro de 200 fibras musculares por animal foi medido de acordo com o método proposto por Dubowitz & Brooke (1973) para classificação em três classes distintas (<20 µm, 20-50 µm e > 50 µm), segundo proposto por Almeida et al. (2008). A frequência de fibras musculares foi expressa como o número de fibras de cada classe de diâmetro em relação ao número total de fibras medidas.

## **2.6 Histomorfometria intestinal**

Para análise histomorfométrica intestinal foram coletadas amostras de intestino de dois peixes por unidade experimental (n = seis peixes por tratamento). Isto foi feito coletando-se aproximadamente cinco milímetros da porção anterior do intestino do peixe. Assim como o músculo, o intestino foi preparado e incorporado ao glicol metacrilato (Historesin®, Leica, São Paulo, Brasil) para obtenção de cortes com três µm de espessura em micrótomo (Leica RM225, São Paulo, Brasil). As lâminas intestinais foram coradas com hematoxilina/eosina e também fotodocumentadas sob microscópio de luz (Olympus BX53, Tóquio, Japão) acopladas à câmera (Olympus DP73, Tóquio, Japão). Dez imagens foram analisadas no software Image Pro-Plus®. A altura de cinco vilosidades e uma média de cinco larguras de vilosidades do intestino foram determinadas por foto. A área de superfície de absorção de cada vilosidade foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Kisielinski et al. (2002).

## **2.7 Composição da carcaça**

Para determinar a composição da carcaça dos peixes foi utilizado um pool de cinco peixes por unidade experimental (n = 15 por tratamento). A matéria seca, proteína bruta, matéria mineral e extrato etéreo foram determinados conforme protocolo descrito por Detmann et al. (2012).

## **2.8 Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos erros e o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade das variâncias usando o software R® versão 3.3.2. A avaliação do efeito do nível de OEO na dieta foi realizada através de análise de variância de uma via (ANOVA) e regressão polinomial a 5% de significância.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1 Desempenho produtivo**

Os níveis dietéticos de OEO não afetaram ( $P > 0,05$ ) o ganho de peso, ganho de comprimento, taxa de crescimento específico, fator de condição corporal, índice viscerossomático, índice hepatossomático, gordura visceral e taxa de sobrevivência de juvenis de *L. alexandri* (Tabela 5).

### **3.2 Metabolismo energético**

Não houveram diferenças ( $P > 0,05$ ) entre as concentrações séricas de colesterol total, triglicérides, LDL e HDL de *L. alexandri* alimentados com diferentes níveis de OEO ( $P > 0,05$ ) (Tabela 6). No entanto, o nível dietético de OEO afetou as concentrações séricas de GLI dos peixes ( $P < 0,05$ ). De acordo com a análise polinomial, estimou-se 2,08 g kg<sup>-1</sup> de OEO para a maior concentração de glicose sérica (Tabela 6).

O GM também não foi afetado pelos níveis dietéticos de OEO ( $P > 0,05$ ) (Tabela 6). No entanto, os níveis de OEO afetaram as concentrações de GH nos peixes ( $P < 0,05$ ). De acordo com a análise polinomial, estimou-se 1,60 g kg<sup>-1</sup> de OEO para a menor concentração de GH (Tabela 6).

### **3.3 Crescimento muscular**

A frequência de fibras musculares pequenas (<20 µm) foi afetada pelos níveis dietéticos de OEO ( $P < 0,05$ ). De acordo com a análise polinomial, estimou-se 2,26 g kg<sup>-1</sup> de OEO para a maior frequência dessas fibras (Tabela 7). A frequência de fibras musculares intermediárias (20 - 50 µm) diminuiu linearmente com o aumento dos níveis dietéticos de OEO ( $P < 0,05$ )

(Tabela 5). A frequência de fibras musculares grandes (> 50  $\mu\text{m}$ ) não foi afetada pelos níveis dietéticos de OEO ( $P > 0,05$ ) (Tabela 7).

### 3.4 Histomorfometria intestinal

A altura, a largura e a área de superfície de absorção das vilosidades intestinais de *L. alexandri* não foram afetadas ( $P > 0,05$ ) pelo nível de OEO na dieta (Tabela 8).

### 3.5 Composição química da carcaça

A matéria seca, proteína bruta, matéria mineral e o extrato etéreo da carcaça de *L. alexandri* não foram afetados pelos níveis OEO na dieta ( $P > 0,05$ ) (Tabela 9).

Tabela 5. Desempenho produtivo de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.

Variáveis	OEO ( $\text{g kg}^{-1}$ )				P-value
	0,0	1,0	2,0	4,0	
GP (g)	39,15 $\pm$ 8,75	44,17 $\pm$ 7,84	40,98 $\pm$ 5,63	42,96 $\pm$ 1,01	0,71
GC (cm)	4,42 $\pm$ 0,72	4,86 $\pm$ 0,83	4,62 $\pm$ 0,53	4,62 $\pm$ 0,07	0,79
TCE ( $\%$ dia <sup>-1</sup> )	1,37 $\pm$ 0,17	1,47 $\pm$ 0,15	1,42 $\pm$ 0,11	1,46 $\pm$ 0,02	0,71
K	0,02 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,00	0,39
IVS (%)	8,31 $\pm$ 0,64	8,55 $\pm$ 0,11	8,17 $\pm$ 0,73	8,06 $\pm$ 0,70	0,69
IHS (%)	1,56 $\pm$ 0,05	1,58 $\pm$ 0,05	1,60 $\pm$ 0,08	1,64 $\pm$ 0,07	0,39
GV (g)	0,82 $\pm$ 0,16	0,86 $\pm$ 0,16	0,80 $\pm$ 0,26	0,88 $\pm$ 0,20	0,94
TS (%)	100,00 $\pm$ 0,00	100,00 $\pm$ 0,00	100,00 $\pm$ 0,00	100,00 $\pm$ 0,00	1,00

Ganho de peso (GP) = peso final - peso inicial; Ganho de comprimento (GC) = comprimento final - comprimento inicial; Taxa de crescimento específico (TCE) =  $[(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{tempo (dias)}] \times 100$ ; Fator de condição corporal (K) = peso final / comprimento final<sup>3</sup>; Índice viscerossomático (IVS) = (peso vísceras / peso final)  $\times 100$ ; Índice hepatossomático (IHS) = (peso do fígado / peso final)  $\times 100$ ; Gordura visceral (GV) = (peso gordura visceral / peso final)  $\times 100$ ; Taxa de sobrevivência (TS) = (n° peixes final / n° peixes inicial)  $\times 100$ ;

Valores apresentados como médias  $\pm$  CV (n = 20).

Tabela 6. Valores médios dos parâmetros energéticos de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.

Variáveis	OEO (g kg <sup>-1</sup> )				P-valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
GLI (mg dL <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	2,50 ± 0,58	4,50 ± 1,29	3,50 ± 0,58	3,00 ± 1,41	0,05
COT (mg dL <sup>-1</sup> )	49,50 ± 2,38	67,50 ± 13,40	56,50 ± 18,93	53,25 ± 5,38	0,22
TRI (mg dL <sup>-1</sup> )	187,00 ± 15,93	215,75 ± 6,18	182,25 ± 16,94	207,75 ± 42,36	0,20
LDL (mg dL <sup>-1</sup> )	4,50 ± 1,73	6,50 ± 1,29	8,00 ± 4,69	7,00 ± 1,41	0,34
HDL (mg dL <sup>-1</sup> )	9,50 ± 6,24	18,00 ± 5,77	15,00 ± 6,48	9,25 ± 3,30	0,12
GM (mg 100 mg <sup>-1</sup> )	0,74 ± 0,37	0,77 ± 0,33	0,57 ± 0,21	0,84 ± 0,44	0,29
GH (mg 100 mg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	43,72 ± 28,16	36,27 ± 18,71	27,67 ± 9,95	64,00 ± 33,56	0,01

<sup>1</sup>Y = -0,30x<sup>2</sup> + 1,25x + 2,78 (R<sup>2</sup> = 0,54);

<sup>2</sup>Y = 5,79x<sup>2</sup> - 18,55x + 44,99 (R<sup>2</sup> = 0,95);

Valores apresentados como médias ± CV (n = 8).

Tabela 7. Frequência das três classes de diâmetro de fibras musculares de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.

Diâmetro	OEO (g kg <sup>-1</sup> )				P-valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
< 20 µm (%) <sup>1</sup>	17,83 ± 6,79	19,75 ± 2,38	32,17 ± 1,89	20,33 ± 3,40	0,00
20 – 50 µm (%) <sup>2</sup>	64,25 ± 6,31	56,17 ± 5,77	60,50 ± 1,32	53,75 ± 3,63	0,04
> 50 µm (%)	18,83 ± 4,96	24,08 ± 6,04	14,17 ± 3,39	24,25 ± 3,78	0,23

<sup>1</sup>Y = -2,49x<sup>2</sup> + 11,23x + 15,97 (R<sup>2</sup> = 0,66);

<sup>2</sup>Y = - 2,11x + 62,36 (R<sup>2</sup> = 0,60);

Valores apresentados como médias ± CV (n = 8).

Tabela 8. Histomorfometria intestinal de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.

Variáveis	OEO (g kg <sup>-1</sup> )				P-valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
Altura vilosidade (µm)	612,35 ± 12,36	576,38 ± 77,44	641,51 ± 20,15	619,68 ± 27,02	0,34
Largura vilosidade (µm)	48,40 ± 2,95	45,40 ± 3,16	52,01 ± 3,34	46,55 ± 3,53	0,14
Área de superfície de absorção (µm <sup>2</sup> )	49,29 ± 2,56	50,89 ± 4,69	49,41 ± 1,91	53,76 ± 2,82	0,34

Área de superfície de absorção = (Altura vilosidade x Largura vilosidade) / (Largura vilosidade<sup>2</sup> / 2);  
Valores apresentados como médias ± CV (n = 8).

Tabela 9. Composição corporal de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.

	OEO (g kg <sup>-1</sup> )				P-valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
Matéria seca (%)	94,08 ± 0,46	93,63 ± 0,54	94,12 ± 0,67	94,01 ± 0,79	0,69
Proteína Bruta (% MS)	55,72 ± 3,49	53,34 ± 2,45	56,57 ± 3,05	56,02 ± 1,01	0,50
Cinzas (% MS)	18,41 ± 0,24	19,91 ± 1,32	18,81 ± 0,83	18,39 ± 1,49	0,21
Extrato etéreo (% MS)	17,91 ± 0,84	19,62 ± 0,54	18,02 ± 1,39	18,84 ± 1,53	0,18

Valores apresentados como médias ± CV (n = 4).

#### 4. DISCUSSÃO

No presente estudo juvenis do bagre neotropical *L. alexandri* alimentados com dietas contendo cerca de 2,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO apresentaram melhorias no crescimento muscular, indicando, portanto, maior potencial de crescimento em relação aos peixes dos demais tratamentos. Embora não tenham sido constatados efeitos do OEO sobre o desempenho produtivo e capacidade de absorção intestinal dos peixes, no geral os peixes apresentaram crescimento e sobrevivência satisfatórios. Sabemos que fatores tais como, a dose, o tempo de administração do óleo, a fase de desenvolvimento do peixe e a duração do período experimental podem influenciar nas respostas de desempenho dos animais. No presente trabalho os peixes receberam a dieta com OEO por apenas 90 dias, o que pode ter contribuído para que os

parâmetros de desempenho produtivo e capacidade de absorção intestinal não tenham apresentado diferenças significativas.

Diferentemente de outros vertebrados, o crescimento em peixes envolve tanto hiperplasia quanto hipertrofia de fibras musculares (Johnston, 1999; Mommsen, 2001), sendo as taxas de desenvolvimento fortemente regulados pela intensidade e duração destes processos (Zimmerman & Lowery, 1999; Mommsen, 2001; Valente et al., 2013). Fibras com diâmetro menor que 20  $\mu\text{m}$  representam fibras recrutadas por hiperplasia e as que excedem esse diâmetro são geralmente fibras que cresceram por hipertrofia (Weatherley et al., 1988, Rowleron et al., 1995). Logo, a maior frequência de fibras musculares de menor diâmetro em juvenis de *L. alexandri* alimentados com cerca de 2,0  $\text{g kg}^{-1}$  de OEO, indica que estes animais estavam em processo de crescimento por hiperplasia (Michelato et al., 2016).

São escassos os estudos que avaliam os efeitos dos OE sobre o crescimento muscular de animais de produção. Esse efeito pode estar associado à melhor utilização dos nutrientes da dieta nos peixes alimentados com OEO. O OEO pode melhorar a secreção de enzimas digestivas, promovendo maior assimilação dos nutrientes (Mitsch et al., 2004). Além disso, o carvacrol e outros compostos fenólicos presentes em sua composição podem produzir um efeito anabólico na musculatura dos animais (Khosravinia et al., 2014).

É frequentemente sugerido que parâmetros hematológicos são indicadores úteis de estresse ou doença para peixes. Neste estudo foi observado aumento dos níveis séricos de glicose em peixes alimentados com cerca de 2,08  $\text{g kg}^{-1}$  de OEO. A glicose é armazenada como glicogênio no fígado ou como triglicerídeos no tecido adiposo e muscular (Enes et al., 2009). Em situações de necessidade, ocorre mobilização do glicogênio para a produção de glicose, a qual será enviada para a circulação (Webber et al., 1996). O OEO contém flavonoides que podem se ligar a receptores de insulina, promovendo o uso da glicose armazenada como glicogênio nos tecidos (Agullo et al., 1997). Logo, sugere-se que estes peixes estavam em situação de maior demanda energética, uma vez que seus músculos estavam em crescimento por hiperplasia. Isso também explica a menor concentração de glicogênio no fígado dos peixes alimentados com dietas contendo cerca de 1,60  $\text{g kg}^{-1}$  de OEO.

O OEO se destaca também por melhorar a área de superfície intestinal (Ferreira et al., 2016), e assim absorção de nutrientes pelos peixes (Oetting et al., 2006; Windisch et al., 2008). Para Petrolli et al., (2012) o desenvolvimento do trato gastrointestinal pela ação do carvacrol, presente no OEO, ocorre principalmente sobre a mucosa intestinal dos animais. Isto ocorre por que o carvacrol atua estimulando os processos de divisão celular e também modulando a flora bacteriana, de modo que ocorra diminuição na competição por nutrientes entre bactérias e

animal. Neste estudo, porém, não houveram melhorias na mucosa significativas na mucosa intestinal dos peixes alimentados com o OEO. Isso pode ter ocorrido devido à maior demanda energética para a produção de células musculares.

Diversos estudos apontam melhorias no crescimento de peixes alimentados com OEO. Foram observadas melhorias em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Seden et al., 2009; Abdel-Latif & Khalil, 2014; El-Hawarry et al., 2018), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Ahmadifar et al., 2011; Diler et al., 2016), lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) (Ferreira et al., 2014) e bagre americano (*Ictalurus punctatus*) (Zheng et al., 2009). Os autores atribuem essa melhora no desempenho produtivo ao efeito benéfico do OEO sobre a flora intestinal, a secreção de enzimas digestivas e a seu potencial antioxidante. Entretanto, assim como observado em nosso estudo, o uso do OEO ou seus princípios ativos em dietas de peixes não promoveu maior desempenho produtivo em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Campagnolo et al., 2013), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Yilmaz et al., 2015), robalo (*Dicentrarchus labrax*) (Volpatti et al., 2013) e jundiá (*Rhamdia sp.*) (Melo et al., 2016). Portanto estudos que avaliem outros aspectos, como o crescimento muscular e metabolismo energético de peixes alimentados com OE são de suma importância.

Em conclusão, os resultados do presente estudo indicam que a inclusão dietética de 2,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO em dietas processadas, melhorou o crescimento muscular em juvenis de *L. alexandri*.

## 5. AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Universidade Federal de Viçosa (UFV) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, DF, Brasil.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Latif, H. M., & Khalil, R. H. (2014). Evaluation of two Phytochemicals, Spirulina platensis and *Origanum vulgare* extract on Growth, Serum antioxidant activities and Resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to pathogenic *Vibrio alginolyticus*. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, 250-255.

Agullo, G., Gamet-Payraastre, L., Manenti, S., Viala, C., Rémésy, C., Chap, H., Payraastre, B. (1997). Relationship between flavonoid structure and inhibition of

phosphatidylinositol 3-kinase: a comparison with tyrosine kinase and protein kinase C inhibition. **Biochemical pharmacology**, 53(11), 1649-1657.

Ahmadifar, E., Falahatkar, B., Akrami, R. (2011). Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Applied Ichthyology**, 27(4), 1057-1060.

Almeida, F. L. A.; Carvalho, R. F.; Pinhal, D.; Padovani, C. R.; Martins, C., Dal Pai-Silva, M. (2008). Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus*) Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. **Micron**, 39(8), 1306-1311.

Andreotti, R., & Nicodemo, M. L. F. (2004). **Uso de antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento da resistência**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte.

Bampidis, V. A., Christodoulou, V., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Spais, A. B., Chatzopoulou, P. S. (2005). Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal feed science and technology**, 121(3-4), 285-295.

Basmacioğlu Malayoğlu, H., Baysal, Ş., Misirlioğlu, Z., Polat, M., Yilmaz, H., Turan, N. (2010). Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. **British poultry science**, 51(1), 67-80.

Campagnolo, R., Freccia, A., Ribas Bergmann, R., Meurer, F., & Allan Bombardelli, R. (2013). Óleos essenciais na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 14(3).

Cararo, L. M., Sado, R. Y., Muelbert, B., & de Borba, M. R. (2017). Evaluation of oregano essential oil as a growth promoter and resistance stimulator *against Ichthyophthirius multifiliis* (Protozoa, Ciliophora) in silver catfish juveniles, *Rhamdia* sp. (Siluriformes, Heptapteridae). **Semina: Ciências Agrárias**, 38(6), 3871-3885.

Carroll, N. V., Longley, R. W., Roe, J. H. (1956). The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 220(2), 583-593.

Costa, D. C., e Silva, W. D. S., Melillo Filho, R., Miranda Filho, K. C., dos Santos, J. C. E., & Luz, R. K. (2015). Capture, adaptation and artificial control of reproduction of *Lophiosilurus alexandri*: A carnivorous freshwater species. **Animal reproduction science**, 159, 148-154.

Detmann, E., Souza, M. D., Valadares Filho, S. D. C., Queiroz, A. D., Berchielli, T. T., Saliba, E. D. O., Azevedo, J. A. G. (2012). **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 214.

Diler, O., Gormez, O., Diler, I., Metin, S. (2017). Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition**, 23(4), 844-851.

Dubowitz, V. & Brooke M. H. (1973): Muscle Biopsy: A Modern Approach. **Major Problems in Neurology**, 2, 5-20.

El-Hawarry, W. N., Mohamed, R. A., Ibrahim, S. A. (2018). Collaborating effects of rearing density and oregano oil supplementation on growth, behavioral and stress response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, 44(2), 173-178.

Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., Oliva-Teles, A. A. (2009). Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish physiology and biochemistry**, 35(3), 519-539.

Ferreira, P. M. F., Nascimento, L. S., Coelho Dias, D., Moreira, D. M. V., Salaro, A. L., Freitas, M. B. D., Zuanon, J. A. S. (2014). Essential oregano oil as a growth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 45(1), 28-34.

Francis, G., Makkar, H. P., & Becker, K. (2005). Quillaja saponins a natural growth promoter for fish. **Animal feed science and technology**, 121(1-2), 147-157.

Giannenas, I., Triantafillou, E., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, S., Steiner, T., Karagouni, E. (2012). Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 350, 26-32.

Golçalves Junior, L. P., Mattioli, C. C., Martins, E. D. F. F., e Silva, W. D. S., Ciolete, T. N., da Silva Vasconcellos, A., Luz, R. K. (2019). Temperature-induced changes in reproductive variables in the teleost fish *Lophiosilurus alexandri*. **Journal of thermal biology**, 80, 133-140.

Hashemi, S. R., & Davoodi, H. (2010). Phytochemicals as new class of feed additive in poultry industry. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9(17), 2295-2304.

Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A., & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. **Poultry science**, 92(8), 2059-2069.

Johnston, I. A. (1999). Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. **Aquaculture**, 177(1-4), 99-115.

Kalembe, D. A. A. K. & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current medicinal chemistry**, 10(10), 813-829.

Khosravinia, H. (2014). Hypolipidemic effects of carvacrol in relation with sex hormones in broiler chicken. **Biotechnology in Animal Husbandry**, 30(1), 89-102.

Kisielinski, K., Willis, S., Prescher, A., Klosterhalfen, B., Schumpelick, V. (2002). A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clinical and experimental medicine**, 2(3), 131-135.

Luz, R. K., & Santos, J. C. E. D. (2008). Avaliação da tolerância de larvas do pacamã *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1877 (Pisces: Siluriformes) a diferentes salinidades. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 30(4).

Melo, K. D. M., Oliveira, G. R. D., Brito, T. S. D., Soares, D. R. P., Tessitore, A. J. D. A., Alvarenga, É. R. D., Teixeira, E. D. A. (2016). Digestibility of ingredients in diets for pacman catfish juveniles (*Lophiosilurus alexandri*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 51(6), 785-788.

Michelato, M., de Oliveira Vidal, L. V., Xavier, T. O., de Moura, L. B., de Almeida, F. L. A., Pedrosa, V. B., Furuya, W. M. (2016). Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. **Aquaculture**, 457, 124-130.

Mitsch, P., Zitterl-Eglseer, K., Köhler, B., Gabler, C., Losa, R., Zimpernik, I. (2004). The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. **Poultry Science**, 83(4), 669-675.

Mommsen, T. P. (2001). Paradigms of growth in fish. Comparative biochemistry and physiology part B: **Biochemistry and molecular biology**, 129(2-3), 207-219.

Oetting, L. L., Utiyama, C. E., Giani, P. A., Ruiz, U. S., Miyada, V. S. (2006). Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(4), 1389-1397.

Petrolli, T. G., Albino, L. F. T., Rostagno, H. S., Gomes, P. C., Tavernari, F. D. C., Balbino, E. M. (2012). Herbal extracts in diets for broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(7), 1683-1690.

Platel, K., & Srinivasan, K. (2000). Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. **Food / Nahrung**, 44(1), 42-46.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. **Aquaculture**, 433, 50-61.

Rowlerson, A., Mascarello, F., Radaelli, G., & Veggetti, A. (1995). Differentiation and growth of muscle in the fish *Sparus aurata* (L): II. Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle from hatching to adult. **Journal of Muscle Research & Cell Motility**, 16(3), 223-236.

Salaro, A. L., Oliveira Junior, J. C., Lima, F. W., Ferraz, R. B., Pontes, M. D., Campelo, D. A., Luz, R. K. (2015). Gelatin in replacement of bovine heart in feed training of *Lophiosilurus alexandri* in different water salinities. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 87(4), 2281-2287.

Sant'Ana, L., Melilo Filho, R., Silva, W.S., Mattioli, C.C., Teixeira, L.V., Luz, R.K. (2017). Aspectos sensoriais do pacamã: uma espécie promissora. **Panorama da Aquicultura** (Ed 158).

Santurio, J. M., Santurio, D. F., Pozzatti, P., Moraes, C., Franchin, P. R., Alves, S. H. (2007). Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, 37(3), 803-808.

Sato, Y. (2003). Padrões reprodutivos de peixes da bacia do São Francisco. *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*, 229-274.

Seden, M. E. A., Abbass, F. E., Ahmed, M. H. (2009). Effect of *Origanum vulgare* as a feed additive on growth performance, feed utilization and whole-body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. fingerlings challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. **Mansoura University Journal of Agricultural Sciences**.

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 93(11), 2707-2714.

Valente, L. M., Moutou, K. A., Conceição, L. E., Engrola, S., Fernandes, J. M., & Johnston, I. A. (2013). What determines growth potential and juvenile quality of farmed fish species? **Reviews in Aquaculture**, 5, S168-S193.

Volpatti, D., Chiara, B., Francesca, T., Marco, G. (2013). Growth parameters, innate immune response and resistance to *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum* of *Dicentrarchus labrax* fed carvacrol supplemented diets. **Aquaculture Research**, 45(1), 31-44.

Weatherley, A. H., Gill, H. S., & Lobo, A. F. (1988). Recruitment and maximal diameter of axial muscle fibres in teleosts and their relationship to somatic growth and ultimate size. **Journal of Fish Biology**, 33(6), 851-859.

Webber, A., Arteni, N. S., Schierholt, R. C., Rosa Neto, P., Netto, C. A., & Achaval-Elena, M. (1996). Atividade do glicogênio fosforilase-a no hipocampo de ratos. Salão de Iniciação Científica (8.: 1996: Porto Alegre). **Livro de resumos**. Porto Alegre: UFRGS, 1996.

Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A. (2008). Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of animal science**, 86(suppl\_14), E140-E148.

Yilmaz, E., & Ergün, S. (2015). Influence of carvacrol on the growth performance, hematological, non-specific immune and serum biochemistry parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Food and Nutrition Sciences**, 6(05), 523.

Zheng, Z. L., Tan, J. Y., Liu, H. Y., Zhou, X. H., Xiang, X., Wang, K. Y. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum L.*) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, 292(3-4), 214-218.

Zimmerman, A. M., & Lowery, M. S. (1999). Hyperplastic development and hypertrophic growth of muscle fibers in the white seabass (*Atractoscion nobilis*). **Journal of Experimental Zoology**, 284(3), 299-308.

## **CAPÍTULO 2**

**Efeito do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na bioquímica sérica, atividade antioxidante e histomorfometria hepática de juvenis de *Lophiosilurus alexandri***

Artigo redigido com base nas normas do periódico Journal of Fish Biology.

**Efeito do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) na bioquímica sérica, atividade antioxidante e histomorfometria hepática de juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*)**

**RESUMO:** Avaliamos os efeitos de 90 dias de suplementação dietética com diferentes níveis de óleo essencial de orégano (OEO) (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 g kg<sup>-1</sup>) sobre a bioquímica sérica, atividade antioxidante e histomorfometria hepática de juvenis de *Lophiosilurus alexandri*. Os dados foram analisados por meio de ANOVA e regressão polinomial ao nível de 5 % de probabilidade. O OEO não alterou as concentrações séricas de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), proteína total, ureia e creatinina. O nível estimado de 1,28 g kg<sup>-1</sup> de OEO levou à maior concentração sérica de gama-glutamil transferase (GGT) nos peixes. Não houve efeito do OEO sobre a atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido-dismutase (SOD) e do produto malondialdeído (MDA) no fígado dos peixes. O nível estimado de 0,87 g kg<sup>-1</sup> de OEO levou à maior atividade da glutathione-S-transferase (GST) no tecido hepático. Nas brânquias não houve efeito do OEO sobre a atividade da SOD e GST. No entanto, o nível estimado de 2,5 g kg<sup>-1</sup> levou a menor atividade da CAT e o de 2,0 g kg<sup>-1</sup> à maior concentração de MDA nas brânquias dos peixes. Não houveram efeitos dos diferentes níveis de OEO sobre a histomorfometria hepática dos peixes. Nossos resultados indicam que doses próximas de 1,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO melhoram a capacidade antioxidante de *L. alexandri*.

**Palavras-chave:** carnívoro, carvacrol, extrato vegetal, estresse, fígado

## 1. INTRODUÇÃO

A adição de óleos essenciais (OE) em dietas para peixes vem sendo proposta com a finalidade de melhorar a saúde e o estado nutricional dos animais. Os mecanismos de ação dos OE no organismo dos animais vão desde o controle de patógenos (Luchese, 2009) e melhora da digestão (Mitsch et al., 2004) e absorção dos nutrientes (Ferreira et al., 2016) à melhoria da atividade antioxidante (Zheng et al., 2009).

Em dieta para peixes, o óleo essencial de orégano (OEO) se apresenta como um dos mais promissores aditivos de origem vegetal. O OEO possui compostos como o carvacrol e o timol (Bamipidis et al., 2005), que são capazes de promover melhorias no desempenho produtivo (Ahmadifar et al., 2011; Diler et al., 2017), na atividade antioxidante (Zheng et al., 2009; Giannenas et al., 2012) e histologia hepática (Ferreira et al., 2016) dos peixes. No entanto ainda são poucos os estudos que investigam alterações fisiológicas e histológicas em peixes alimentados com OEO. A análise bioquímica do sangue (Rodrigues et al., 2018) e a histologia do fígado dos peixes (Frerichs & Roberts 1989; Takashima & Hibiya 1995) são boas ferramentas na avaliação do estado nutricional e ocorrência de distúrbios metabólicos nos peixes.

Além disso, condições de cativeiro podem ser extremamente estressoras para os peixes, principalmente se tratando de espécies de hábito alimentar carnívoro. O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre antioxidantes e espécies reativas, podendo levar a danos celulares (Agrawal & Sharma, 2010). Para evitar tais danos, as células possuem enzimas como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione S-transferase (GST) (Hermes-Lima 2004). O aumento do potencial antioxidante em peixes alimentados com OE se deve à presença de compostos ativos que desativam os radicais livres, impedindo os processos de oxidação (Oetting, 2006). Logo, a quantificação destas enzimas e do produto da peroxidação lipídica malondealdeído (MDA) cujo acúmulo é altamente citotóxico (Hershko, 1989), também podem ser utilizados para avaliar o fisiológico de estresse dos peixes alimentados com OE.

O pacamã, *Lophiosilurus alexandri*, peixe da ordem dos Siluriformes é endêmico da bacia do Rio São Francisco. É uma espécie carnívora, de hábito sedentário (Tenório et al., 2006) e comportamento alimentar noturno (Kitagawa et al., 2015). Esta espécie apresenta excelente potencial de crescimento, podendo chegar a oito quilos na natureza (Cardoso et al., 1996). Além disso, esta espécie vem chamando a atenção de pesquisadores e piscicultores

pela excelente qualidade de carne, sem espinhos intramusculares, e pelo alto rendimento de filé (Santos & Luz, 2009).

Assim, com o presente estudo objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão do OEO, sobre a bioquímica sérica, a atividade antioxidante nos tecidos hepático, branquial e muscular, e também sobre a histomorfometria hepática de *Lophiosilurus alexandri*.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Peixes I do Setor de Piscicultura da Universidade Federal de Viçosa - UFV, Brasil, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção, processo n° 56/2017.

### **2.1 Delineamento e dietas experimentais**

O experimento foi realizado utilizando-se delineamento inteiramente com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de dietas isoproteicas (350 g kg<sup>-1</sup> de proteína bruta) e isoenergéticas (440 Kcal kg<sup>-1</sup> de energia bruta), contendo os níveis de 0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO obtido da planta *Origanum vulgare* (Tabela 10).

Tabela 10. Composição e análise química das dietas experimentais.

Ingredientes (g kg <sup>-1</sup> )	OEO (g kg <sup>-1</sup> )			
	0,00	1,00	2,00	4,00
Farelo de soja	195,00	195,00	195,00	195,00
Farinha de peixe	400,00	400,00	400,00	400,00
Fubá de milho	175,20	175,20	175,20	175,20
Farelo de trigo	100,00	100,00	100,00	100,00
Óleo essencial de orégano <sup>1</sup>	0,00	0,00	0,00	0,00
Caulin	20,00	20,00	20,00	20,00
Celulose	20,00	20,00	20,00	20,00
Lisina	4,00	4,00	4,00	4,00
Metionina	5,50	5,50	5,50	5,50
Óleo de soja	70,00	70,00	70,00	70,00
Vitamina C	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal	5,00	5,00	5,00	5,00
Premix mineral e vitaminico <sup>2</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00
BHT <sup>3</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20
<b>Análises químicas<sup>4</sup></b>				
Matéria seca (MS) (%)	91,59	91,21	91,07	92,10
Proteína bruta (% MS)	35,17	35,32	35,17	35,42
Energia Bruta <sup>5</sup> (Kcal kg <sup>-1</sup> )	4494,0	4439,0	4494,0	4432,0
Energia Bruta:Proteína Bruta (Kcal kg <sup>-1</sup> )	1,27	1,25	1,27	1,25
Extrato etéreo (% MS)	13,60	12,39	14,75	13,27
Cinzas (% MS)	10,89	10,89	11,04	10,80

<sup>1</sup>Produto comercial óleo essencial de orégano – *Origanum vulgare* (Mundo dos Óleos LDTA);

<sup>2</sup>Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000UI; Vit. D3; 200.000UI; Vit. E, 12.000mg; Vit. K3, 2.400mg ;Vit. B1, 4.800mg; Vit. B2, 4.800mg; Vit. B6, 4.000mg; Vit. B12, 4.800mg; Ac. Fólico, 1.200mg; Pantotenato Ca, 12.000mg; Vit. C, 48.000mg; Biotina, 48mg; Colina, 65.000mg; Niacina, 24.000mg; Ferro, 10.000mg; Cobre, 6.000mg; Manganês, 4.000mg; Zinco, 6.000mg; Iodo, 20mg; Cobalto, 2mg; Selênio, 20mg.

<sup>3</sup>Butilhidroxi tolueno (antioxidante).

<sup>4</sup>Analisada de acordo com Detmman et al., (2002).

<sup>5</sup>Composição química por meio de análises laboratoriais (INCT, 2012), realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Tabela 11. Composição química do OEO.

Composição química <sup>1</sup>	g 100g <sup>-1</sup>
Carvacrol	630,0
Timol	47,0
$\rho$ -cimeno	128,0
$\gamma$ -terpineno	84,0
$\alpha$ -pineno	16,0
Cis-sabineno hidrato	16,0
$\beta$ -cariofileno	14,0
Mirceno	14,0
$\alpha$ -Terpineno	11,0
Sabineno	8,0
Canfeno	7,0
$\alpha$ -thujeno	0,4
1,8-cineol	0,3

Método de análise: cromatografia gasosa de alta resolução (HP 5890, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Coluna: 25 m  $\times$  0.25 mm BP1 (SGE). Temperaturas: Coluna: 60°C (3 min), 3 °C/min até 200°C. Injetor: 250 C Split: 1/200. Detector FID: 250°C. Volume de injeção: 1  $\mu$ L (0.5% concentração de 0,5% de clorofórmio).

## 2.2 Peixes e condições de cultivo

Juvenis de *L. alexandri* ( $15,7 \pm 1,8$  g;  $9,5 \pm 0,45$ cm) foram distribuídos em 16 tanques circulares (80L), na densidade de cinco peixes por tanque. Os tanques foram mantidos em sistema de recirculação de água (vazão de  $1,5$  L min<sup>-1</sup>) equipado com filtros biológico, mecânico e ultravioleta, aeração contínua e temperatura de  $25,18 \pm 0,13$ °C. A amônia tóxica manteve-se em  $0,0 \pm 0,01$  mg L<sup>-1</sup> e foi averiguada por meio de kits de análise Labcon®, e oxigênio dissolvido em  $5,36 \pm 0,5$  mg L<sup>-1</sup> analisador automático de oxigênio (YSI-550<sup>a</sup>, EUA). O laboratório foi mantido em fotoperíodo de 12h, controlado por timer analógico.

Os peixes foram alimentados nos horários de 8:00 e 17:00 horas até a saciedade visual aparente, por 90 dias. Diariamente, foram retirados  $\frac{1}{4}$  da água dos tanques para sifonagem das fezes e manutenção da qualidade da água.

### **2.3 Bioquímica sérica**

Amostra de sangue de um peixe de cada unidade experimental (n = oito por tratamento) foi obtida por meio de corte com bisturi na região do pedúnculo da nadadeira caudal dos peixes e o sangue foi coletado em seringa heparinizada (1ml). O sangue foi centrifugado por 15 minutos à 5000rpm e no plasma determinou-se os níveis de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama-glutamil-transpeptidase (GGT), proteína total, ureia e creatinina, utilizando-se kit colorimétrico Bioclin® (Quibasa - Química Básica, Belo Horizonte, Brasil). As leituras foram realizadas em equipamento BS 200 (Clinical Chemistry Analyzer Mindray®) no comprimento de onda indicado pelo fabricante dos kits.

### **2.4 Atividade antioxidante**

Amostras de fígado e brânquias de dois peixes de cada unidade experimental (n = 12 por tratamento) foram homogeneizadas em tampão fosfato (pH 7,4) e centrifugadas a 12000 rpm (4°C) por 10 min. No sobrenadante foram estimadas a atividade das enzimas antioxidantes e a concentração de metabólitos provenientes da ação de espécies reativas de oxigênio. Foram determinadas a das atividades das enzimas catalase (CAT), pelo método descrito por Aebi, (1984), superóxido dismutase (SOD), pelo método de Dieterich et al., (2000) adaptado para leitor de Elisa a 570 nm e glutathione-S-transferase (GST), pelo método descrito por Habig (1976). Os resultados obtidos para CAT, SOD e GST foram expressos em U CAT mg de proteína<sup>-1</sup>; U SOD mg de proteína<sup>-1</sup> e  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ , respectivamente.

O produto malondealdeído (MDA) foi quantificado utilizando-se o método descrito por Buege & Aust (1978). Foi adicionado ao sobrenadante, solução TBARS (ácido tricloroacético a 15%, ácido tiobarbitúrico a 0,375% e HCl a 0,25 N), em seguida, a mistura foi colocada em banho-maria (90°C por 15min), resfriada e centrifugada a 10.000 rpm por 10 min. O sobrenadante resultante foi coletado e levado ao espectrofotômetro a 535 nm para leitura. Para o cálculo utilizou-se o coeficiente  $1,56 \cdot 10^{-5} \text{ M cm}^{-1}$ . O resultado foi expresso em  $\mu\text{M mg proteína}^{-1}$  de proteína.

### **2.5 Histomorfometria hepática**

Para análise histomorfométrica do tecido hepático foram coletados fragmentos de fígado de dois peixes por unidade experimental (n = oito por tratamento), fixados em solução de formalina 10% por 12 horas e em seguida desidratados em uma série alcoólica crescente

para incorporação em historesina (Historesin®, Leica, São Paulo, SP, Brasil). O material foi cortado transversalmente de forma semiseriada em micrótomo (Leica RM2255), obtendo-se cortes de três µm de espessura. Foram dispostos em lâmina de vidro histológico dez cortes de cada fragmento. O tecido foi corado com hematoxilina e eosina, e a preparação fixada com Entellan®. As lâminas foram fotodocumentadas utilizando-se microscópio de luz (Olympus BX53, Tóquio, Japão), com uma câmera acoplada (Olympus DP73), e as imagens analisadas por meio do *software* ImagePro-Plus®.

Para análise do tecido hepático as imagens foram sobrepostas em uma grade, com 234 pontos, e procedeu-se a contagem dos núcleos, capilares sanguíneos e citoplasma presentes nos pontos de interseção de cinco imagens por animal. Os diâmetros nucleares dos hepatócitos foram estimados através da medida de 100 núcleos por animal.

## **2.6 Análises estatísticas**

Os dados foram analisados utilizando-se o *software* R versão 3.3.2, onde foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-WILK. Em seguida foram submetidos à análise de variância de duas vias, e quando apresentado diferença ( $p < 0,05$ ), foi realizada análise de regressão polinomial.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1 Bioquímica sérica**

Os níveis dietéticos de OEO não afetaram ( $P > 0,05$ ) as concentrações séricas de AST, ALT, proteína total, uréia e creatinina (Tabela 12). Houve apenas alteração nos níveis séricos de GGT dos peixes ( $P < 0,05$ ). De acordo com a análise polinomial, 1,28 g kg<sup>-1</sup> de OEO levaram à maior concentração sérica de GGT em juvenis de *L. alexandri* (Tabela 12).

### **3.2 Atividade antioxidante**

#### *Tecido hepático*

No fígado, não houveram efeitos dos níveis de OEO sobre a atividade das enzimas CAT, SOD e do produto MDA. Houve apenas efeito do OEO sobre a atividade da enzima GST. De acordo com a análise polinomial, o nível de 0,87 g kg<sup>-1</sup> de OEO levou à maior atividade desta enzima no tecido hepático dos peixes (Tabela 13).

### *Tecido braquial*

Nas brânquias, houve efeitos dos níveis dietéticos de OEO na atividade das enzimas CAT, e também no produto MDA ( $P < 0,05$ ). De acordo com a análise polinomial,  $2,5 \text{ g kg}^{-1}$  de OEO levou a menor atividade da CAT nas brânquias dos peixes (Tabela 14). A concentração do produto MDA foi maior com o nível de OEO de  $2,0 \text{ g kg}^{-1}$  (Tabela 14).

### 3.3 Histomorfometria hepática

Não houveram efeitos dos níveis de OEO sobre a histomorfometria dos hepatócitos de *L. alexandri* (Tabela 15).

Tabela 12. Bioquímica sérica de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.

	OEO ( $\text{g kg}^{-1}$ )				P - valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
AST ( $\mu\text{l dL}^{-1}$ )	18,25 ± 0,96	24,25 ± 4,19	24,75 ± 15,04	24,75 ± 12,23	0,74
ALT ( $\mu\text{l dL}^{-1}$ )	7,00 ± 2,94	10,75 ± 5,74	7,67 ± 2,52	8,75 ± 4,86	0,65
GGT <sup>1</sup> ( $\mu\text{l dL}^{-1}$ )	7,25 ± 0,50	7,33 ± 0,58	8,00 ± 1,41	4,33 ± 2,52	0,04
TP ( $\text{g ml}^{-1}$ )	1,60 ± 0,10	1,87 ± 0,07	1,80 ± 0,20	1,70 ± 0,20	0,36
URE ( $\text{mg dL}^{-1}$ )	14,00 ± 1,15	19,75 ± 7,32	12,25 ± 5,38	11,00 ± 6,16	0,17
CRE ( $\text{mg dL}^{-1}$ )	0,32 ± 0,07	0,36 ± 0,09	0,42 ± 0,12	0,35 ± 0,07	0,53

Proteína total (PT); ureia (URE); creatinina (CRE);

<sup>1</sup> $Y = -0,48x^2 + 1,26x + 7,09$ ,  $R^2 = 0,94$ ;

Valores apresentados como médias ± CV (n = 8)

Tabela 13. Atividade antioxidante no fígado de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis OEO.

	OEO ( $\text{g kg}^{-1}$ )				P - valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
CAT	24,260 ±	28,818 ±	30,185 ±	33,174 ±	0,13
(U CAT $\text{mg proteína}^{-1}$ )	0,741	3,984	6,445	1,209	
SOD	0,181 ±	0,222 ±	0,255 ±	0,189 ±	0,14
(U SOD $\text{mg proteína}^{-1}$ )	0,032	0,042	0,056	0,051	
GST <sup>1</sup>	27,708 ±	28,854 ±	27,200 ±	20,065 ±	0,05
( $\mu\text{mol min}^{-1}\text{g}^{-1}$ )	1,566	3,821	3,719	5,306	
MDA	0,582 ±	0,599 ±	0,699 ±	0,679 ±	0,15
( $\mu\text{M mg proteína}^{-1}$ )	0,110	0,089	0,026	0,041	

<sup>1</sup> $Y = 0,86x^2 + 1,51x + 27,84$ ,  $R^2 = 0,99$ ;

Valores apresentados como médias ± CV (n = 12).

Tabela 14. Atividade antioxidante nas brânquias de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas

	OEO (g kg <sup>-1</sup> )				P - valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
CAT <sup>1</sup> (U CAT mg proteína <sup>-1</sup> )	0,457 ± 0,173	0,416 ± 0,145	0,301 ± 0,120	0,333 ± 0,076	0,04
SOD (U SOD mg proteína <sup>-1</sup> )	0,126 ± 0,032	0,204 ± 0,105	0,159 ± 0,062	0,165 ± 0,048	0,07
GST (µmol min <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )	4,408 ± 1,544	4,713 ± 2,080	3,510 ± 1,425	4,785 ± 2,108	0,38
MDA <sup>2</sup> (µM mg proteína <sup>-1</sup> )	2,33 ± 0,659	2,78 ± 0,540	2,03 ± 0,492	3,59 ± 0,968	0,00

<sup>1</sup>Y = 0,01x<sup>2</sup> - 0,10 x + 0,47, R<sup>2</sup> = 0,85;

<sup>2</sup>Y = 0,01x<sup>2</sup> + 0,04x + 0,13, R<sup>2</sup> = 0,39;

Valores apresentados como médias ± CV (n = 12).

Tabela 15. Histomorfometria hepática de juvenis de *Lophiosilurus alexandri* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de OEO.

	OEO (g kg <sup>-1</sup> )				P - valor
	0,0	1,0	2,0	4,0	
Núcleos (%)	7,37 ± 0,69	7,99 ± 1,22	8,37 ± 0,97	7,55 ± 0,44	0,58
Citoplasma (%)	82,01 ± 2,56	80,62 ± 1,35	77,90 ± 2,00	75,97 ± 5,60	0,19
Capilares (%)	10,22 ± 0,16	12,15 ± 1,39	13,58 ± 1,20	13,16 ± 0,90	0,06
Diâmetro núcleos (µm)	5,33 ± 0,09	5,28 ± 0,28	5,28 ± 0,49	5,49 ± 0,10	0,79

Valores apresentados como médias ± CV (n = 8).

#### 4. DISCUSSÃO

O presente estudo mostra que a suplementação dietética com baixos níveis de OEO exerceu efeito positivo sobre a atividade antioxidante de juvenis do bagre neotropical, *L. alexandri*. Foi observado aumento da atividade da GGT e da GST em peixes alimentados com níveis de OEO próximos a 1,0 g kg<sup>-1</sup>. Por outro lado, níveis mais elevados de OEO, próximos de 2,0 g kg<sup>-1</sup>, diminuíram a atividade da enzima CAT e elevaram as concentrações de MDA no tecido branquial dos peixes.

O aumento da atividade da GST no fígado dos peixes indica que o OEO provavelmente atuou melhorando a capacidade antioxidante deste tecido. A GST possui a

capacidade de promover a associação da glutathiona (GSH) com metabólitos potencialmente perigosos para os seres vivos (Oliveira et al., 2017), tais como agentes químicos e produtos da peroxidação lipídica (Galleano & Puntarulo, 1995). Portanto, o aumento da atividade desta enzima indica melhorias na capacidade de metabolizar compostos prejudiciais ao organismo. A GST se liga a estes conjugados e os leva para fora das células, onde são clivados pela ação da GGT (Suzuki et al., 2001). No presente estudo, peixes alimentados com cerca de 1,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO também apresentaram maiores concentrações plasmáticas de GGT. A elevação dos níveis séricos de GGT pode ser frequentemente relacionada à lesão hepática. No entanto não houveram alterações nas concentrações séricas das aminotransferases, ALT e AST, comumente utilizadas na identificação de lesões hepáticas (Kaneko, 2008). Também não foram observadas alterações na análise histológica do tecido hepático dos peixes. Logo, o aumento da concentração sérica da GGT pode estar relacionado ao aumento de produtos metabolizados pela ação da GST nos peixes alimentados com cerca de 1,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO, indicando maior atividade antioxidante e combate a radicais livres neste tecido.

A atividade antioxidante da maioria dos OEs é atribuída à presença de compostos fenólicos, que atuam como eliminadores de radicais (Franz et al., 2010). Em jundiá (*Rhamdia quelen*) a atividade da GST no fígado foi de 30% a 25% maior com a adição de 0,5 mL kg<sup>-1</sup> de óleo essencial de *Lippia alba* que nos peixes alimentados com 0,25 e 2,0 mL kg<sup>-1</sup> (Saccol et al., 2013). A administração dietética de óleo essencial de *Thymus vulgaris*, cujos princípios ativos também são o timol e o carvacrol, também aumentou a atividade da GST no fígado da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), sendo o melhor nível de inclusão 1,0 mg kg<sup>-1</sup> (Sönmez et al., 2015). O fígado é um importante local de desintoxicação e, portanto, muito importante no entendimento do papel das enzimas antioxidantes (Bagnyukova et al., 2005). Este é o principal órgão de síntese de GSH (Deneke & Fanburg, 1989). Assim, as diferenças observadas nos tecidos analisados podem ser devido a diferentes taxas de geração de radicais livres, diferenças na suscetibilidade a danos oxidativos e até a diferentes capacidades antioxidantes dos tecidos.

No tecido branquial dos peixes, níveis mais elevados de OEO, diminuíram a atividade da CAT e elevaram as concentrações de MDA. A CAT converte o peróxido de hidrogênio, cuja ação oxidativa pode ser prejudicial à alguns tipos de células, em água e oxigênio (Droge, 2002). Já o MDA é um produto da peroxidação lipídica, altamente citotóxico para o organismo (Hershko, 1989). Portanto, estes resultados indicam que peixes alimentados com

doses mais elevadas de OEO apresentaram diminuição da atividade antioxidante e aumento da peroxidação lipídica nas brânquias. Isto pode ter sido porque em maior concentração, o OEO pode ter resultado na produção de subprodutos que interferiram na atividade antioxidante dos peixes. Além disso, tecidos e órgãos têm diferentes taxas de atividade metabólica e consumo de oxigênio, sendo seus níveis de antioxidantes diferentes (Saccol et al., 2013). Portanto, o fato de ter ocorrido alterações na atividade antioxidante das brânquias pode estar relacionado ao fato deste órgão suportar grande atividade metabólica, principalmente frente situações estressoras.

São poucos os estudos que avaliaram o efeito dos extratos de orégano sobre a histologia do fígado, sendo os resultados destes controversos. Neste estudo, não foram observadas alterações entre os peixes alimentados com os diferentes níveis de OEO. Ygit et al. (2017) avaliando a histologia hepática da truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), observaram leve necrose ou degeneração em peixes alimentadas com dietas contendo altos níveis de inclusão de OEO, *Origanum onites*. Entretanto, em lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), Ferreira et al. (2016), relatou aumento nos percentuais de citoplasma associado a aumento na deposição de glicogênio e diminuição nos percentuais de núcleos e capilares sanguíneos dos hepatócitos de peixes alimentados com altos níveis de OEO, *Origanum vulgare*. Portanto,

Os resultados deste estudo demonstram que os efeitos do OEO variam com a espécie de peixe e com o nível de inclusão utilizado. Além disso, concluímos que a suplementação com 1,0 g kg<sup>-1</sup> de OEO na dieta de *L. alexandri* é recomendada por melhorar o potencial antioxidante dos peixes.

## **5. AGRADECIMENTOS**

Gostaríamos de agradecer à Universidade Federal de Viçosa (UFV) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, DF, Brasil.

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In **Methods in enzymology**. Academic Press, 105,121-126.

Agrawal, A., & Sharma, B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems: a review. **International Journal of Biological and Medical Research**,1(3), 90-104.

Ahmadifar, E., Falahatkar, B., Akrami, R. (2011). Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Applied Ichthyology**, 27(4), 1057-1060.

Bagnyukova, T. V., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2005). Adaptive response of antioxidant enzymes to catalase inhibition by aminotriazole in goldfish liver and kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 142(3), 335-341.

Bampidis, V. A., Christodoulou, V., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Spais, A. B., Chatzopoulou, P. S. (2005). Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal feed science and technology**, 121(3-4), 285-295.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In: **Methods in enzymology** (Vol. 52, pp. 302-310). Academic Press.

Cardoso, E. L. (1992). Toxidez de amônia não ionizada e seu efeito sobre a pele e brânquias de *Lophiosilurus alexandri* Steindachner 1876; *Prochilodus affinis* Reinhardt, 1874; *Prochilodus marggravii* (Walbaum, 1792); *Leporinus elongatus* Valenciennes, 1849; (Pisces, Teleostei).

Deneke, S. M., & Fanburg, B. L. (1989). Regulation of cellular glutathione. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, 257(4), L163-L173.

Detmann, E., Souza, M. D., Valadares Filho, S. D. C., Queiroz, A. D., Berchielli, T. T., Saliba, E. D. O., Azevedo, J. A. G. (2012). **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 214.

Dieterich, S., Bieligg, U., Beulich, K., Hasenfuss, G., Prestle, J. (2000). Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. **Circulation**,101(1), 33-39.

Diler, O., Gormez, O., Diler, I., Metin, S. (2017). Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition**, 23(4), 844-851.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

Ferreira, P. M., Caldas, D. W., Salaro, A. L., Sartori, S. S., Oliveira, J. M., Cardoso, A. J., Zuanon, J. A. (2016). Intestinal and liver morphometry of the Yellow Tail Tetra (*Astyanax altiparanae*) fed with oregano oil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 88(2), 911-922.

Franz, C., Baser, K. H. C., & Windisch, W. (2010). Essential oils and aromatic plants in animal feeding—a European perspective. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, 25(5), 327-340.

Frerichs, G. N., & Roberts, R. J. (1989). **Fish pathology**, 289-319.

Galleano, M., & Puntarulo, S. (1995). Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, 1271(2-3), 321-326.

Galleano, M., & Puntarulo, S. (1995). Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, 1271(2-3), 321-326.

Giannenas, I., Triantafillou, E., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, S., Steiner, T., Karagouni, E. (2012). Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 350, 26-32.

Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of biological Chemistry**, 249 (22), 7130-7139.

Hermes-Lima, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. *Functional metabolism: Regulation and adaptation*, 1, 319-66.

Hershko, C. (1989). Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. In **Seminars in hematology**, 26 (4), 277.

Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. (Eds.). (2008). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press.

Kitagawa, A. T., Costa, L. S., Paulino, R. R., Luz, R. K., Rosa, P. V., Guerra-Santos, B., & Fortes-Silva, R. (2015). Feeding behavior and the effect of photoperiod on the performance and hematological parameters of the pacamã catfish (*Lophiosilurus alexandri*). *Applied animal behaviour science*, 171, 211-218.

Luchese, F. C. (2009). Óleos essenciais de orégano e alecrim na prevenção e no tratamento da diarreia neonatal em leitões.

Mitsch, P., Zitterl-Eglseer, K., Köhler, B., Gabler, C., Losa, R., Zimpernik, I. (2004). The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. **Poultry Science**, 83(4), 669-675.

Oetting, L. L., Utiyama, C. E., Giani, P. A., Ruiz, U. S., Miyada, V. S. (2006). Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(4), 1389-1397.

Rodrigues, G. M., de Oliveira Nascimento, F. G., Bizare, A., Oliveira, W. J., Guimarães, E. C., Mundim, A. V. (2018). Serum Biochemical Profile of Nile Tilapias (*Oreochromis niloticus*) Bred in Net Cages during Summer and Winter. **Acta Scientiae Veterinariae**, 46(1), 8.

Saccol, E. M., Uczay, J., Pês, T. S., Finamor, I. A., Ourique, G. M., Riffel, A. P., ... & Lazzari, R. (2013). Addition of *Lippia alba* (Mill) NE Brown essential oil to the diet of the silver catfish: an analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. **Aquaculture**, 416, 244-254.

Sönmez, A. Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., & Biswas, G. (2015). Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. **Fish physiology and biochemistry**, 41(1), 165-175.

Suzuki, T., Nishio, K, Tanabe, S. (2001). The MRP family and anticancer drug metabolism. **Current drug metabolism**, 2 (4), 367-377.

Takashima, F., & Hibiya, T. (1995). An atlas of fish histology: normal and pathological features.

Tenório, R. A., Guerra Santos, A. J., Lopes, J. P., Nogueira, E. M. S. (2006). Crescimento do niquim (*Lophiosilurus alexandri* Steindachner 1876), em diferentes condições de luminosidade e tipos de alimento. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 28(4).

Yigit, N. O., Diler, O., Koca, S. B., & Gormez, O. (2017). Effect on Histology and Nutrient Digestibility of Supplemented *Origanum onites* Essential Oil to Rainbow Trout Diets (*Oncorhynchus mykiss*). **Indian journal of pharmaceutical education and research**, 51(3), S262-S267.

Zheng, Z. L., Tan, J. Y., Liu, H. Y., Zhou, X. H., Xiang, X., Wang, K. Y. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, 292(3-4), 214-218.