

**Anais da IX Jornada de Iniciação
Científica da Embrapa Amazônia
Occidental**



ISSN 1517-3135

Dezembro, 2012

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

Documentos 100

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Occidental

*Ronaldo Ribeiro Moraes
Cheila de Lima Bojjink
Kátia Emidio da Silva
Regina Caetano Quisen*

Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM 010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpaa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *André Luiz Atroch, Edsandra Campos Chagas, Jony Koji Dairiki, José Clério Rezende Pereira, Kátia Emídio da Silva, Lucinda Carneiro Garcia, Maria Augusta Abtibol Brito, Maria Perpétua Beleza Pereira, Rogério Perin, Ronaldo Ribeiro de Moraes e Sara de Almeida Rios.*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Capa: *Lúcio Rogerio Bastos Cavalcanti*

1ª edição

1ª impressão (2012): 300

Todos os direitos reservados.

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

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Amazônia Ocidental.

Morais, Ronaldo Ribeiro et al.

Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental
/ (editado por) Regina Caetano Quisen et al.

- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2012.

320 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 100).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Respostas Fisiológicas de Pirarucu (*Arapaima gigas*) Tratado com Rações Suplementadas com Diferentes Óleos Essenciais

Adriana Freitas Rosas

Edsandra Campos Chagas

Jony Koji Dairiki

Francisco Célio Maia Chaves

Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue

Cheila de Lima Bojjink

Resumo

Um dos principais problemas da criação de pirarucu em cativeiro é a baixa sobrevivência de juvenis em decorrência de enfermidades e manejo inadequado. Sendo assim, o objetivo desta proposta foi avaliar as respostas fisiológicas do pirarucu tratado com rações suplementadas com óleos essenciais de alfavaca, cipó-alho e alho, utilizadas para o controle de parasitas, na tentativa de aperfeiçoamento das práticas de manejo. Para isso, juvenis de pirarucu foram divididos em 12 tanques d'água de 250 L, 9 pirarucus por caixa. Foram testados três óleos essenciais: alfavaca, cipó-alho e alho. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia por 40 dias; após o período experimental, os animais passaram por biometria, assim como no início do experimento, para avaliação do desempenho, e coleta de sangue para avaliação das respostas fisiológicas. Os níveis de glicose e proteína plasmática, contagens de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e íons (Na^+ , K^+ e Cl^-) não apresentaram diferenças significativas, indicando que esses peixes não sofreram estresse. Sendo assim, é

possível concluir que o pirarucu é tolerante a rações suplementadas com óleos essenciais de alfavaca, cipó-alho e alho, contudo os óleos não favoreceram o crescimento nas concentrações e tempos testados.

Palavras-chave: piscicultura, alfavaca, cipó-alho, alho.

Introdução

O pirarucu, *Arapaima gigas*, é um dos maiores peixes da ictiofauna de água doce do mundo. Possui hábito alimentar carnívoro, respiração aérea obrigatória e chama atenção pelo seu rápido crescimento. Essa espécie, há muito tempo, tem sido uma importante fonte de alimento para os habitantes da Amazônia. De elevado valor econômico, o pirarucu apresenta uma série de características positivas para a criação intensiva em pisciculturas, dentre as principais: o rápido crescimento (cerca de 10 kg no primeiro ano de criação); boa tolerância ao adensamento e às condições de cultivo intensivo em ambientes tropicais; capacidade de realizar a respiração aérea nas fases mais avançadas do seu desenvolvimento, aproveitando o ar diretamente da atmosfera, não dependendo do oxigênio dissolvido na água; fácil adaptação ao consumo de alimentos balanceados e rações comerciais; uma carne clara, magra, tenra, de alta qualidade e livre de espinhas intramusculares; alto rendimento de filé (acima de 45%), superando o rendimento alcançado pela maioria dos peixes atualmente cultivados no País; elevada demanda e valor de mercado, com excelentes perspectivas para o mercado internacional (SEBRAE, 2010). Apesar de os pontos positivos serem atrativos, a criação de pirarucus apresenta muitos problemas relacionados a doenças e parasitoses.

O uso de plantas medicinais na piscicultura é bastante antigo, principalmente nos países asiáticos. Na China existe uma indústria bastante importante que produz, beneficia e comercializa produtos à base de plantas medicinais para peixes, os quais atuam no controle e prevenção de doenças de importância econômica, como as infestações

por *Lernae* sp., *Argulus* spp., *Trichodina* spp. e até a septicemia hemorrágica em carpas (YIN et al., 2006). O alho vem sendo indicado na piscicultura em diversos países para diferentes espécies de peixes. No hemisfério norte há o relato do uso experimental do alho em larga escala para o salmão, na prevenção de infestação do *Lapeophtheirus salmonis* (BOXASPEN; HOLM, 1992). Há relato de aumento no crescimento do kinguio (*Carassius auratus*) alimentado com ração contendo 1 % de alho cru (SASMAL et al., 2005). No Brasil, trabalho de Laterça et al. (2002) descreve efeitos do alho na diminuição de monogenea (*Anacanthorus penilabiatu*s) nas brânquias de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), alimentado com 1 g e 2 g de alho em pó/kg de ração. O principal componente medicinal do alho é a alicina, que confere o cheiro característico do condimento. As propriedades medicinais estão associadas principalmente ao estímulo da glutathione S-transferase, usualmente relacionada com os processos de detoxificação de produtos gerados nas células ou xenobióticos, que são catalisados, tornando-os menos tóxicos e mais solúveis em água, facilitando a excreção. A maioria dos compostos medicinais do alho degrada-se com o calor elevado, podendo perder alguns de seus efeitos antibacterianos. O dialil sulfito e o dialil trisulfito são outros compostos do alho também envolvidos na função imunoestimulatória da proliferação de células T e citocinas produzidas pelos macrófagos (QUINTAES, 2007).

O cipó-alho é uma planta tropical que ocorre principalmente na Amazônia. Sua importância local está relacionada à utilização dessa planta na composição de remédios caseiros para doenças respiratórias e intestinais. Porém não há relato de uso dessa planta na composição de produtos para peixes. O teor de óleos essenciais do cipó-alho é de 0,1 % a 0,2%, muito semelhante aos bulbos do alho. A composição química do óleo essencial do cipó-alho é similar a do alho (XAVIER et al., 2003).

Outra planta que apresenta atividade antiparasitária é *Ocimum gratissimum*, conhecida como alfavaca (GARG, 1997), amplamente distribuída em regiões tropicais. O eugenol é o constituinte principal do óleo de alfavaca (MATOS, 1998). É usado como anestésico, pois é

rapidamente metabolizado e excretado (WAGNER et al., 2002), e como antimicótico, antifúngico, além de propriedades antibactericidas (ROSSET et al., 2005), sendo que, para peixes, até o momento só foi testado como anestésico (INOUE et al., 2005).

A Amazônia apresenta grande diversidade de plantas medicinais e conhecimento tradicional associado nas comunidades locais, principalmente as descendentes de povos indígenas, que passam suas informações verbalmente pelas gerações. Dessa forma, o uso de plantas amazônicas desperta uma visão nova na prevenção e tratamento de enfermidades em peixes, pois oferece alternativa do aproveitamento dos produtos da floresta de maneira econômica e sustentável. Contudo, é importante ter o conhecimento científico de como o animal irá responder aos tratamentos. As respostas são indicadores fisiológicos de estresse e avaliam se os animais estão conseguindo manter sua homeostase e se estão tolerando os produtos testados.

Material e Métodos

Juvenis de pirarucu adquiridos na Piscicultura Santo Antônio foram transferidos para o Laboratório Úmido da Embrapa Amazônia Ocidental e lá permaneceram por 30 dias para adaptação antes do início do experimento. Dividiram-se os animais em 12 tanques d'água de 250 L, 9 pirarucus por caixa. As caixas foram sorteadas para receber os tratamentos, no total de três tratamentos com três repetições. Três óleos essenciais foram testados: cipó-alho, alho e alfavaca. Os óleos foram adicionados a rações comerciais. As três rações experimentais foram compostas pela ração controle mais 0,2 mL de óleo essencial de óleo alho por 10 kg de ração, 0,2 mL de óleo essencial de cipó-alho por 10 kg de ração e 0,2 mL de óleo essencial de alfavaca por 10 kg de ração. Todos os óleos essenciais foram extraídos no laboratório de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Ocidental. Para a adição dos óleos essenciais nas rações experimentais foram diluídos em 0,5 L de álcool de cereais e borrifados na ração por pulverizador. Os peixes

foram alimentados duas vezes ao dia por 40 dias, com abastecimento de água em sistema fechado. Os parâmetros de qualidade da água foram avaliados durante todo o período experimental. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de um peagâmetro da marca YSI Enviromental (Modelo 100), as medidas de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e oxigênio dissolvido (mg/L) foram realizadas com oxímetro YSI 550-A. As concentrações de alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3/\text{L}$) e dureza ($\text{mg CaCO}_3/\text{L}$) foram determinadas pelo método de titulação das amostras, e a amônia total (mg/L) pelo método de endofenol. Após o período experimental, os animais passaram por uma biometria, assim como no início do experimento, para avaliação do desempenho. O sangue foi coletado por punção caudal para avaliação das respostas fisiológicas.

Análises Hematológicas

- **Hematócrito (Htc %):** em capilar de vidro preenchido com sangue e sedimentado de micro-hematócrito a $21.000 \times \text{g}$ por 3 min. Os valores foram calculados a partir de um cartão de leitura padronizado e os valores foram expressos em %.
- **Hemoglobina total (Hb):** foi determinada misturando-se 10 mL de sangue em 2mL de solução de Drabkin. Leitura óptica em espectrofotômetro em 540 nm. Para o cálculo de hemoglobina total foi utilizada a fórmula: $\text{HB total g\%} = \text{O.D.540} \times 1,6114 / 11 \times \text{FD}$, onde OD = oxigênio dissolvido e FD = fator de diluição.
- **Contagem de eritrócito (RBC):** foi determinada adicionando-se 10 mL de sangue a 2 mL de solução de citrato formol, misturando sem hemolisar. A contagem foi feita em microscópio óptico, utilizando câmara de contagem e lamínula especial (Câmara de Neubauer).
- **Índices hematimétricos:** foram obtidos a partir dos valores determinados para hematócrito, concentração de hemoglobina e número de eritrócito. De posse desses dados foram calculados os índices hematimétricos de Wintrobe, como volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os valores obtidos foram aplicados nas seguintes fórmulas:

VCM (volume corpuscular médio) = $Ht \times 10 / RBC$

HCM (hemoglobina corpuscular média) = $Hb \times 10 / RBC$

CHCM (concentração de hemoglobina globular média) = $Hb \times 100 / Htc$

Parâmetros osmorregulatórios

- **Concentração catiônica:** foi medida por fotometria de chama (Na^+ e K^+).
- **Concentração de Cl^- :** foi medida pelo kit reagente comercial, cujo princípio é: o cloreto reage com tiocianato de mercúrio formando cloreto mercúrico e tiocianato. O tiocianato, quando combinado com os íons férricos, forma tiocianato férrico, de coloração amarela com intensidade proporcional à concentração de cloretos, que é medida em 570 nm.

Intermediários metabólicos

- **Glicose:** a determinação de açúcares redutores foi baseada no método hidrolítico ácido de Dubois, realizada em ácido sulfúrico. Essa análise consiste no emprego de um volume adequado de extrato, adicionado de 500 μL de fenol 4,1% e 2,0 mL de ácido sulfúrico concentrado, rapidamente adicionado ao meio de reação. Os tubos de reação foram imediatamente resfriados em banho de água e a leitura óptica realizada em 480 nm. A concentração de glicose foi estimada contra um padrão de glicose contendo 100 nmoles.
- **Proteína total:** a concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford, utilizando-se como padrão proteico albumina sérica bovina. As concentrações foram determinadas em espectrofotômetro a 595 nm em leitura de microplaca Dynex Technologies, Inc. Serial no. ACXC3191.

- **Amônia total:** a concentração de amônia foi determinada por nesslerização, pela transferência de um volume adequado de extrato plasmático em um volume final de 2,0 mL, ao qual se adiciona 0,5 mL de reativo Nessler. A leitura óptica foi realizada em 420 nm, e a concentração, estimada contra um padrão contendo 100 nmoles de cloreto de amônio, expressa em mmoles/mL de plasma.

As diferenças entre as médias dos tratamentos foram estabelecidas por análise de variância (Anova) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água durante todo o período experimental permaneceram adequados ao equilíbrio orgânico dos peixes (Tabela 1). Os resultados demonstram que não houve alterações durante o período experimental, permanecendo dentro dos padrões adequados (SIPAÚBA-TAVARES, 1995), comprovando a não interferência nos resultados observados. Segundo Santos et al. (2009), o uso de produtos naturais em dietas de peixes é promissor, mas este tem diferentes ações no organismo animal, na dependência da concentração dos princípios ativos, quantidade usada na dieta, forma de utilização e forma de aplicação.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos da água dos tanques de tratamentos.

Parâmetro	Média
Oxigênio (mg/L)	4,8
pH	5,8
Temperatura (°C)	28,5
Amônia (mg/L)	0,2
Alcalinidade (mg CaCO ₃ / L)	2,3
Dureza (mg CaCO ₃ / L)	4,2

Os dados das biometrias realizadas no início e término do período experimental estão expressos na Tabela 2. Os tratamentos não influenciaram o crescimento dos animais. Laterça et al. (2002) também não observaram alteração significativa no ganho de peso de pacus (*P. mesopotamicus*) alimentados com ração suplementada com alho. No entanto, outras espécies como tilápia (*Oreochromis niloticus*), kinguio (*C. auratus*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) apresentaram ganho de peso ao ser alimentadas com ração suplementada com alho (SHALABY et al., 2006; SASMAL et al., 2005; NYA; AUSTIN, 2009). Não foram encontradas referências na literatura de utilização dos óleos essenciais de cipó-alho e alfavaca avaliando o desempenho de espécies aquícolas. Os níveis de glicose, proteína plasmática, amônia, contagens de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e íons (Na^+ , K^+ e Cl^-) não apresentaram diferenças significativas, como pode ser observado na Tabela 3, indicando que os pirarucus não sofreram estresse. O número de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito e o consumo de oxigênio aumentam quando os peixes estão sob estresse e, conseqüentemente, ocorre liberação de eritrócitos maduros, aumentando assim o número de eritrócito, hematócrito e concentração de hemoglobina (SAHU et al., 2007), o que não ocorreu no presente estudo com pirarucu.

Tabela 2. Ganho de peso dos pirarucus tratados com rações suplementadas com óleo de alfavaca, óleo de cipó-alho e óleo de alho.

Tratamentos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho de Peso (g)
Controle	525,60 ± 47,0	732,37 ± 22,7	206,80
Óleo de Alfavaca	479,60 ± 41,8	639,27 ± 41,7	159,68
Óleo de Cipó-Alho	440,17 ± 45,4	646,86 ± 79,8	206,69
Óleo de Alho	470,25 ± 40,5	646,79 ± 58,4	176,54

Tabela 3. Parâmetros sanguíneos de pirarucus alimentados com alfavaca, cipó-alho e alho na ração, após 40 dias de cultivo. Valores expressam média $\pm$ desvio padrão; n = 12. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Parâmetros	Controle	Alfavaca	Cipó-Alho	Alho
Amônia ($\mu\text{m}/\text{mL}$)	1,9 $\pm$ 0,2a	1,9 $\pm$ 0,4a	2,0 $\pm$ 0,3a	2,1 $\pm$ 0,4a
Proteína total (g/dL)	2,1 $\pm$ 0,3a	2,0 $\pm$ 0,3a	2,1 $\pm$ 0,2a	1,9 $\pm$ 0,3a
Glicose (mg/dL)	47,6 $\pm$ 11,7a	42,0 $\pm$ 18,1a	41,8 $\pm$ 16,1a	48,5 $\pm$ 19,4a
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	1,90 $\pm$ 0,33a	1,85 $\pm$ 0,20a	1,93 $\pm$ 0,32a	1,75 $\pm$ 0,13a
Hematócrito (%)	30,9 $\pm$ 2,2a	30,7 $\pm$ 2,5a	30,3 $\pm$ 3,7a	28,3 $\pm$ 3,4a
Hemoglobina (g/dL)	10,2 $\pm$ 1,5a	10,8 $\pm$ 1,4a	11,0 $\pm$ 2,5a	9,3 $\pm$ 1,6a
VCM (μm^3)	115,3 $\pm$ 15,4a	108,2 $\pm$ 16,3a	116,2 $\pm$ 20,4a	129,8 $\pm$ 18,0a
HCM (μg)	38,5 $\pm$ 6,3a	34,7 $\pm$ 7,2a	41,6 $\pm$ 8,5a	44,5 $\pm$ 9,8a
CHCM (%)	33,5 $\pm$ 3,7a	32,6 $\pm$ 7,3a	36,1 $\pm$ 6,5a	33,5 $\pm$ 8,7a
Na ⁺ (mEq/L)	73,4 $\pm$ 15,5a	76,0 $\pm$ 12,6a	63,7 $\pm$ 7,1a	70,1 $\pm$ 8,8a
K ⁺	4,5 $\pm$ 1,9a	4,3 $\pm$ 1,3a	3,5 $\pm$ 1,1a	3,1 $\pm$ 0,8a
Cl ⁻	115,8 $\pm$ 13,4a	114,5 $\pm$ 11,6a	110,3 $\pm$ 17,9a	122,5 $\pm$ 15,5a

Valores expressam média $\pm$ desvio padrão; n = 12.

Letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Conclusões

É possível concluir que o pirarucu é tolerante a rações suplementadas com os óleos essenciais de alfavaca, cipó-alho e alho, contudo os óleos não favoreceram o crescimento nas concentrações e tempos testados.

Referências

BOXASPEN, K.; HOLM, J. C. New biocides used against sea lice compared to organo-phosphorous compounds. In: DE PAUW, N. et al. (Ed.). Aquaculture and the Environment: reviews of the International Conference Aquaculture Europe '91, 1991, Dublin, Ireland. **EAS Special Publication**, v. 16, p. 393-402, 1992.

GARG, S. C. Anthelmintic activity of some medicinal plants. **Hamdard Medicus**, v. 40, p. 18-23. 1997.

INOUE, L. A. K. A.; AFONSO, L. O.; IWAMA, G.; MORAES, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) to transport. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 2, p. 289-295, 2005.

LATERÇA, M. L.; MORAES, F. R.; MIYASAKI, D. M. Y.; BRUM, C. D.; ONAKA, E. M.; FENERICK, JR., J.; BOZZO, F. R. Alternative treatment for *Anacanthorus penilabiatatus* (Monogenea: Dactylogyridae) infection in cultivated pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil and its haematological effects. **Parasite**, v. 9, n. 2, p. 175-180, 2002.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**. 3. ed. rev. atual. Fortaleza: UFC, 1998. p. 220.

QUINTAES, K. D. **Saiba mais sobre o alho**. Disponível em:
<<http://www.saudenarede.com.br>>. Acesso em: 20 ago. 2007.

NYA, E. J.; AUSTIN, B. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases**, v. 32, p. 963–970, 2009.

ROSSET, M.; ZAMARION, V. M.; FACCIONE, M.; FARIA T. J.; PINTO J. P.; BARBOSA, A. M.; SOUZA, J. R. P. Estudo químico da fração diclorometânica do extrato de *Ocimum gratissimum* L. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 515-520, 2005.

SAHU, S.; DAS, B. K.; MISHRA, B. K.; PRADHAN, J.; SARANGI, N. Effect of *allium sativum* on the immunity and survival of labeo rohita infected with *aeromonas hydrophila*. **Journal of Applied Ichthyology**, V. 23, P. 80-86, 2007.

SANTOS, E. L.; LUDKE, M. C. M. M.; LIMA, M. R. Extratos vegetais como aditivos em rações para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, p. 789-800, 2009.

SASMAL, D.; BABU, C. S.; ABRAHAM, T. J. Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on the growth and disease resistance of *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). **Indian journal of fisheries**, v. 52, p. 207-214, 2005.

SEBRAE. **Manual de boas práticas de produção e cultivo do pirarucu em cativeiro**. Porto Velho, 2010. 42 p.

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

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Ecologia geral de viveiros e tanques de criação. In: WORKSHOP SOBRE A QUALIDADE DA ÁGUA NA AQUICULTURA, 1996, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: CEPTA, 1995. 92 p.

WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON, B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility of rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. **Aquaculture**, v. 211, p. 353-366, 2002.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; OLIVEIRA, M. L. de. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). *Revista Árvore*, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 351-356, 2003.

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