

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**KELLI FLORES GARCÊZ**

**EXTRATO AQUOSO DA *Samanea tubulosa* (BENTH.) BARNEBY &  
GRIMES NA ALIMENTAÇÃO DA TILÁPIA-DO-NILO: EFEITOS  
SOBRE O CRESCIMENTO, SAÚDE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
NO TECIDO MUSCULAR**

**DISSERTAÇÃO**

**DOIS VIZINHOS**

**2021**

**KELLI FLORES GARCÊZ**

**EXTRATO AQUOSO DA *Samanea tubulosa* (BENTH.) BARNEBY & GRIMES  
NA ALIMENTAÇÃO DA TILÁPIA-DO-NILO: EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO,  
SAÚDE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO TECIDO MUSCULAR**

**AQUEOUS EXTRACT OF *Samanea tubulosa* (BENTH.) BARNEBY & GRIMES IN  
NILE TILAPIA FEEDING: EFFECTS ON GROWTH, HEALTH AND ANTIOXIDANT  
ACTIVITY IN MUSCLE TISSUE**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paula Fernandes Montanher

**DOIS VIZINHOS**

**2021**



Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do trabalho licenciado, mesmo para fins comerciais, desde que atribuam, ao autor, o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.



KELLI FLORES GARCEZ

**EXTRATO AQUOSO DA *Samanea tubulosa* (BENTH.) BARNEBY & GRIMES NA ALIMENTAÇÃO DA TILÁPIA-DO-NILO: EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO, SAÚDE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO TECIDO MUSCULAR**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Produção Animal.

Data de aprovação: 10 de Junho de 2021.

Prof Ricardo Yuji Sado, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Alvaro Jose De Almeida Bicudo, Doutorado - Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Prof.a Maude Regina De Borba, Doutorado - Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)

**A minha Família e a todos que  
acreditaram em mim!**

## AGRADECIMENTOS

O espaço limitado desta seção não me permite agradecer, de modo adequado, a todas as pessoas que, ao longo do mestrado me ajudaram, direta ou indiretamente, a alcançar os meus objetivos e a realizar esta etapa da minha formação acadêmica. Assim, deixo apenas algumas palavras, poucas, mas com profundo sentimento de reconhecimento e gratidão.

À Deus, por permitir chegar aonde estou hoje.

Ao meu amigo e companheiro, Paulo, pela compreensão, apoio, paciência e incentivo aos meus estudos. Por “sempre” me encorajar seguir em frente e não parar. Aqui, também, tem a tua participação, meu querido! Grata por tudo. Meu muito obrigada.

Aos meus pais e irmão pela compreensão, incentivo e apoio aos meus estudos. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado pela orientação, oportunidade, ajuda e todos os ensinamentos. Muito obrigada.

À Profa. Dra. Paula Fernandes Montanher pela coorientação, ajuda e todos os ensinamentos. Muito obrigada.

À Profa. Dra. Diesse Aparecida Sereia e Profa. Dra. Emilyn Maeda por terem me aceitado para ministrar suas disciplinas durante meu o Estágio Docência. Muito obrigada.

Em especial, aos meus queridos amigos que me acompanharam nesta jornada, Fernanda Delavy, Luis Alfonso Castro e Miguel Angel Guillén pela amizade e companheirismo. Vocês são muito especiais para mim. Dedico meus agradecimentos para “Fernanda Delavy e Luis Castro” por tudo que “fizeram” e “deixaram” de fazer por mim para me ajudarem durante o mestrado, aqui não tem espaço para descrever o “quanto” e “tanto” sou grata por incondicionalmente por “tudo”. Muito obrigada.

Aos membros da banca de Defesa, Prof. Dr. Álvaro de Almeida Bicudo, Profa. Dra. Maude Regina de Borba por terem aceitado o convite de participar da minha banca. Muito obrigada.

Aos professores da graduação (Unipampa) que apoiaram e contribuíram para eu entrar no mestrado, principalmente Giovani Taffarel Bergamin, Alexandra Pretto, Deise Castagnara, Marco Aurélio de Souza, Dioni Bonini e Alessandra Tamajusuku Neis.

A minha querida Profa. Dra. Deise Dalazen Castagnara, por tudo que fizeste por mim, amizade, apoio, incentivo e pela oportunidade de estudar com outras espécies de “peixes e camarões” fora do país. E por ainda fazer parte da minha vida, sempre me incentivando.

Aos amigos conquistados nesse período de dois anos, em especial a Ana Paula da Silva, Marina Vasconcelos, Fábio Antonelo, Carmen Brostolin, Leandro Nascimento, Emanoele Weis, Vanessa Poquiona, Diandra Jahn, Rafael Costa, Jucemara Rosler, Julia Deters, Bruno Pires (UEM), Bruno Guedes, Nayara Santana, Thais Pereira. Obrigada pela amizade, ajuda e companheirismo,

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho. Muito obrigada.

À Dona Mirian da Rosa pela amizade, apoio e atenção comigo durante esses dois anos. Muito obrigada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, a UTFPR-DV, aos professores do mestrado, funcionários e demais profissionais que auxiliaram a realização desse estudo e do aprimoramento de tantos alunos da Pós-Graduação.

Aos colegas do setor UNEPE-Piscicultura.

E ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas” (Claude Lévi-Strauss)**

## RESUMO

Garcêz, Kelli Flores. Extrato aquoso da *Samanea tubulosa* (Benth.) Barneby & Grimes na alimentação da tilápia-do-Nilo: Efeitos sobre o crescimento, saúde e atividade antioxidante no tecido muscular. 2021.60 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2021.

Em sistemas intensivos de produção, os peixes são expostos a condições estressantes, que podem interferir negativamente na sua homeostase. Nesse contexto, o uso de aditivos naturais como o extrato aquoso da *Samanea tubulosa* (Benth.) Barneby & Grimes (EAST) na dieta torna-se interessante, devido sua elevada atividade antioxidante, menor toxicidade e maior potencial de biodegradação no ambiente aquático. Este estudo avaliou os efeitos da suplementação dietética do EAST na alimentação da tilápia-do-Nilo sobre o crescimento, saúde e atividade antioxidante no tecido muscular. Os peixes (peso inicial  $113,5 \pm 9,0\text{g}$ ) foram distribuídos aleatoriamente em 12 tanques circulares (250 L) e alimentados duas vezes ao dia (09:00h e 16:00h) até a saciedade aparente por 60 dias, em um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (controle; 2% e 4% EAST na dieta) e três repetições ( $n=3$ ). Após o período de alimentação, dados biométricos e biológicos foram coletados para cálculo do desempenho de crescimento, análise hematológica e atividade antioxidante do tecido muscular. Os resultados foram avaliados quanto aos pressupostos estatísticos de normalidade (Cramer Von Mises) e homoscedasticidade (Brown-Forsythe) e submetidos a ANOVA. Os efeitos significativos foram comparados pelo teste de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Não houve efeito significativo sobre o desempenho e nos parâmetros hematológicos dos peixes. A atividade antioxidante no tecido muscular aumentou ( $p<0,05$ ) em peixes suplementados com 4% EAST de acordo com o método ABTS quando utilizado o procedimento de *QUENCHER*. Após a obtenção do extrato metanólico do tecido muscular, os peixes alimentados com 4% EAST, também apresentam maior ( $p<0,05$ ) atividade antioxidante de acordo com o método FRAP. No entanto, não foi observado efeito ( $p>0,05$ ) no processo de oxidação lipídica (TBARS) no decorrer de sete dias de avaliação do tecido muscular. A inclusão de 4% EAST na dieta aumentou a atividade antioxidante no tecido muscular dos peixes, apesar de não retardar os processos de oxidação lipídica. Além disso, a suplementação dietética da *S. tubulosa* não apresentou toxicidade para as tilápias-do-Nilo.

**Palavras-chave:** Aditivos Naturais. Atividade Antioxidante. Peixe. Nutrição de Peixes.



## ABSTRACT

Garcêz, Kelli Flores. Aqueous extract of *Samanea tubulosa* (Benth.) Barneby & Grimes in Nile tilapia feeding: Effects on growth, health and antioxidant activity in muscle tissue. 2021. 60 s. Dissertation (Master 's in Animal Science)-Graduate Program in Animal Science, Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

In intensive production systems, fish are exposed to stressful conditions, which can negatively interfere with their homeostasis. In this context, the use of natural additives in fish feed, such as *Samanea tubulosa* plant extract to overcome the negative effects of stress on fish growth and health is interesting, due to its high antioxidant activity, low toxicity and biodegradation in the aquatic environment. This study evaluated the effects of dietary supplementation of *S.tubulosa* extract on Nile tilapia growth, health and antioxidant activity of muscle tissue. Fishes (starting weight  $113.5 \pm 9.0\text{g}$ ) were randomly distributed in 12 circular tanks (250 L) and fed twice a day (09:00h and 16:00h) until apparent satiety for 60 days in a completely randomized design with three treatments (control; 2% and 4% dietary plant extract) (n=3). After feeding period, biometrical and biological data were collected to calculate growth performance, hematological analysis and antioxidant activity of muscle tissue. Results were evaluated for statistical assumptions of normality (Cramer Von Mises) and homoscedasticity (Brown-Forsythe) and submitted to ANOVA. Significant effects, were compared by the Tukey test ( $\alpha=0.05$ ). There was no significant effect on fish growth and hematology. Antioxidant activity in muscle tissue increased ( $p<0.05$ ) in fish supplemented with 4% plant extract according to the ABTS method when using the *QUENCHER* procedure. After obtaining the methanolic extract from muscle tissue, fish fed with 4% plant extract supplementation also showed higher ( $p<0.05$ ) antioxidant activity according to the FRAP method. However, it was observed no effect ( $p>0.05$ ) on the lipidic oxidation process (TBARS) during seven days of muscle tissue evaluation. The inclusion of 4% dietary *S.tubulosa* plant extract increased antioxidant activity in fish muscle tissue despite not slowing down the lipidic oxidation processes. In addition, *S. tubulosa* dietary supplementation did not show toxicity to Nile tilapia.

**Keywords:** Natural Aditives. Antioxidant Activity. Fish. Fish Nutrition.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação e composição química proximal das dietas experimentais .....	31
Tabela 2 - Parâmetros de desempenho (média $\pm$ desvio padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de extrato aquoso da <i>Samanea tubulosa</i> (EAST) na dieta durante 60 dias. ....	41
Tabela 3 - Parâmetros hematológicos (média $\pm$ desvio padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de extrato aquoso da <i>Samanea tubulosa</i> (EAST) na dieta durante 60 dias. ....	42
Tabela 4 - Atividade antioxidante (média $\pm$ desvio padrão) do tecido muscular e das dietas experimentais pelo procedimento de <i>QUENCHER</i> .....	43
Tabela 5 - Atividade antioxidante (média $\pm$ desvio padrão) do extrato metanólico do tecido muscular e das dietas experimentais. ....	44

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 - Ilustração representativa da tilápia-do-Nilo (<i>O. niloticus</i>)</b> .....	18
<b>Fotografia 1 - Fruto do Bordão-de-Velho (<i>S. tubulosa</i>)</b> .....	27
<b>Gráfico 1 - Oxidação lipídica (<math>\text{mg.kg}^{-1}</math> de malonaldeído no tecido muscular) pelo ensaio de TBARS no tecido muscular de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de extrato aquoso de <i>Samanea tubulosa</i> (EAST) na dieta durante 60 dias.</b> .....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

L- Litros

mL- mililitros

$\mu$ L- microlitros

fL- fentolitros

$\mu$ m - micrômetros

g - grama

Kg - Quilograma

Mg - Miligrama

Cm - centímetros

nm - nanômetro

MDA - malondialdeído

OH - radical hidroxil

pH - potencial Hidrogeniônico

PG - galato de propila

**QUENCHER** - **QU**ick, **E**asy, **N**ew, **CHE**ap, **R**eproducibile

*S. tubulosa*- *Samanea tubulosa*

rpm- rotações por minuto

## LISTA DE SIGLAS

- AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*
- AG - ácido gálico
- ABTS - 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
- BHA - butil-hidroxi-anisol
- BHT- butil-hidroxi-tolueno
- CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
- DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
- DNA - ácido desoxirribonucleico
- HCM - hemoglobina corpuscular média
- EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
- ERO - espécies reativas de oxigênio
- EAST- Extrato Aquoso *Samanea tubulosa*
- ET - equivalente Trolox
- FRAP - poder antioxidante de redução do férrico (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - peróxido de hidrogênio
- K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - persulfato de potássio
- pH - potencial Hidrogeniônico
- PG - galato de propila
- QUENCHER** - **QU**ick, **E**asy, **N**ew, **CHE**ap, **R**eproducibile
- t- tonelada
- TAG - Triacilglicerol
- TBA - ácido tiobarbitúrico
- TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
- TBHQ - terc-butil-hidroquinona
- TE - *Trolox equivalent*
- TEP- 1,1,3,3-tetraetoxipropano
- TMP- 1,1,3,3-tetrametoxipropano
- TPTZ - 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina
- Trolox - (ácido (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico)
- VCM - Volume Corpuscular Médio

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
<b>2.1 Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)</b> .....	18
<b>2.2 Uso de fitoterápicos sobre os parâmetros hematológicos de peixes</b> ...	19
<b>2.3 Efeitos antioxidantes de fitoterápicos em peixes</b> .....	22
2.3.1 Bordão-de-velho ( <i>Samanea tubulosa</i> ).....	27
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
<b>3.1 Peixes e condições experimentais</b> .....	30
<b>3.2 Dietas experimentais</b> .....	30
<b>3.3 Preparo do extrato aquoso da <i>Samanea tubulosa</i></b> .....	32
<b>3.4 Parâmetros de desempenho</b> .....	32
<b>3.5 Parâmetros hematológicos</b> .....	33
3.5.1 Estimativa concentração de hemoglobina .....	33
3.5.2 Valor do hematócrito .....	33
3.5.3 Contagem total de eritrócitos .....	34
3.5.4 Contagem total de leucócitos e trombócitos.....	34
3.5.5 Contagem diferencial de leucócitos.....	34
3.5.6 Variáveis hematimétricas .....	34
<b>3.6 Proteína total plasmática</b> .....	35
<b>3.7 Análise da atividade antioxidante no tecido muscular e nas dietas experimentais</b> .....	35
3.7.1 Atividade antioxidante do tecido muscular e das dietas experimentais pelo procedimento de <i>QUENCHER</i> . .....	36
3.7.2.1 Análise de DPPH.....	37
3.7.2.2 Análise de ABTS .....	38
3.7.2.3 Análise de FRAP .....	38
3.7.2.4 Análise de teor de fenólicos totais.....	38
<b>3.8 Análise de TBARS</b> .....	39
<b>3.9 Análise estatística</b> .....	40
<b>4. RESULTADOS</b> .....	41
<b>4.1 Desempenho zootécnico</b> .....	41
<b>4.2 Parâmetros hematológicos</b> .....	41
<b>4.3 Atividade antioxidante utilizando a metodologia de <i>QUENCHER</i></b> .....	42
<b>4.4 Atividade antioxidante do extrato metanólico do tecido muscular e nas dietas experimentais</b> .....	43

4.5 Oxidação lipídica no tecido muscular .....	44
5. DISCUSSÃO .....	45
6. CONCLUSÃO .....	52
REFERÊNCIAS .....	53

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os setores da produção aquícola, a piscicultura vem adquirindo grande importância dentro das cadeias produtivas no Brasil. O ano de 2020 foi marcado por incertezas e desafios, entretanto o setor de produção manteve-se em alta e a produção atingiu 802.930 t, um crescimento de 5,93% comparado ao ano anterior. Das espécies de água doce mais produzidas, destaca-se a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) que representa cerca de 60% da produção piscícola nacional (total de 486.155 t) (PEIXE BR, 2021).

Com a intensificação dos sistemas de produção, os peixes são expostos a condições de estresse, tais como manejos adotados nos sistemas de criação, mudanças climáticas, qualidade da água e nutrição (ELABD *et al.*, 2019). Fatores que podem interferir na sua homeostase e impactar negativamente o sistema imunológico e a fisiologia do animal. Com isto, aumenta-se a suscetibilidade de doenças bacterianas, fúngicas e parasitárias, que reduzem o desempenho produtivo dos peixes (DOAN *et al.*, 2019).

A crescente demanda por sistemas de produção mais sustentáveis, seja pela otimização no uso de recursos ou pelo uso de aditivos menos nocivos aos peixes como extratos e/ou óleos essenciais, tornou-se uma oportunidade de diminuir ou até mesmo dispensar o uso de antibióticos na piscicultura (GABRIEL, 2019). Esses compostos, também denominados aditivos naturais apresentam baixa toxicidade e maior potencial de biodegradação no ambiente aquático, promovendo, assim, a estabilidade na produção com menor risco de seleção de microrganismos resistentes (HERNÁNDEZ-CONTRERAS; HERNÁNDEZ, 2019).

Existe a forte tendência de utilização de extratos de plantas como aditivos na alimentação de peixes. Alguns destes extratos estimulam o apetite e promovem o crescimento dos animais (SHOURBELA *et al.*, 2020), auxiliam na imunidade e saúde intestinal (EL-KASSAS *et al.*, 2020) e melhoram a resistência ao estresse (ELBIALYI *et al.*, 2021). No mesmo sentido, tais extratos vegetais apresentam-se como potencializadores imunológicos e antioxidantes para os animais de criação (VALENZUELA-GUTIÉRREZ *et al.*, 2021). Suplementos dietéticos como extratos de plantas, podem aumentar o sistema antioxidante porque contêm componentes ativos como alcalóides, polissacarídeos, compostos fenólicos, glicosídeos, polifenóis, taninos, compostos terpênicos, saponinas e esteroides (SUN *et al.*, 2020).



A planta *Samanea tubulosa* (BENTH.) BARNEBY & GRIMES, conhecida popularmente também como “bordão-de-velho”, faz parte da composição arbórea da flora brasileira, podendo ser encontrada na região norte, centro-oeste e nordeste, desenvolvendo-se em solos arenosos e bem drenados (OLIVEIRA; LUZ, 2012). Apresenta fruto do tipo legume “vagem”, séssil, indeiscente com comprimento de 10 a 19 cm, carnosos, com polpa doce e perfumado (GIANCHINI, 2010). A análise fotoquímica do extrato metanólico proveniente das folhas da *S. tubulosa* apresentou inúmeras substâncias com atividade antioxidante, tais como os polifenóis e os flavonóides (LIMA *et al.*, 2009; ARAÚJO *et al.*, 2015).

Nesse contexto, os extratos e/ou óleos essenciais são postos como uma alternativa para inibição dos efeitos oxidantes dos ácidos graxos, a fim de propiciar a elevação do nível da qualidade, sem comprometer a vida de prateleira do produto (KUMAR *et al.*, 2015). Porém, na literatura não há estudos especificamente da *S. tubulosa* e sua aplicação na alimentação de tilápias. Logo, o objetivo deste estudo foi avaliar possíveis efeitos da suplementação do extrato aquoso da *S. tubulosa*, de juvenis de tilápia-do-Nilo sobre o crescimento, a saúde e a atividade antioxidante no tecido muscular.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A piscicultura brasileira está em crescente expansão, devido vários fatores que contribuem para que a aquicultura seja promissora, seja pela abundância de recursos hídricos ou, então, pelo clima propício que favorece o crescimento e desenvolvimento da atividade. Entre as espécies de água doce mais cultivadas destaca-se a tilápia-do-Nilo que representa grande importância na aquicultura mundial, sendo uma espécie adaptável a todos os sistemas de produção e de alta comercialização (PEIXE BR, 2021).

A tilápia-do-Nilo (Figura 1) foi destaque em 2020 na produção brasileira, apresentando crescimento de 12,5% (diferença de 54.006 t em relação ao ano anterior). No Paraná, a produção de tilápia cresceu 11,5% e confirmou a liderança do estado na produção de peixes de cultivo no Brasil, foram 172.000 t de peixes em 2020 contra 154.200 t no ano anterior (PEIXE BR, 2021).

Figura 1 - Ilustração representativa da tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*)



Fonte: FAO, 2020

Essa espécie é reconhecida pelo desempenho e adaptação, podendo atingir mais de 5 Kg, possui carne branca com excelente qualidade, textura firme com baixo teor de gordura e ausência de espinhas em seu tecido muscular, além de, contar com grande apreço comercial pelos consumidores, o que gera uma boa aceitação no mercado (MORAIS *et al.*, 2020).

Com a intensificação dos sistemas de produção, os peixes têm sido expostos a condições estressantes e que, por sua vez, interfere no estado fisiológico, o qual

prejudica o desempenho e limita o seu mecanismo de defesa e conseqüentemente, aumenta a incidência de doenças (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013; BILLER-TAKAHASHI *et al.*, 2014). Com isso, o monitoramento periódico das condições de higidez dos peixes deve receber especial atenção dos produtores (FAZIO, 2019).

## **2.2 Uso de fitoterápicos sobre os parâmetros hematológicos de peixes**

A hematologia delimita-se ao estudo dos conhecimentos sobre o sangue, além disso, trata-se do instrumento que possibilita a execução de diagnósticos de doenças, que servem como eficazes indicadores dos prognósticos das condições patológicas dos peixes. Os estudos hematológicos em peixes mostram-se como um importante meio para aferir alterações fisiológicas relacionadas com a nutrição, qualidade de água, fatores como comportamento, habitat, clima e enfermidades que influenciam diretamente nos valores hematológicos (FAZIO, 2019).

O hemograma é um conjunto de análises realizadas para determinar o número das diferentes células existentes no sangue, o volume das células vermelhas e a quantidade de hemoglobina dentro delas (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013). O eritrograma consiste na contagem de eritrócitos; determinação do hematócrito e da taxa de hemoglobina, ajudam no diagnóstico de processos de anemias, enquanto o leucograma auxilia na identificação de processos infecciosos e outros estados de desequilíbrio homeostático e, por fim, o trombograma que se relaciona com a toxicidade de uma substância (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2004).

Com a crescente expansão do setor aquícola, há um acelerado processo de intensificação na produção de tilápias, o que expõe esses peixes a situações adversas, tornando-os mais suscetíveis às doenças. De acordo com Dawood ; Koshio (2016) com a intensificação dos cultivos aumenta a disseminação de doenças bacterianas, fúngicas e parasitárias, ocasionando mortalidade nos peixes.

De modo geral, os antibióticos são muito aplicados na piscicultura no combate às doenças. Nesse sentido, afirmam Elumalai *et al.* (2020), que os antibióticos são frequentemente utilizados para controlar doenças causadas principalmente pelo estresse de manejo, infecções bacterianas e parasitárias, as quais podem ser fatores limitantes na produção de peixes. Contudo, tais antibióticos acabam sendo ineficazes, pois colaboram com o desenvolvimento de bactérias resistentes. Nessa perspectiva, segundo Stratev *et al.* (2018) há um risco crescente de cepas bacterianas

desenvolverem resistência aos antibióticos usados com grande frequência e indiscriminadamente.

A fim de contornar essa problemática, surge o interesse em estudos de substâncias com o potencial de substituir os antibióticos. De acordo com Modanloo *et al.* (2017), esta situação direcionou a atenção para métodos alternativos ao uso de antibióticos, como probióticos (DAWOOD;KOSHIO,2016;ABARIKE *et al.*, 2019), prebióticos (CARBONE; FAGGIO, 2016) e simbióticos (CAVALCANTE *et al.*, 2020) e imunoestimulantes (MOHAN *et al.*, 2019), incluindo aditivos naturais como uma fonte promissora de compostos bioativos. Uma forma de minimizar o problema é a utilização de produtos naturais, não somente por auxiliarem no combate de doenças, como também por sua biodegradação no ambiente aquático e menor toxicidade aos animais (ALEMAYEHU; GEREMEW; GETAHUN, 2018).

Inúmeras substâncias naturais à base vegetal têm se mostrado eficazes na busca por estimulantes que possam ser utilizados na alimentação de peixes, de modo que estimulem o apetite (HERNANDEZ-CONTRERAS;HERNANDEZ, 2019), induzam as funções fisiológicas (BHARATI *et al.*, 2019) e promovam o crescimento (ABDEL-TAWWAB *et al.*, 2021) dos animais nos sistemas de produção. As plantas podem produzir vários efeitos favoráveis devido a presença de seus compostos bioativos, tais como: os alcalóides, os terpenóides, os taninos, as saponinas e os flavonóides (HOSEINIFAR *et al.*, 2021). Esses vegetais podem ser usados como um todo ou partes, ou seja, folhas, frutos, flores, raízes, sementes ou cascas, também são aproveitadas na forma bruta ou como extrato de plantas. Ainda, atribuem-se a esses extratos características antiestresse com propriedades antioxidantes, antivirais, antifúngicas e antiparasitárias contra patógenos de peixes e crustáceos (GABRIEL, 2019).

Vários estudos com peixes demonstraram que inúmeras substâncias naturais à base de plantas têm a capacidade de elevar alguns dos parâmetros hematológicos (GABRIEL, 2019). De acordo com Naderi Farsani *et al.* (2019) observaram aumento nos valores de hematócrito e hemoglobina em juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados por 60 dias com níveis crescentes (0,0,5,1 e 2%) de extrato de coentro (*Coriandrum sativum*). Os resultados também revelaram que a incorporação do extrato melhorou o desempenho, os índices imunológicos e a resistência da truta arco-íris contra infecção *Yersinia ruckeri*. Da mesma forma, Nugroho *et al.* (2019) observaram efeito nos valores da hemoglobina, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e

monócitos em juvenis de bagres listrados (*Pangasianodon hypophthalmus*) alimentados por 80 dias com níveis crescentes (0,0,25,0,5,1 e 2%) de extrato de folhas de *Myrmecodia tuberosa* Jack. Estes resultados demonstraram que os peixes alimentados com as concentrações 0,5 e 1% revelaram os melhores valores comparado aos demais tratamentos.

Estes resultados citados anteriormente estão relacionados à capacidade dos extratos vegetais em estimular a eritropoiese, aumentando, assim, a capacidade de transporte de oxigênio e fortalecimento da defesa de mecanismos contra o estresse fisiológico (GABRIEL, 2019). Isso deve estar atribuído às propriedades nutricionais presentes, especialmente, nos polissacarídeos, nas vitaminas essenciais (riboflavina, tiamina, ácido fólico) e nos aminoácidos não essenciais, que são necessários para a síntese de hemoglobina (HAMMAN, 2008).

Resultados diferentes foram observados em alguns extratos que não revelaram efeitos sobre os parâmetros hematológicos em espécies de tilápias. Kareem *et al.* (2016) observaram que a contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e leucócitos em juvenis de tilápias-do-Nilo alimentados por 90 dias, com extratos brutos de *Cinnamomum camphora*, *Euphorbia hirta*, *Azadirachta indica* e *Carica papaya* não apresentaram efeitos nos parâmetros avaliados. Da mesma forma, Acar (2018) não observou efeito na contagem de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina em tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) alimentados por 60 dias com quatro dietas experimentais (0,1,2,4 e 8%) de extrato etanólico de própolis. Os resultados obtidos neste estudo não apresentaram efeito sobre os parâmetros hematológicos.

Em vista disso, a capacidade dos extratos vegetais demonstrar efeitos nos parâmetros hematológicos só pode ser bem estabelecida se um animal for exposto a algumas condições estressantes, conforme apresentado por Gabriel *et al.* (2015). Neste contexto, tem-se buscado o uso de aditivos naturais nas dietas para tilápias-do-Nilo como alternativa para substituição de antibióticos, não somente para combater doenças, como também promover maior produtividade e a sustentabilidade na piscicultura (VALENZUELA-GUTIÉRREZ *et al.*, 2021). Inúmeras substâncias naturais a base de plantas têm se mostrado eficazes na busca por estimulantes que possuam potencial para uso na nutrição de peixes, estimulem o sistema imunológico e melhorem o desempenho destes animais em sistemas aquícolas de produção, com

destaque aos efeitos antioxidantes provenientes dos extratos e/ou óleos essenciais de origem vegetal (BHARATI *et al.*, 2019).

### **2.3 Efeitos antioxidantes de fitoterápicos em peixes**

Os antioxidantes são substâncias que tem o potencial de inibir ou retardar o aparecimento de alterações oxidativas no alimento ou no organismo, atuando diretamente na prevenção e redução da oxidação por inativação dos radicais livres e, desta forma, estabilizam o elétron pela habilidade em formar complexos com íons metálicos (HUANG;BOXIN;PRIOR, 2005;SAMARANAYAKA;LI-CHAN, 2011; BERNARDI *et al.*, 2016).

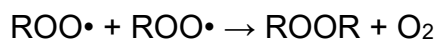
Os antioxidantes desempenham papel fundamental não só na redução do processo oxidativo nos alimentos, mas também contribuem para retardar a oxidação de proteínas, ajudando a manter a cor, o aroma, o sabor, a textura e o valor nutricional dos produtos alimentares (BERNARDI *et al.*, 2016). Portanto, os antioxidantes, podem impedir a formação de radicais livres, e, também, desativar espécies reativas de oxigênio (ERO) oriundas do metabolismo celular para, assim, manter a integridade celular sem agredir lipídios, aminoácidos, as duplas ligações dos AGPI e as bases do desoxirribonucleico (DNA) (AMORATI;FOTI;VALGIMIGLI, 2013;BOROSKI *et al.*, 2015).

Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que permitem a doação de um próton a um radical livre, interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres: hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), terc-butil Hidroquinona (TBHQ), e galato de propila (PG). Essas substâncias possuem um vasto uso na indústria e alto potencial antioxidante. Contudo, houve um crescente interesse em identificar compostos naturais com propriedades equiparadas às dos antioxidantes sintéticos, que cumpram a função de aditivo em alimentos ou como fisiológico-funcional em ingredientes de produtos alimentícios (BERNARDI *et al.*, 2016).

A oxidação lipídica mostra-se como uma das principais causas de deterioração e retrocesso da qualidade da carne, isso ocorre pela destruição das membranas celulares, altas concentrações de lipídeos insaturados e pela ação de agentes oxidantes no tecido muscular (FALOWO;FAYEMI;MUCHENJE,2014;VIEIRA;ZHANG;DECKER, 2017). Os lipídios encontram-se nos músculos em diferentes formas: componentes de membranas, triacilglicerol entre as fibras musculares, tecido adiposo

e como hormônios esteroides.

Nos produtos cárneos, tais alterações ocorrem não somente durante o manuseio após o abate e no armazenamento dos produtos, mas também antes do abate dos animais (FALOWO; FAYEMI; MUCHENJE, 2014; KUMAR *et al.*, 2015). As reações de oxidação lipídica relacionam-se com o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), como ânion superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical peróxido ( $ROO^\bullet$ ), radical hidroxila ( $OH^\bullet$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). Além disso, para que ocorra a oxidação, necessita-se de sistemas catalizadores que oxidem lipídios, podendo-se destacar: a temperatura, a luz, os microrganismos, as enzimas, os metais e as metaloproteínas. Ainda, é válido ressaltar que a oxidação se intermedia por oxigênio em sistemas alimentares, conhecida como auto-oxidação dos radicais livres com as seguintes fases: iniciação, propagação e terminação (NOGALA-KALUCKA *et al.*, 2005; SILVA; GONÇALVES, 2010).



Em que: RH - Substrato,  $R^\bullet$  - radical livre,  $O_2$  - oxigênio atmosférico;  $ROO^\bullet$  - radical peróxido; RR - produto estável.

Na fase de iniciação (1) começa a formação de radicais livres, à qual se efetiva na remoção na presença de iniciadores, a saber, a luz, o calor, o metal de transição é extremamente reativo (espécies reativas de oxigênio - ERO's). Na fase de propagação (2) os radicais livres, prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio, são convertidos em produtos primários da oxidação, como os peróxidos ( $ROO^\bullet$ ) e hidroperóxidos ( $ROOH$ ), que atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico. Os citados produtos são os principais responsáveis da alteração de características sensoriais e nutricionais, reduzindo-se a vida de prateleira e aceitabilidade sensorial dos produtos oxidados. Já na fase de terminação (3) ocorre a formação de produtos estáveis pela combinação dos radicais ou na presença de uma molécula antioxidante, interrompendo a reação de oxidação (BOROSKI *et al.*, 2015).

A carne de peixe caracteriza-se pela fácil deterioração, conseqüente de suas qualidades intrínsecas, como exemplo o seu alto teor de água, a composição química,

os ácidos graxos polinsaturados e um pH aproximado do neutro. Os fatores diretamente correlacionados ao deterioramento da proteína animal concentram-se logo após o abate, e intensificam-se com o tempo de exposição e estocagem do produto. A intensidade desse perecimento decorre de fatores endógenos (características físico-químicas) e exógenos (conservação, manipulação e manejo de abate) (VIEIRA; ZHANG; DECKER, 2017). A deterioração do tecido muscular ocorre devido à presença de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa, o que faz com que essa oxidação se dê de forma definitiva.

Nos últimos anos, tem havido um crescente interesse em pesquisas que utilizam extratos de plantas medicinais com potencial de erradicar o uso de produtos químicos, como antibióticos e outras drogas quimioterápicas na aquicultura (GABRIEL, 2019). Esses extratos de plantas têm sido estudados por conta dos compostos bioativos presentes em sua composição, os quais reduzem a replicação de patógenos, funcionam como imunostimulantes, estimulam o sistema imunológico e defesa, e servem como antioxidantes (CHOE; MIN, 2009).

Carbonera *et al.* (2014) avaliaram os efeitos da suplementação com extrato etanólico de resíduo de acerola (*Malpighia emarginata*) na atividade antioxidante de tecido muscular de tilápias-do-Nilo no intervalo de 60 dias, diferentes metodologias foram utilizadas seguindo o procedimento de QUENCHER e, também, observaram a capacidade de absorção de oxigênio radical (ORACFL). Neste estudo, foi demonstrado que os maiores valores de atividade antioxidante nos métodos DPPH e FRAP (1778,87 e 4892,77  $\mu\text{mol ET}$ ) foram encontrados nos 15 dias. O ensaio ORACFL indicou que a fração hidrofílica é a maior contribuinte na capacidade antioxidante total. Dessa forma, o significativo aumento observado na atividade antioxidante demonstrou que a suplementação do extrato etanólico de resíduo de acerola é uma eficaz ferramenta para elevação da atividade antioxidante no tecido muscular.

Paray *et al.* (2020) avaliaram os efeitos da suplementação do extrato de folhas de carvalho (*Quercus castaneifolia*) sobre o desempenho, respostas antioxidantes, imunológicas e ao estresse em carpas comum (*Cyprinus carpio*). O extrato foi adicionado nas dietas nas proporções 0; 0,5; 1 e 2 g/kg, sendo os peixes alimentados por 60 dias antes de serem submetidos ao estresse de lotação de 6h. Os resultados mostraram que o extrato da folha de carvalho estimulou o sistema antioxidante e imunológico da carpa comum, sem afetar o desempenho de crescimento dos peixes. Portanto, o extrato foi benéfico para reduzir o estresse dos peixes. Os maiores níveis



de inclusão do extrato da folha de carvalho foram os recomendados para a formulação da ração para carpas comuns.

Galeana-López *et al.* (2020) avaliaram a suplementação do extrato de casca de milho nas dietas (0; 100 e 200 mg/kg) para alevinos de tilápias-do-Nilo ( $0,35 \pm 0,06$  g) alimentados por 14 dias. Neste estudo, observou-se que a inclusão do extrato aumentou a atividade antioxidante dos métodos DPPH e ORAC. O desempenho, crescimento e o consumo de ração - aumentou proporcionalmente ao aumento do nível de inclusão de extrato. Os resultados demonstraram que o extrato de casca de milho pode fornecer potencial antioxidante nas dietas para tilápias, como promotor de crescimento e consumo de ração, sem ocasionar efeitos tóxicos aos animais.

De acordo com Montanher *et al.* (2016) foram avaliados os efeitos da suplementação da dieta de óleo de chia (*Salvia hispânica L.*) e extrato da casca de abacate (antioxidante natural) sobre o teor de ômega-3 e a atividade antioxidante no tecido muscular das tilápias-do-Nilo após 0,15,30 e 45 dias de tratamento. Os resultados demonstraram que os maiores aumentos observados na fração lipofílica (L-ORAC<sub>(FL)</sub>), de 3,40 a 19,50  $\mu\text{mol}$  de ET, de peixes tratados com óleo de chia (TII), enquanto diferenças entre tratamentos e períodos não foram observados nas frações hidrofílicas (H-ORAC<sub>(FL)</sub>), indicando que quantidades excessivas de compostos antioxidantes são simplesmente excretadas pelos animais. Além disso, o óleo de chia contribuiu para uma melhora na qualidade nutricional da tilápia-do-Nilo, tanto em termos de teor de ácidos graxos quanto da capacidade antioxidante total.

JIMÉNEZ-RUÍZ *et al.* (2019) avaliaram a inclusão de uma pasta de subproduto de abacate constituída de semente, casca e polpa de abacate que foi inclusa a quatro dietas experimentais (0,10, 20 e 30%) de inclusão de pasta de abacate e de uma dieta comercial) para juvenis de tilápias-do-Nilo. Neste estudo, observou-se um padrão crescente em relação ao teor de fenólicos totais, conforme aumentou os níveis de inclusão, aumentou a atividade antioxidante das dietas. Portanto, a pasta de subproduto de abacate foi considerada uma boa opção para inclusão nas dietas de juvenis de tilápias, devido suas propriedades antioxidantes e o valor agregado que sua utilização proporciona.

A necessidade de desenvolver produtos naturais capazes de inibir a oxidação lipídica mostra-se muito pertinente aos interesses do mercado da piscicultura. Desta maneira, é crescente a busca por produtos antioxidantes na suplementação da tilápia que supram as carências do mercado de peixes, principalmente quanto à proteção da

carne, sem causar danos à saúde do consumidor (KUMAR *et al.*, 2015). Esses pontos fazem com que a implementação do extrato aquoso da *Samanea tubulosa* na alimentação da tilápia-do-Nilo apresente-se promissora nessa área.

### 2.3.1 Bordão-de-velho (*Samanea tubulosa*)

*S. tubulosa* é uma espécie pertencente à família Fabaceae, conhecida popularmente, como “bordão-de-velho”, encontrada em países da América do Sul, está presente na flora brasileira, nos estados do Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Acre, Piauí e Maranhão, onde se desenvolve em solos arenosos e bem drenados (OLIVEIRA; LUZ, 2012). *S. tubulosa* é uma árvore nativa de grande porte, podendo atingir até 28 m de altura, suas folhas são alternas, compostas bipinadas, medindo de 8-28 cm de comprimento, sendo que as flores possuem cálice e corola diminutos, de coloração branca e púrpura (GIACHINI *et al.*, 2010). Sua floração ocorre entre os meses de agosto a novembro e o amadurecimento dos frutos, durante o fim do período chuvoso (maio-julho) (OLIVEIRA; LUZ, 2012).

O fruto (Fotografia 1), do tipo “vagem”, séssil, indeiscente, mede de 10-19 cm de comprimento, 1,3 a 1,9 cm de largura, contém de 5 a 31 sementes, carnosos, com polpa doce e perfumada. O tronco é ereto e cilíndrico, revestido com casca grossa e com fissuras podendo atingir até 12 m de comprimento (GIACHINI *et al.*, 2010; OLIVEIRA; LUZ, 2012).

Fotografia 1 - Fruto do Bordão-de-Velho (*S. tubulosa*)



Fonte: Árvores do bioma cerrado, 2021

A espécie arbórea *S. tubulosa* melhora a fertilidade do solo sob a copa, com aumento nos teores de cálcio, fósforo, soma de bases e saturação em relação à área de pleno sol durante o período seco (OLIVEIRA; LUZ, 2012).

Para o consumo humano, as vagens além de comestíveis apresentam polpa adocicada cujo sabor assemelha-se ao de alcaçuz, com 25% de açúcar, podendo ser conservada seca e cristalizada (SALES *et al.*, 2015). É considerada rica em proteínas, como também aplica-se o fruto fermentado na produção de aguardente (conhecida como “aguardente-de-saman”) (SALES *et al.*, 2015).

Já, na medicina tradicional, serve para os tratamentos de inflamações gástricas e infecções, sejam elas cutâneas ou parasitárias (HAJDU;HOHMANN,2012). A análise fitoquímica desta espécie revelou que possui importantes constituintes antioxidantes no extrato bruto tais como: alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos, flavonas, flavonóis e catequinas (LIMA, 2009; ARAUJO *et al.*, 2015).

O extrato etanólico da *S. tubulosa* foi avaliado separadamente com mais dezesseis extratos de plantas, quanto a atividade antileishmania contra formas promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade contra macrófagos murinos. Os resultados demonstraram que quatro extratos destacaram se como, o extrato da *Casearia sylvestris*, *Piptocarpha macropoda*, *Trembleya parviflora* e *Plectranthus neochilus*, apresentaram valores de IC<sub>50</sub> abaixo de 20 µg/mL, para pelo menos uma espécie de *Leishmania* (ANTINARELLI *et al.*, 2015). Segundo Scio *et al.* (2012) estes resultados são atribuídos à presença de metabólitos secundários, como alcaloides, esteróis, taninos e flavonoides na atividade biológica de *S. tubulosa*, *C. sylvestris* e *P. macropoda*.

Araújo *et al.* (2015) avaliaram os efeitos da dieta contendo (5% da farinha da *S. tubulosa* em ratos Wistar machos e fêmeas) administrada por 60 dias antes do acasalamento, em todas as semanas era fornecida a ração em pó (padrão) misturada com 5% de farinha de vagem de *S. tubulosa*. O nível de 5% de *S. tubulosa* era estabelecido para evitar distúrbios nutricionais. Os resultados demonstraram que a prole de machos tratados com a dieta apresentou menor ganho de peso e comprimento cabeça cauda. As fêmeas tratadas com a planta apresentaram aumento do consumo de ração e do peso corporal. Foram observados diminuição na fertilidade, fecundidade e no índice de gestação e aumento do peso da placenta e no número médio de corpos lúteos.

Embora sejam inexistentes pesquisas anteriores sobre extrato de *S. tubulosa* aplicado em peixes, salienta-se que há diversos estudos de outras plantas pertencentes a mesma família dela (Fabaceae). Estudo realizado com óleo essencial de sucupira branca (*Pterodon emarginatus*) pertencente, também, à família Fabaceae, avaliou-se os efeitos de antiparasitários *in vitro* de uma nanoemulsão de óleo em água preparada com óleo essencial, contra monogeneanos que infestam *Colossoma macropomum*. Neste ensaio *in vitro*, as concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de sucupira branca em níveis crescentes (100, 200, 400 e 600mg/L) apresentaram 100% de eficácia helmíntica contra monogenéticos das brânquias de *C. macropomum*. Portanto, as duas concentrações mais altas usadas (400 e 600mg/L) imobilizaram os parasitas após 15 min (VALENTIM *et al.*, 2018).

Akin-Obasola (2021) avaliou os efeitos antifertilidade da farinha de casca de raiz de ervilha-do-rosário (*Abrus precatorius*) pertencente à família Fabaceae em juvenis de *Coptodon zillii* suplementados por 42 dias, com os níveis de inclusão de (0,6,12,18 e 24 g/kg). Os resultados demonstraram que nos peixes machos houve aumento da célula intersticial, tecido conjuntivo erodido e necrose. Em peixes fêmeas, peso do ovário, fecundidade, fecundidade relativa e índice gonadossomático diminuíram com o aumento da concentração dos tratamentos. Portanto, a pesquisa revelou que a farinha de casca de raiz de ervilha-do-rosário pode ser eficaz no controle da reprodução em *Coptodon zillii*.

Na literatura não há estudos especificamente da *S. tubulosa* e sua aplicação na alimentação da tilápia-do-Nilo, importante espécie de interesse aquícola.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Peixes e condições experimentais**

O experimento foi conduzido na Unidade de Ensino e Pesquisa em Piscicultura (UNEPE-PISCICULTURA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Dois Vizinhos (UTFPR-DV). Previamente, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Uso Animal (CEUA) da UTFPR-DV para avaliação e aprovação (Protocolo nº 2017-022).

Foram utilizados espécimes de juvenis de tilápia-do-Nilo provenientes de piscicultura comercial. Antes do início do experimento, os animais passaram por um período de adaptação de 15 dias ao ambiente de laboratório e a alimentação padrão (controle). Os peixes foram sedados em solução alcoólica de benzocaína (1:10.000), pesados, medidos, separados em lotes homogêneos (peso inicial  $113,5 \pm 9,0$  g) e posteriormente alocados em 12 tanques circulares de polietileno de 250 L, cinco peixes em cada tanque, os tanques circulares estavam conectados a um sistema fechado de recirculação de água com filtragem mecânica e biológica, providos de aeração forçada. O delineamento foi inteiramente casualizado com três tratamentos e três repetições. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (09:00h e 16:00h) até saciedade aparente durante 60 dias. As condições de temperatura ( $26,8 \pm 1,8$  °C), pH ( $7,5 \pm 0,7$ ), e oxigênio dissolvido ( $5,5 \pm 0,9$  mg/L), na água foram monitoradas diariamente durante todo o período experimental e estiveram dentro da faixa adequada para a espécie (ELKARADAWY *et al.*, 2021).

#### **3.2 Dietas experimentais**

Os ingredientes foram triturados em moinho martelo Vieira MSC 280 (05 Hp/cv) com peneira de abertura 0,5 mm (furo cônico) e armazenados em sacos plásticos. Posteriormente, todos os ingredientes secos das dietas foram homogeneizados, colocados para secagem em estufa de ventilação forçada por 24h (40°C), posteriormente armazenados em sacos plásticos resistentes, devidamente identificados e mantidos em freezer (-21°C) até o uso.

As dietas experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais para a espécie, conforme Furuya *et al.* (2012) (Tabela 1) e extrudadas em

extrusora laboratorial PQ-40 (Inbramaq-Indústria Brasileira de Máquinas LTDA) em peletes de 5 mm. Após extrusão, as dietas foram mantidas em estufa de ventilação forçada de ar por 24h (40°C) armazenadas em sacos plásticos resistentes, identificadas e mantidas em freezer (-21°C). Posteriormente, as dietas foram retiradas do freezer e permaneceram em adaptação ao ambiente por 20 min. Após esse período, foram colocadas em bandejas identificadas e, por fim, borrifou-se as diferentes concentrações de cada tratamento com extrato aquoso da *Samanea tubulosa* (EAST) (2% e 4%) e o controle (0%), o qual foi borrifado somente com água destilada. Em seguida, foram levadas à estufa com ventilação forçada de ar durante 3h (40°C) para secagem e incorporação do extrato nas dietas experimentais. Por fim, as dietas foram embaladas em sacos plásticos resistentes identificados, de modo que impossibilitasse a entrada de luz, e armazenados em freezer (-21C) até sua utilização.

Após a extrusão, as dietas foram analisadas quanto a matéria seca foi determinada por secagem em estufa de 105°C de 8 a 16h (*overnight*), a matéria mineral por queima em mufla à 550-600°C por 4h, a proteína foi determinada pelo método de Kjeldahl e multiplicando-se o percentual de nitrogênio total por 6,25 obtive-se a percentagem de proteína bruta (PB) das dietas sendo o extrato etéreo determinado pelo método de Soxhlet de acordo com a *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC, 2012).

**Tabela 1 - Formulação e composição química proximal das dietas experimentais**

Ingredientes (g/Kg)	Extrato Aquoso <i>Samanea tubulosa</i> (%)		
	0	2	4
Farinha de víscera	33,81	33,81	33,81
Farelo de soja	28,61	28,61	28,61
Milho	24,74	24,74	24,74
Farelo de trigo	10,00	10,00	10,00
Óleo de soja	0,82	0,82	0,82
Premix <sup>1</sup>	1,00	1,00	1,00
Inerte	1,00	0,80	0,60
Extrato Aquoso <i>Samanea tubulosa</i>	-	0,20	0,40
Hidroxitolueno butilato	0,02	0,02	0,02
Total	100	100	100
Composição química (g/Kg) Matéria seca			
Proteína bruta	41,12	39,37	39,49
Extrato etéreo	6,35	7,16	8,94
Matéria mineral	8,19	8,02	8,45
Matéria seca	92,75	91,44	91,15

<sup>1</sup>Premix Tectron, Toledo (níveis de garantia por kg): Vitamina A: 2.400.000UI; Vitamina D3: 600.000UI; Vitamina E: 30.000UI; Vitamina K3: 3.000mg; Vitamina B1: 4.000 mg; Vitamina B2: 4.000 mg; Vitamina B6: 3.500 mg; Vitamina B12: 8.000 mg; Niacina: 20 g; Inositol: 25 g; Ácido pantotênico:

10.000 mg; Ácido fólico: 1200 mg; Biotina: 200 mg; Vitamina C: 60 g; Colina: 100 g; Selênio: 100 mg; Ferro: 20 g; Cobre: 3.500 mg; Manganês: 10.000 mg; Zinco: 24 g; Iodo: 160 mg; Amido QSP 1.000 g.

### 3.3 Preparo do extrato aquoso da *Samanea tubulosa*

A metodologia utilizada para a extração do EAST seguiu a descrita por Boroski *et al.* (2015) com algumas modificações. As amostras do fruto maduro da *S. tubulosa* foram colhidas na fazenda São Nicolau, estrada para balsa, assentamento PA Juruema, município de Cotriguaçu, Mato Grosso, nas coordenadas geográficas (latitude 09° 51' 45" S, longitude 58° 13' 51" O) no período de agosto a setembro de 2019. Os frutos foram triturados em moinho de facas do tipo Willey (Fortinox) e a massa resultante armazenada em temperatura ambiente por 30 dias.

Para o preparo do EAST, utilizou-se uma proporção de massa: solvente de 1:10. A massa resultante dos frutos triturados foi pesada ( $10 \pm 0,01$  g) e transferida para um balão volumétrico de 250 mL, ao qual foram adicionados 100 mL de água destilada.

O balão contendo a amostra e o solvente foi acondicionado em um extrator do tipo Soxhlet a 70 °C e após o início do processo de ebulição da mistura cronometrou-se o tempo de 15 min. O conteúdo foi então filtrado em papel filtro de 185 mm e a fração líquida transferida para um frasco de vidro âmbar com tampa de rosca e armazenado em geladeira. Este procedimento foi realizado 19 vezes sendo todos os extratos acondicionados em um único frasco garantindo, assim, a homogeneidade da amostra.

### 3.4 Parâmetros de desempenho

Ao final do período experimental, os peixes foram submetidos a jejum de 24h, sedados em solução alcoólica de benzocaína (1:10.000), pesados e medidos. Foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho (TACON *et al.*, 1990).

-Ganho de Peso Médio (g);

$$GP = Pf - Pi$$

-Consumo de Ração (CR) (g);

-Índice de Conversão Alimentar (g);

$$\bullet \text{ ICA} = \frac{\text{CR}}{\text{GP}}$$

-Taxa de Crescimento Específico (%)

$$\bullet \text{ TCE} = \frac{(\ln \text{Pf} - \ln \text{Pi})}{t}$$

Onde: Pf= Peso final (g); Pi=Peso inicial (g); RC=Consumo de Ração (g);  
t=período experimental em dias.

### 3.5 Parâmetros hematológicos

O perfil hematológico dos peixes foi determinado ao final do período experimental de 60 dias. Os animais foram mantidos em jejum por 24h, em seguida todos foram sedados em solução alcoólica de benzocaína (1:10.000) para retirada do sangue por meio da punção do vaso caudal utilizando-se seringas plásticas descartáveis de 3 mL previamente umedecidas com heparina.

#### 3.5.1 Estimativa concentração de hemoglobina

A estimativa da concentração da hemoglobina foi realizada pelo método da cianometá-hemoglobina (BLAXHALL; DAISLEY, 1973) em que 0,02 mL de sangue foi diluído em 5 mL do reagente de cor da hemoglobina, após 10 min a amostra foi centrifugada a 10.000 rpm por 15 min para sedimentação do núcleo dos eritrócitos, o sobrenadante recolhido para leitura da absorbância em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 540 nm, e os resultados expressos em g/dL.

#### 3.5.2 Valor do hematócrito

Para calcular o hematócrito, as amostras sanguíneas foram homogeneizadas e introduzidas em capilares para microhematócrito, sendo uma das extremidades do capilar selada. Os capilares foram centrifugados 10.000 rpm por 5 min em centrífuga de microhematócrito (GOLDENFARB *et al.*, 1971) e a avaliação feita com auxílio da tabela de microhematócrito, expressa como volume de  $10^6/\mu\text{L}^{-1}$



### 3.5.3 Contagem total de eritrócitos

Para contagem total de eritrócitos, alíquotas de sangue foram diluídas em um tubo de ensaio na proporção 0,02 mL de sangue para 4,0 mL de solução formol citrato. Após homogeneização da solução a contagem foi realizada em câmara de Neubauer. Foram contados os eritrócitos contidos nos 25 quadrados centrais dos dois lados da câmara e o resultado expresso em número de eritrócitos/mm<sup>3</sup>.

### 3.5.4 Contagem total de leucócitos e trombócitos

Foram confeccionadas duas extensões sanguíneas de cada animal em lâminas de vidro com extremidade fosca, secas ao ar e submetidas à coloração pelo método de Rosenfeld (1947). A leitura foi realizada em microscópio óptico de luz em maior aumento, com óleo de imersão. A contagem total de leucócitos e trombócitos foi realizada pelo método indireto (SADO; BICUDO; CYRINO, 2008) utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Leucócitos (por } \mu\text{L)} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ leucócitos x eritrócitos (por } \mu\text{L)}}{2000 \text{ eritrócitos contados na extensão sanguínea}}$$

$$\text{Trombócitos (por } \mu\text{L)} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ trombócitos x eritrócitos (por } \mu\text{L)}}{2000 \text{ eritrócitos contados na extensão sanguínea}}$$

### 3.5.5 Contagem diferencial de leucócitos

Para contagem diferencial dos leucócitos foram confeccionadas duas extensões sanguíneas de cada animal em lâminas com extremidade fosca. As lâminas foram secas ao ar e submetidas à coloração pelo método de Rosenfeld (1947). A leitura foi realizada em microscópio óptico de luz em maior aumento, com óleo de imersão. Foram contadas 100 células em cada lâmina, o resultado expresso em % de cada tipo celular (linfócito, neutrófilo, monócito, eosinófilo, basófilo e célula granulocítica especial) e, depois, calculados o número absoluto de cada um com relação ao número total de leucócitos (SADO; BICUDO; CYRINO, 2008).

### 3.5.6 Variáveis hematimétricas

As variáveis hematimétricas volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinadas de acordo com Wintrobe (1934) pelos cálculos:

-Volume corpuscular médio:

$$\text{VCM (fL)} = \frac{\text{hematócrito} \times 10}{\text{n}^\circ \text{ total de eritrócitos}}$$

-Hemoglobina corpuscular média:

$$\text{HCM (pg)} = \frac{\text{Concentração da hemoglobina} \times 10}{\text{n}^\circ \text{ total de eritrócitos}}$$

-Concentração da hemoglobina corpuscular média;

$$\text{CHCM (g/dL)} = \frac{\text{Concentração da hemoglobina} \times 100}{\text{hematócrito}}$$

### 3.6 Proteína total plasmática

Para a análise da proteína plasmática, foi utilizado o plasma dos capilares para microhematócrito após a centrifugação. A concentração total de proteína plasmática foi determinada por meio de um refratômetro portátil (WZ-301/Protein 0,0-12 g/dL) seguindo a metodologia utilizada por Sado; Bicudo; Cyrino (2008).

### 3.7 Análise da atividade antioxidante no tecido muscular e nas dietas experimentais

A determinação da atividade antioxidante no tecido muscular das tilápias foi realizada ao final do período experimental de 60 dias. As tilápias foram submetidas a jejum de 24h, após isso, foram eutanasiadas por superdosagem de anestésico benzocaína seguido por secção medular, pesadas, medidas e filetadas (retirando toda a pele). Os tecidos musculares foram colocados em placas de petri, devidamente identificados e recobertos em papel alumínio, bem como congelados (-21°C) para posterior liofilização (Liofilizador Modelo L101 - Liotop®). As amostras liofilizadas do tecido muscular foram moídas e peneiradas em peneira de 80 mesh (177 µm) para evitar qualquer influência granulométrica nos ensaios, conforme descrita por Serpen; Gokmen; Flogliano (2012).

### 3.7.1 Atividade antioxidante do tecido muscular e das dietas experimentais pelo procedimento de *QUENCHER*.

O procedimento de preparação das amostras, do tecido muscular e das dietas, foi baseado na metodologia de Serpen; Gokmen; Flogliano (2012). Para as análises ensaios de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS (ácido 2,2-anizo-bis((3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)) e FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), seguindo o procedimento de *QUENCHER* (do inglês *Quick, Easy, New, Cheap, Reproducible*).

Foi pesado  $0,01 \pm 0,0001$  g de cada amostra em tubos tipo falcon, protegidos contra a luz com papel alumínio, foi adicionado 10 mL das respectivas soluções de trabalho aos tubos para iniciar as reações. Todos os tubos foram agitados em vórtex por 1 min e em *Shaker* de bancada (Incubadora Refrigerada Agitação Orbital Modelo 6430 Thoth®) por 60 min e centrifugados a 4000 rpm durante 5 min. As absorbâncias dos sobrenadantes foram mensuradas em um espectrofômetro (Kasuski-Modelo IL-227) nas seguintes absorbâncias: 525 nm (DPPH), 734 nm (ABTS) e 593 nm (FRAP) (SERPEN; GÖKMEN; FOGLIANO, 2012). Para a realização da curva utilizou-se o padrão de referência Trolox ( $[\pm]$  -6 - hidroxil - 2,5,7,8 - tetrametilcroman - 2 - carboxílico ácido).

A solução estoque de DPPH foi preparada pela dissolução de  $0,04 \pm 0,0001$  g do radical DPPH em 200 mL de uma mistura etanol/água deionizada (50:50, v/v). Após, definiu-se o valor de absorbância de 0,75-0,80 a 525 nm, por meio da dissolução da solução estoque em, aproximadamente, 800 mL de uma mistura de etanol/água deionizada (50:50, v/v). Foram utilizadas soluções metanólicas de Trolox em diferentes concentrações para a obtenção da curva de calibração ( $y=0,0248x + 5,6605, R^2=0,999$ ), sendo a capacidade antioxidante expressa em  $\mu\text{mol ET g}^{-1}$

Para o ensaio de ABTS, a solução de trabalho foi preparada conforme Re *et al.* (1999) reagindo ao ABTS solução estoque ( $7 \text{ mmol L}^{-1}$ ) com persulfato de potássio ( $2,45 \text{ mmol L}^{-1}$ ). A solução final foi protegida da luz em temperatura ambiente por 12-16h antes de usá-la. A definição do valor de absorbância de 0,75-0,80 a 734 nm foi diluída a 10 mL da solução de trabalho em, aproximadamente, 800 mL de uma mistura de etanol/água deionizada (50:50,v/v)(SERPEN; GÖKMEN;FOGLIANO, 2012). Foram utilizadas soluções metanólicas de Trolox em diferentes concentrações para a obtenção da curva de calibração ( $y=0,0409x+3,926, R^2 = 0,9957$ ), sendo a capacidade

antioxidante expressa em  $\mu\text{mol}$  de equivalente Trolox por grama de amostra ( $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ ).

A solução FRAP foi preparada diluindo uma solução aquosa com composição de  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  de TPTZ [2,4,6-Tris (2-piridil) -s- triazina] e  $20 \text{ mmol L}^{-1}$  de cloreto férrico em  $300 \text{ mmol L}^{-1}$  tampão de acetato de sódio (pH 3,6) a uma razão de 1:1:10 (v/v/v), conforme descrito por (BENZIE; STRAIN, 1996). Efetuaram-se as leituras de absorvância em 593 nm. Foram utilizadas soluções metanólicas de Trolox em diferentes concentrações para a obtenção da curva de calibração ( $y=0,0004x + 0,0025$ ,  $R^2=0,9963$ ), sendo a capacidade antioxidante expressa em  $\mu\text{mol}$  de equivalente Trolox por grama de amostra ( $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ ).

### 3.7.2 Atividade antioxidante a partir do extrato metanólico do tecido muscular e das dietas experimentais

Para a preparação dos extratos seguiu-se a metodologia descrita por Boroski *et al.* (2015). Utilizou-se, aproximadamente,  $1,0000 \pm 0,0003 \text{ g}$  da amostra liofilizada, triturada e peneirada em peneira de 80 mesh ( $177 \mu\text{m}$ ) e 10 mL de metanol. A mistura foi homogeneizada em  $25^\circ\text{C}$  a 250 rpm por 30 min, utilizando um *Shaker* de bancada (Incubadora Refrigerada Agitação Orbital Modelo 6430 Thoth®). Em seguida, centrifugou-se a 3000 rpm por 15 min. O sobrenadante foi recolhido e armazenado, bem como protegido da luz, a ( $-8^\circ\text{C}$ ) até sua utilização para determinação da capacidade antioxidante pelo ensaio DPPH, ABTS, FRAP e Teor de Fenólicos Totais.

#### 3.7.2.1 Análise de DPPH

Para a capacidade de eliminação do DPPH, adotou-se o método descrito por Brand-Willians; Cuvelier; Berset (1995) com algumas modificações. Foi adicionado 25  $\mu\text{L}$  dos extratos metanólicos do tecido muscular a 2 mL da solução metanólica de DPPH ( $6,25 \times 10^{-5} \text{ mol/L}^{-1}$ ) e, na sequência, deixou-se a mistura em repouso à temperatura ambiente e ao abrigo da luz durante 30 min. Após esse período, anotou-se as leituras de absorvância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. Soluções metanólicas de Trolox em diferentes concentrações conhecidas de Trolox na faixa de 0-2000  $\mu\text{mol/L}^{-1}$  foram utilizadas para calibração. Expressou-se os resultados em  $\mu\text{mol}$  de Equivalente Trolox/g de amostra seca ( $\mu\text{mol ET/g}$ ), usando uma curva de calibração ( $y= -12,462x+0,7348$ ,  $R^2 =0,9937$ ).

### 3.7.2.2 Análise de ABTS

O ensaio do radical ABTS foi realizado pelo método de Re *et al.* (1999) com algumas modificações. O radical do ABTS foi produzido pela reação de 5 mL de uma solução estoque de 7,0 mmol L<sup>-1</sup> de ABTS e 30 µL de uma solução com 145,0 mmol L<sup>-1</sup> de persulfato de potássio a mistura permaneceu no escuro em temperatura ambiente por 12-16h antes do uso. Após esse período a solução do radical ABTS foi diluída com etanol para obtenção da absorbância de 0,70 ± 0,02 utilizando o comprimento de onda de 734 nm.

A leitura da absorbância foi registrada 6 min após a adição de 30 µL da solução de extrato metanólico dos tecidos musculares ou do padrão para 3 mL da solução ABTS. Concentrações conhecidas de Trolox na faixa de 0-2000 µmol/L<sup>-1</sup> foram utilizadas para calibração. Os resultados foram expressos em µmol de Equivalente Trolox/g de amostra seca (µmol ET/g), usando uma curva de calibração ( $y = -11,08x + 0,7258$ ,  $R^2 = 0,9972$ ).

### 3.7.2.3 Análise de FRAP

Utilizou-se a metodologia para o ensaio do radical FRAP descrita por Benzei; Stalin (1996), com algumas modificações.

O reagente FRAP constituiu-se pela mistura de tampão de acetato (0,3 mmol L<sup>-1</sup>, pH 3,6), TPTZ (10,0 mmol L<sup>-1</sup>) e cloreto de ferro (III) FeCl<sub>3</sub> (20,0 mmol L<sup>-1</sup>), soluções de 10:1:1, respectivamente, 100 µL de extrato e 300 µL de água destilada, foram adicionados a 3,0 mL do reagente FRAP, mantido no escuro por 30 min a 37°C. O complexo formado possui coloração azul intensa, sua absorbância foi medida em comparação a um branco em 593 nm. Aplicaram-se soluções aquosas de (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) na faixa de 0-1500 µmol/L<sup>-1</sup> usou-se para a curva de calibração ( $y = 4,3687x + 3E-05$ ,  $R^2 = 0,9996$ ). Expressaram-se os resultados como µmol de Fe<sup>+2</sup>g<sup>-1</sup>

### 3.7.2.4 Análise de teor de fenólicos totais

Para os ensaios com os extratos dos tecidos musculares foi utilizado o reagente *Folin-Ciocalteu* de acordo com (SINGLETON; ROSSI, 1965), 250 µL dos extratos metanólicos do tecido foram adicionados a 250 µL do reagente *Folin-Ciocalteu* (diluído em água destilada, 1:1 v/v), foram adicionados 500 µL de

solução saturada de carbonato de sódio e 4 mL de água destilada. Após 25 min em repouso e protegida da luz a mistura foi centrifugada durante por 10 min a 3000 rpm e a absorbância foi realizada em espectrofômetro no comprimento de onda de 725 nm. Aplicaram-se soluções metanólicas de concentrações conhecidas de ácido gálico na faixa de 0-260 mg/L foram utilizadas para curva de calibração. Os resultados foram expressos em mg de Equivalentes de Ácido Gálico/g de amostra seca (mgEAG/g), usando a curva de calibração ( $y = 22,157x + 0,0188$ ,  $R^2 = 0,9984$ ).

### 3.8 Análise de TBARS

As análises de oxidação lipídica do tecido muscular foram realizadas pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com o procedimento descrito por Vyncke (1970) com algumas modificações. Para o ensaio os tecidos musculares foram picados e colocados em bandejas de isopor embrulhadas em filmes de PVC e armazenados em refrigerador ( $\pm 4^\circ\text{C}$ ) com controle de fotoperíodo (12:12). As análises da oxidação lipídica foram realizadas nos dias 0,1,3 e 7 de armazenamento. Os tecidos musculares foram picados com o objetivo de acelerar o processo de oxidação lipídica e avaliar o efeito antioxidante do EAST adicionados nas dietas.

O ensaio seguiu as etapas de extração, reação ao ácido tiobarbitúrico e leitura em espectrofotômetro. Para cada extração 2,5 g do tecido muscular foram colocados e identificados em tubos tipo Falcon, 5 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% foram adicionados e agitados em vórtex por 1 min e centrifugados por 2500 rpm por 10 min. Do sobrenadante foi retirado 2 mL e 2 mL de ácido tiobarbitúrico a 1% foram pipetados para um tubo de ensaio, agitado em vórtex por 1 min e colocados em banho-maria a  $97^\circ\text{C}$  por 20 min para desenvolver uma cor rosa e, em seguida, resfriado com água corrente. A absorbância do sobrenadante resfriado foi determinada em espectrofotômetro a 532 nm e os resultados expressos em  $\text{mg kg}^{-1}$  de malondialdeído (MDA) no tecido muscular. O valor do ácido tiobarbitúrico (TBA) foi expresso como micromoles de MDA por quilograma de carne de peixe e foi derivado da equação de regressão da curva padrão ( $y = 33,383x + 0,0688$ ,  $R^2 = 1$ ) usando 1,1,3,3-tetramet-oxipropano.

### **3.9 Análise estatística**

Os resultados obtidos foram avaliados quanto às pressuposições estatísticas de normalidade (Cramer Von Mises) e homoscedasticidade (Brown-Forsythe). Os resultados foram submetidos a ANOVA e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Desempenho zootécnico

Após 60 dias de suplementação com EAST na dieta de juvenis de tilápias do Nilo, não houve ( $p>0,05$ ) diferença para as variáveis ganho de peso, consumo de ração, índice de conversão alimentar e taxa de crescimento específico (Tabela 2).

**Tabela 2 - Parâmetros de desempenho (média  $\pm$  desvio padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de extrato aquoso da *Samanea tubulosa* (EAST) na dieta durante 60 dias.**

	Extrato Aquoso <i>Samanea tubulosa</i> (%)			Valor de P
	Controle (0)	2	4	
Ganho de peso (g)	815,0 $\pm$ 51,0	852,2 $\pm$ 174,8	941,5 $\pm$ 148,3	0,669
Consumo de ração (g)	1130,4 $\pm$ 76,0	1014,7 $\pm$ 223,8	1390,2 $\pm$ 88,1	0,165
ICA	1,57 $\pm$ 0,3	1,24 $\pm$ 0,09	1,48 $\pm$ 0,14	0,273
TCE (%)	1,5 $\pm$ 0,25	2,3 $\pm$ 0,8	1,5 $\pm$ 0,18	0,270
TS (%)	100	90	100	

ICA: Índice de Conversão Alimentar  
TCE: Taxa de Crescimento Específico  
TS: Taxa de Sobrevivência

### 4.2 Parâmetros hematológicos

Os resultados das análises para os parâmetros hematológicos apresentam-se sumarizados na Tabela 3. Não houve efeito ( $p>0,05$ ) dos tratamentos sobre as variáveis hematológicas.



**Tabela 3 - Parâmetros hematológicos (média  $\pm$  desvio padrão) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de extrato aquoso da *Samanea tubulosa* (EAST) na dieta durante 60 dias.**

Parâmetros	Extrato Aquoso <i>Samanea tubulosa</i> (%)			Valor de P
	Controle (0)	2	4	
Hematócrito (%)	45,7 $\pm$ 13,89	35,50 $\pm$ 3,66	39,50 $\pm$ 8,48	0,1095
Hemoglobina (g/dL)	8,86 $\pm$ 0,61	9,12 $\pm$ 0,76	8,61 $\pm$ 0,89	0,4004
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> / $\mu$ L)	1,96 $\pm$ 0,31	2,11 $\pm$ 0,25	1,99 $\pm$ 0,27	0,5126
VCM (f-L)	206,85 $\pm$ 53,07	168,45 $\pm$ 16,14	201,93 $\pm$ 56,68	0,2128
HCM (pg/cel)	42,65 $\pm$ 9,04	43,59 $\pm$ 6,23	44,22 $\pm$ 9,47	0,9181
CHCM (g/dL)	20,02 $\pm$ 5,42	26,00 $\pm$ 3,99	22,60 $\pm$ 4,87	0,0511
Leucócitos ( $\mu$ L)	111644 $\pm$ 43527	112426 $\pm$ 29132	105542 $\pm$ 18012	0,6774
Trombócitos ( $\mu$ L)	39590 $\pm$ 15019	41578 $\pm$ 16540	35031 $\pm$ 9715	0,2037
Linfócitos ( $\mu$ L)	55075 $\pm$ 22460	55959 $\pm$ 14792	52205 $\pm$ 9192	0,6748
Neutrófilos ( $\mu$ L)	32883 $\pm$ 12635	36142 $\pm$ 10800	31943 $\pm$ 6586	0,3098
Monócitos ( $\mu$ L)	14633 $\pm$ 6262	13002 $\pm$ 4382	13282 $\pm$ 4144	0,4361
Eosinófilos ( $\mu$ L)	9130 $\pm$ 4203	7322 $\pm$ 2697	8259 $\pm$ 3187	0,1695
Proteína total (g/dL)	6,99 $\pm$ 0,87	6,30 $\pm$ 0,59	6,34 $\pm$ 0,92	0,1424

VCM: Volume Corpuscular Médio.

HCM: Hemoglobina Corpuscular Médio.

CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

### 4.3 Atividade antioxidante utilizando a metodologia de *QUENCHER*

Os resultados das análises dos ensaios DPPH, ABTS e FRAP no tecido muscular e das dietas experimentais, a partir da metodologia de *QUENCHER*, apresentam-se sumarizados na Tabela 4. Houve efeito ( $p < 0,05$ ) da atividade antioxidante no tecido muscular pelo ensaio ABTS nos peixes suplementados com 4% de EAST, o que não foi observado nos demais tratamentos. No ensaio FRAP foi observada diferença na atividade antioxidante no tecido muscular, sendo que os tratamentos controle e com 2% de EAST, foram estatisticamente iguais e apresentaram resultados maiores que o tratamento 4% de EAST. Não foi observada diferença significativa no ensaio DPPH realizado no tecido muscular, nem nas dietas experimentais com as inclusões do EAST.

**Tabela 4 - Atividade antioxidante (média  $\pm$  desvio padrão) do tecido muscular e das dietas experimentais pelo procedimento de *QUENCHER***

Amostras	DPPH <sup>2</sup>	ABTS <sup>3</sup>	FRAP <sup>4</sup>
Tecido muscular	$\mu\text{mol ET g}^{-1}$	$\mu\text{mol ET g}^{-1}$	$\mu\text{mol ET g}^{-1}$
Controle <sup>1</sup>	172,82 $\pm$ 113,98	1062,27 $\pm$ 216,19 <sup>b</sup>	116,50 $\pm$ 22,08 <sup>a</sup>
EAST 2%	256,20 $\pm$ 158,11	1086,17 $\pm$ 122,96 <sup>b</sup>	102,03 $\pm$ 27,41 <sup>a</sup>
EAST 4%	162,62 $\pm$ 94,52	1301,57 $\pm$ 254,05 <sup>a</sup>	97,41 $\pm$ 21,94 <sup>b</sup>
Valor de P	0,1425	0,0012	0,0470
Dietas			
Controle <sup>1</sup>	363,30 $\pm$ 25,46	1297,87 $\pm$ 80,80	70,12 $\pm$ 28,07
EAST 2%	379,21 $\pm$ 69,22	1387,04 $\pm$ 34,77	75,40 $\pm$ 13,40
EAST 4%	268,30 $\pm$ 65,22	1335,02 $\pm$ 131,18	81,76 $\pm$ 3,42
Valor de P	0,2554	0,6581	0,8230

Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

<sup>1</sup> Ração sem inclusão do extrato aquoso

<sup>2</sup> DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

<sup>3</sup> ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico).

<sup>4</sup> FRAP: *Ferric Reducing Ability Power*.

#### 4.4 Atividade antioxidante do extrato metanólico do tecido muscular e nas dietas experimentais

Os resultados de atividade antioxidante dos ensaios DPPH, ABTS, FRAP e teor de Fenólicos Totais a partir do extrato metanólico do tecido muscular e nas dietas experimentais, apresentam-se sumarizados na Tabela 5. O tratamento com inclusão de 4% de EAST apresentou maior atividade antioxidante ( $p < 0,05$ ) nas dietas experimentais pelo ensaio FRAP. Para o ensaio de teor de fenólicos totais, os tratamentos com a inclusão de 2% e 4% de EAST foram estatisticamente iguais e superiores ao tratamento controle. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) nos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, para as dietas experimentais e nos tecidos musculares.

**Tabela 5 - Atividade antioxidante (média  $\pm$  desvio padrão) do extrato metanólico do tecido muscular e das dietas experimentais.**

Amostras	DPPH <sup>2</sup>	ABTS <sup>3</sup>	FRAP <sup>4</sup>	Fenólicos Totais <sup>5</sup>
Tecido muscular	$\mu\text{mol ET g}^{-1}$	$\mu\text{mol ET g}^{-1}$	$\mu\text{mol Fe}^{2+} \text{g}^{-1}$	$\mu\text{mol EAG g}^{-1}$
Controle <sup>1</sup>	3,59 $\pm$ 0,98	4,09 $\pm$ 0,93	3,09 $\pm$ 1,22	0,26 $\pm$ 0,06
EAST 2%	3,93 $\pm$ 0,79	4,32 $\pm$ 1,14	3,14 $\pm$ 1,28	0,28 $\pm$ 0,09
EAST 4%	3,90 $\pm$ 0,76	4,01 $\pm$ 0,88	3,41 $\pm$ 1,57	0,28 $\pm$ 0,08
Valor de P	0,2689	0,5122	0,624	0,4650
Dietas				
Controle <sup>1</sup>	4,76 $\pm$ 0,48	3,22 $\pm$ 0,15	5,26 $\pm$ 0,91 <sup>b</sup>	0,29 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
EAST 2%	5,20 $\pm$ 0,65	4,51 $\pm$ 0,47	4,32 $\pm$ 0,62 <sup>b</sup>	0,73 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
EAST 4%	6,19 $\pm$ 0,59	4,01 $\pm$ 0,76	12,20 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>	0,60 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>
Valor de P	0,0571	0,0609	<.0001	0,0053

Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

<sup>1</sup>Ração sem inclusão do extrato aquoso

<sup>2</sup>DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

<sup>3</sup>ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico).

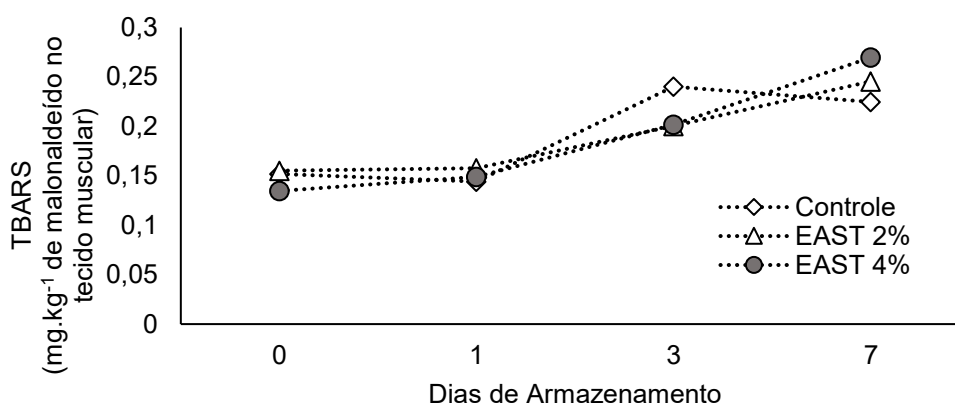
<sup>4</sup>FRAP: *Ferric Reducing Ability Power*.

<sup>5</sup>Teor de Fenólicos Totais

#### 4.5 Oxidação lipídica no tecido muscular

Houve efeito do tempo no processo da oxidação lipídica no tecido muscular (Gráfico 1). Todavia, a inclusão do EAST nas dietas experimentais não revelou efeito ( $p>0,05$ ) sobre o processo de oxidação lipídica (TBARS) no decorrer dos sete dias de avaliação do tecido muscular.

**Gráfico 1 - Oxidação lipídica ( $\text{mg.kg}^{-1}$  de malonaldeído no tecido muscular) pelo ensaio de TBARS no tecido muscular de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com níveis crescentes de extrato aquoso de *Samanea tubulosa* (EAST) na dieta durante 60 dias.**



## 5. DISCUSSÃO

A utilização de aditivos naturais na dieta de peixes tem sido o foco de recentes pesquisas devido aos seus diversos benefícios, como o estabelecimento da microbiota intestinal, estimulação do apetite, aumento da taxa de crescimento e bem-estar animal (BULFON; VOLPATTI; GALEOTTI, 2015). Neste contexto, os extratos de origem vegetal destacam-se como suplementos alimentares, para auxiliar no desempenho zootécnico e saúde dos peixes.

No presente estudo, os parâmetros de desempenho (Tabela 2) não foram afetados com a inclusão do EAST na dieta de juvenis de tilápias-do-Nilo. Resultados semelhantes foram observados em juvenis de tilápia-do-Nilo, alimentados com duas dietas experimentais, uma com extrato de folhas de moringa (*Moringa oleifera*) (0,15 e 0,25%) e outra com extrato de casca de romã (*Punica granatum*) (0,3 e 0,5%), neste estudo foram avaliados o peso inicial, peso final e taxa de crescimento específico. Os resultados obtidos demonstraram que o extrato de folhas de moringa afetou benéficamente os parâmetros de desempenho dos peixes, enquanto o extrato da casca de romã não revelou nenhum efeito no desempenho (MONIR *et al.*, 2020).

Estudo realizado com espécimes de carpa-comum (*Cyprinus carpio*) suplementadas com o extrato das folhas de carvalho (*Quercus castaneifolia*) não apresentaram efeito nos parâmetros de desempenho (PARAY *et al.*, 2020), assim como observado no presente estudo. Baba *et al.* (2018) avaliaram juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentados com dietas suplementadas com extrato de folha de oliveira (*Olea europaea L.*) nas seguintes proporções (0; 0,1; 0,25; 0,50 e 1,0%), porém os níveis testados não revelaram efeito significativo no peso inicial, peso final, taxa de crescimento específico e taxa de conversão alimentar. No entanto, Adeniyi *et al.* (2021) observaram aumento no ganho de peso, taxa de crescimento relativo, taxa de crescimento específico e taxa de conversão alimentar em alevinos de tilápias-do-Nilo, suplementados por 90 dias com níveis crescentes (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2%) do extrato das folhas de tamarindo (*Tamarindus indica*), observou-se também neste estudo a melhora na digestibilidade dos nutrientes e proteção contra infecção por *Aeromonas hydrophila*.

Hassona *et al.* (2020) de forma semelhante, revelaram que juvenis de tilápias-do-Nilo suplementados por 45 dias com extrato de vidreira da punctura (*Tribulus terrestris*) e 17 $\alpha$ -metil testosterona nas dietas, com o objetivo de avaliar o

desempenho de crescimento e eficiência reprodutiva de machos de tilápias-do-Nilo. Estes resultados demonstraram que o extrato melhorou o peso corporal final, ganho de peso, taxa de conversão alimentar, específico, taxa de crescimento, condição de saúde, qualidade do sêmen e eficiência reprodutiva dos animais sem qualquer efeito nocivo na qualidade da água.

De acordo com os autores Gabriel (2019) e Sun *et al.* (2020) os extratos de plantas melhoram o metabolismo, bem como promovem o crescimento dos peixes com ênfase no seu período inicial de desenvolvimento. Os resultados alcançados por Acar *et al.* (2015) e Baba *et al.* (2016) reafirmam a tendência de aumento do crescimento e da imunidade dos peixes quando suplementados com aditivos naturais.

Embora se tenha chegado em respostas positivas em algumas variáveis quanto ao uso de aditivos naturais na aquicultura, a falta de conhecimento suficiente sobre os extratos fitoterápicos limita seu uso na alimentação da tilápias (GABRIEL, 2019). Portanto, mais pesquisas são necessárias para validar seus efeitos aliados a promoção de crescimento, aos efeitos imunoestimulantes, a ausência de toxicidade, métodos de extração e a concentração de extrato a ser utilizado.

O valor do hematócrito, concentração de hemoglobina e a contagem de eritrócitos também não foram influenciados pela inclusão do EAST na dieta dos juvenis de tilápia-do-Nilo (Tabela 3). Da mesma forma, outro estudo realizado com juvenis de carpas-comum (*Cyprinus carpio*) alimentados por 75 dias com extrato de casca verde de pistache (*Pistacia vera*) não revelou diferença nos valores do hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos (MOTAMEDI-TEHRANI *et al.*, 2016). Acar (2018) observou que espécimes de carpa-capim alimentados com extrato de erva-de-são-joão (*Hypericum perforatum*) não demonstraram diferenças nos valores de hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos quando comparados com o controle.

Fazio *et al.* (2021) observaram que juvenis de tilápias-do-Nilo alimentados por 60 dias com níveis crescentes (0,1,1,5 e 2%) de extrato de folhas de oliveira (*Olea europaea*) apresentaram diferenças nos valores de hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos. De forma semelhante, Amirhani; Firouzbakhsh (2015) observaram que juvenis de carpa-capim suplementados também por 60 dias com extrato de folhas de manjeriço (*Ocimum basilicum*) revelaram aumento nos valores de hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos e apresentaram maior resistência após serem desafiados com *Aeromonas hydrophila*.

Por outro lado, Gabriel observaram que tilápias-do-Nilo suplementadas com Aloe vera (*Aloe barbadensis*) apresentaram maiores valores de hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos após serem desafiadas com o patógeno *Streptococcus iniae*. Esses resultados estão relacionados à reação natural de autodefesa do peixe, que é condicionado, por ação adversa à homeostase, a elevar os índices de hematócrito, hemoglobina e eritrócitos a fim de promover o fortalecimento dos mecanismos de defesa contra o estresse fisiológico (GABRIEL *et al.*, 2015). A referida reação não foi constatada no estudo em questão, pois os peixes não foram expostos a situações estressantes e, desse modo, os índices hematológicos sequer sofreram alterações significativas. É possível que os níveis de EAST aplicados não foram suficientes para expressar influência nos valores de hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem de eritrócitos e índices hematimétricos (Tabela 3). O Volume corpuscular médio (VCM), a Hemoglobina corpuscular média (HCM) e a Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram semelhantes aos descritos como dentro do padrão normal da espécie (AYDIN; HARMANTEPE, 2018).

Os leucócitos e trombócitos são células envolvidas no processo fagocitário e na remoção de debris celulares (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013). A contagem de leucócitos e trombócitos (Tabela 3) no sangue das tilápias suplementadas com EAST não apresentou diferenças entre os tratamentos. Em concordância com nossos resultados, Dotta *et al.* (2015) observaram que juvenis de tilápia-do-Nilo suplementados com extratos de própolis e Aloe vera (*A. barbadensis*) durante 15 e 21 dias, não obtiveram diferenças, nem apresentaram alterações no quadro hematológico.

Os resultados do presente estudo com o EAST não revelaram efeito na contagem de leucócitos e trombócitos, evidenciando ausência de toxicidade do extrato no organismo dos peixes. Segundo Tavares Ranzani-Paiva *et al.* (2004) mudanças nos parâmetros hematológicos de peixes podem ser observadas quando eles estão infectados, submetidos ao estresse ou quando há diminuição da alimentação. Desse modo, a ausência de alterações nos parâmetros hematológicos dos peixes no presente estudo pode ser explicada pela incoerência de condições adversas semelhantes às mencionadas. Kareem *et al.* (2016) também relataram não terem encontrado diferenças na contagem de leucócitos em juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com a mistura dos extratos canforeira (*Cinnamomum camphora*), erva-

andorinha (*Euphorbia hirta*), cinamomo (*Azadirachta indica*) e mamão (*Carica papaya*).

A concentração de proteína total (Tabela 3) não revelou efeito entre os tratamentos, assim como o observado por Gultepe *et al.* (2014) em juvenis de tilápias-do-Nilo alimentados por 88 dias com níveis crescentes de extrato de vidreira punctura (*Tribulus terrestris*) nas dietas. Resultados semelhantes foram observados com juvenis de tilápias-do-Nilo alimentados por 28 dias com extrato de folhas de *Excoecaria agallocha* com níveis crescentes (10,20,30,40 e 50 mg/kg) não apresentou efeito significativo na concentração de proteína total e demonstrou resistência contra o patógeno de *S. agalactiae*.

Contudo, Elkaradawy *et al.* (2021), observaram um aumento da concentração de proteína total em alevinos de tilápias-do-Nilo alimentados por 60 dias com níveis crescentes de vitamina E e extrato de casca de sabão (*Quillaja saponária*) que também promoveu melhora na qualidade da água, no desempenho, nas guelras e na saúde intestinal dos peixes. De acordo com estes autores, essas alterações estão relacionadas ao aumento da produção de muco gástrico, induzindo um efeito protetor ao trato gastrointestinal. Isso foi acompanhado por aumento na secreção de enzimas digestivas pancreáticas e enzimas intestinais.

Segundo Gabriel *et al.* (2015) o extrato de *A. vera* e de outras ervas medicinais foram relatados como capazes de aumentar, significativamente, o conteúdo de proteína total sérica em diferentes espécies de peixes, tais como mucunã (*Mucuna pruriens*), em rohu (*Labeo rohita*); cominho negro (*Nigella sativa*) e extrato de urtiga em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

Embora os níveis de concentração de proteína total sérica do presente estudo tenham permanecido sem alterações significativas, não aponta prejuízo ao peixe, mas sim a simples falta de estímulo na produção de anticorpos (BILLER-TAKAHASHI; URBINATI, 2014). Além disso, foi relatado que alguns extratos de ervas medicinais não têm efeitos sobre os parâmetros hematológicos em espécies de tilápias (GABRIEL *et al.*, 2015; KAREEM *et al.*, 2016).

Neste estudo, o tratamento suplementado com 4% de EAST apresentou maior atividade antioxidante no tecido muscular de tilápias frente ao radical ABTS seguindo o procedimento de QUENCHER (Tabela 4). Em concordância com nossos resultados, Carbonera *et al.* (2014) avaliaram a suplementação do extrato de resíduo de acerola (*Malpighia emarginata*) na dieta de juvenis de tilápia-do-Nilo e obtiveram maior

atividade antioxidante no tecido muscular, em diferentes períodos de suplementação, determinados pelas análises de DPPH e FRAP. De acordo com estes autores, os maiores valores obtidos de atividade antioxidante ( $1778,87$  e  $4892,77 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ ) foram encontrados no período de 15 dias de suplementação. Para a análise ABTS, a atividade antioxidante apontou o maior valor ( $2069,63 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ ) no tecido muscular no tempo zero de suplementação, mas verificaram que a atividade antioxidante do tecido muscular não se alterou linearmente no período de suplementação.

Em conformidade com os resultados acima citados, Carbonera *et al.* (2016) observaram comportamentos diversos ao longo dos 60 dias com juvenis de tilápias-do-Nilo suplementados com óleo de chia (*Salvia Hispanica L.*), óleo de tungue (*Aleurites fordii*), ácido linoleico conjugado e vitamina E em todas as análises de atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) realizadas seguindo o procedimento de *QUENCHER*. O tecido muscular das tilápias apresentou maior atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) após 15 dias de suplementação em comparação com os valores de tempo zero, o maior valor encontrado foi na análise FRAP ( $39,25 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ ) sendo superior as demais análises do mesmo período. Os mesmos autores ainda afirmam que tais resultados estão relacionados a fase de crescimento dos animais, que utilizam esses antioxidantes como recomposição de seus tecidos e podem apresentar diferentes picos de atividade antioxidante durante o período de suplementação.

No presente estudo, a análise do ABTS demonstrou maior atividade antioxidante no músculo de tilápias suplementadas com 4% de EAST, mostrando diferença em comparação as análises DPPH e FRAP, seguindo o procedimento de *QUENCHER* (Tabela 4). Todavia, a inclusão do EAST não apresentou nenhuma diferença de atividade antioxidante no tecido muscular das tilápias quando utilizada para a metodologia dos extratos metanólicos (Tabela 5). Tais diferentes resultados encontrados neste estudo, mostram a importância da utilização de procedimentos convencionais de extração baseados em outras matrizes, provavelmente devido ao fato de que o procedimento de *QUENCHER* inclui a contribuição de compostos que não são solubilizados como no procedimento de extração tradicional (SERPEN; GOKMEN; FLOGLIANO, 2012).

Neste sentido, a análise do ABTS apresentou o maior valor de atividade antioxidante ( $1301 \mu\text{mol TEg}^{-1}$ ) no tecido muscular com a inclusão de 4% de EAST, seguindo o procedimento de *QUENCHER*, quando comparado as demais análises



realizadas neste experimento (Tabela 4). Quanto as diferenças nos resultados obtidos de atividade antioxidante a partir das metodologias de análises utilizadas, possivelmente estão relacionadas as diferentes afinidades dos radicais antioxidantes presentes em diferentes amostras, demonstrando que os radicais hidrofóbicos têm menos capacidade de atacar macromoléculas, como proteínas em solução (BOROSKI *et al.* 2015). Portanto, pode ser uma das razões de que a análise ABTS teria mais interação em ambos sistemas hidrofílicos e lipofílicos. A análise do DPPH, por sua vez, é o ideal para aplicação em sistemas hidrofóbicos, por ser melhor solubilizado em solventes com baixa polaridade, e é, sem dúvida, mais seletivo do que ABTS (SERPEN; GOKMEN; FLOGLIANO, 2012).

Esta diferença de ação entre DPPH e ABTS também ajuda a explicar a tendência total dos valores de atividade antioxidante encontrados em ambos as análises, nos quais podem ser observados valores mais elevados na análise ABTS em relação a análise DPPH. A análise FRAP é basicamente um ensaio de antioxidante hidrofílico que não responde bem a antioxidantes lipofílicos, enquanto a análise ABTS é bem-sucedido na estimativa da atividade antioxidante em ambos os sistemas polar e apolar (BOROSKI *et al.*, 2015).

De acordo com os resultados obtidos no estudo em questão, a análise do FRAP, contraditoriamente ao verificado com a aplicação da análise ABTS, revelou os maiores valores de atividade antioxidante (116,50 e 102,03  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ) no tecido muscular com o tratamento controle e com a inclusão 2% de EAST, enquanto o tratamento com inclusão 4% de EAST apresentou resultado significativamente inferior (97,41  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ), seguindo o procedimento de *QUENCHER*.

Tais resultados mostraram a importância da utilização de métodos convencionais de extração como o procedimento de *QUENCHER*, isso porque evitam o desperdício de tempo na extração de solventes, fornecem dados mais realistas em relação a atividade antioxidante, uma vez que suas ações simultâneas de todos os antioxidantes presentes nas amostras são consideradas (GOKMEN; SERPEN; FLOGLIANO, 2009; SERPEN; GOKMEN; FLOGLIANO, 2012). O ABTS é o mais utilizado para análise de atividade antioxidante pelo fato de ser uma técnica prática, de alta sensibilidade e que produz resultados confiáveis, além de utilizar um cátion radical muito estável (BOROSKI *et al.*, 2015).

As dietas experimentais acrescidas com EAST não apresentaram atividade antioxidante nos tratamentos seguindo o procedimento de *QUENCHER* (Tabela 4).

Porém, foi observada atividade antioxidante nas dietas experimentais pela análise FRAP quando utilizada a metodologia dos extratos metanólicos (Tabela 5). A análise FRAP, apresentou o maior valor de atividade antioxidante ( $12,20 \mu\text{mol TEg}^{-1}$ ) nas dietas com a inclusão de 4% de EAST. Já na análise de teor de Fenólicos Totais, os maiores valores foram observados com as inclusões, de 2% e 4% do EAST ( $0,73$  e  $0,60 \mu\text{mol TEg}^{-1}$ , respectivamente), ambos significativamente superiores ao tratamento controle.

Estes resultados podem ser decorrentes, possivelmente, da composição das substâncias químicas presentes na *S. tubulosa* em atuar como antioxidante. Segundo Wolfe; Liu (2008) dos compostos bioativos presentes em *S. tubulosa*, os flavonoides merecem destaque. Os referidos autores discutem que os flavonoides possuem atividade antioxidante devido a presença de dupla ligação entre os carbonos, combinada com a presença de grupos hidroxilas. Uma das condições necessárias para que os flavonoides apresentem atividade antioxidante é o número e a posição de grupos hidroxila no anel B. No presente estudo, houve ação antioxidante no tecido muscular com a inclusão de 4% de EAST pela análise ABTS, seguindo procedimento de *QUENCHER*, e atividade antioxidante, em iguais condições, pela análise FRAP, seguindo a metodologia dos extratos

Neste estudo, a inclusão de EAST não exerceu efeito sobre o processo de oxidação lipídica (TBARS) no decorrer dos sete dias de avaliação do tecido muscular (Gráfico 1). No entanto, Sary *et al.* (2019) observaram que a inclusão do óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllus*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) nas dietas apresentou efeito sobre o processo de oxidação lipídica no tecido muscular armazenado em refrigerador a  $2^{\circ}\text{C}$  com um fotoperíodo (12:12), avaliados nos dias 1, 3 e 7 de armazenamento. Ao final do dia 7, todos os tratamentos apresentaram inibição da oxidação lipídica no tecido muscular. De acordo com estes resultados, estas alterações podem estar relacionadas ao efeito pró-oxidante, considerando que os óleos contribuem para o equilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes, prevenindo a oxidação no sistema biológico e retardando as reações de oxidação lipídica no tecido muscular após o abate (FALOWO; FAYEMI; MUCHEMJE, 2014; KUMAR *et al.*, 2015).

Embora a inclusão do EAST nas dietas não tenha exercido efeito sobre o processo de oxidação lipídica no tecido muscular das tilápias-do-Nilo, por tratar-se de um estudo inicial, surge a necessidade de incentivo a pesquisas mais aprofundadas, em específico, com a aplicação de doses superiores do EAST.

## **6. CONCLUSÃO**

As inclusões do EAST nas dietas experimentais não alteraram as respostas de crescimento e os parâmetros hematológicos das tilápias-do-Nilo. Entretanto, a utilização do EAST como suplemento, a 4% de inclusão, na alimentação de tilápias apresentou diferença significativa na atividade antioxidante no tecido muscular e na dieta experimental, contribuindo, assim, com a ampliação de estudos de produtos naturais no setor da produção animal.

## REFERÊNCIAS

- ABARIKE, E. D. *et al.* Influence of traditional Chinese medicine and Bacillus species (TCMBS) on growth, immune response and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 91, n. 2019, p. 417, 2019.
- ABDEL-TAWWAB, M. *et al.* Effects of dietary oak ( *Quercus aegilops* L .) acorn on growth performance , somatic indices , and hemato-biochemical responses of common carp, *Cyprinus carpio* L ., at different stocking densities. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 00, n. 00, p. 1–17, 2021.
- ACAR, U. *et al.* 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**, v. 437, p. 282–286, 2015.
- ACAR, Ü. Sarı Kantaron ( *Hypericum perforatum*) Yağının Sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarının büyüme performansı ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi. **Alinteri Zirai Bilimler Dergisi**, v. 33, n. 1, p. 21–27, 2018.
- ADENIYI, O. V. *et al.* Effects of dietary tamarind (*Tamarindus indica* L.) leaves extract on growth performance, nutrient utilization, gut physiology, and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **International Aquatic Research**, v. 13, n. 1, p. 37–51, 2021.
- AKIN-OBASOLA, B. J. Reproduction Control in *Coptodon zillii* using *Abrus precatorius* Root Bark Diets as Fertility Inhibitor Agent. **Annual Research & Review in Biology**, v. 36, n. 5, p. 100–106, 2021.
- ALEMAYEHU, T. A.; GEREMEW, A.; GETAHUN, A. The Role of Functional Feed Additives in Tilapia Nutrition. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 09, n. 02, 2018.
- AMIRKHANI, N.; FIROUZBAKHS, F. Protective effects of basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, v. 46, n. 3, p. 716–724, 2015.
- ANTINARELLI, L. M. R. *et al.* Antileishmanial activity of some Brazilian plants, with particular reference to *Casearia sylvestris*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 733–742, 2015.
- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. **Antioxidant activity of essential oils** **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 20 nov. 2013. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf403496k>>. Acesso em: 13 set. 2020.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of 478 analysis of AOAC International (19 th ed.), 2012.

ARAÚJO, M. R. L. DE *et al.* Toxicidade reprodutiva de *samanea tubulosa* em ratos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, n. 4, p. 342–349, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2021. **Anuário 2021 Peixe Br**, p. 71, 2021.

AYDIN, F.; HARMANTEPE, F. B. Effects of sage oil (*Salvia officinalis* L.) on haematological and growth parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Pakistan Journal of Zoology**, v. 50, n. 3, p. 921–928, 2018.

BABA, E. *et al.* Evaluation of Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture**, v. 465, p. 13–18, 2016.

BABA, E. *et al.* Dietary olive leaf (*Olea europaea* L.) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 79, p. 28–33, 2018.

BHARATI, S. *et al.* Functional feed additives used in fish feeds. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 7, n. 3, p. 44–52, 2019.

BERNARDI, D. M. *et al.*  $\omega$ -3 in meat products: Benefits and effects on lipid oxidative stability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 8, p. 2620–2634, 2016.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, 239, 70–76, 1996.

BILLER-TAKAHASHI, J. *et al.* Disease resistance of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed with  $\beta$ -glucan. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 3, p. 698–703, 2014.

BLAXHALL, P. C.; DAISLEY, K. W. Routine haematological methods for use with fish blood. **Journal of Fish Biology**, v. 5, n. 6, p. 771–781, 1973.

BOROSKY, M., Visentainer, J.V., Cottica, S.M., Morais, D.R. Antioxidantes: princípios e métodos analíticos. Curitiba, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BULFON, C.; VOLPATTI, D.; GALEOTTI, M. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. **Aquaculture Research**, v. 46, n. 3, p. 513–551, 2015.

CARBONE, D.; FAGGIO, C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus*

labrax. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 54, p. 172–178, 2016.

CARBONERA, F. *et al.* Antioxidant capacity in tilapia fillets enriched with extract of acerola fruit residue. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 7, p. 1237–1245, 2014.

CARBONERA, F. *et al.* Lipid Composition and Antioxidant Capacity Evaluation in Tilapia Fillets Supplemented with a Blend of Oils and Vitamin E. **JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 9, p. 1255–1264, 2016.

CAVALCANTE, R. B. *et al.* Probiotics, Prebiotics and Synbiotics for Nile tilapia: Growth performance and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. **Aquaculture Reports**, v. 17, n. April, p. 100343, 2020.

D. F., L. Chemical Analysis of Ginger Root. **IOSR Journal of Applied Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 47–49, 2012.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 454, p. 243–251, 2016.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 4, p. 345–358, 2009.

DOAN, H. VAN *et al.* Effects of elephant's foot (*Elephantopus scaber*) extract on growth performance, immune response, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 93, n. July, p. 328–335, 2019.

DOTTA, G. *et al.* Efeito da suplementação dietária com extratos de própolis e *Aloe barbadensis* sobre parâmetros hematológicos e parasitismo em tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 66–71, 2015.

EL-KASSAS, S. *et al.* Growth performance, serum lipid profile, intestinal morphometry, and growth and lipid indicator gene expression analysis of mono-sex Nile tilapia fed *Moringa oleifera* leaf powder. **Aquaculture Reports**, v. 18, n. June, p. 100422, 2020.

ELABD, H. *et al.* Dietary supplementation of *Moringa* leaf meal for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Effect on growth and stress indices. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 45, n. 3, p. 265–271, 2019.

ELBIALY, Z. I. *et al.* *Yucca schidigera* extract mediated the growth performance, hepato-renal function, antioxidative status and histopathological alterations in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to hypoxia stress. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 5, p. 1965–1976, 2021.

ELKARADAWY, A. *et al.* Synergistic effects of the soapbark tree, *Quillaja saponaria* and Vitamin E on water quality, growth performance, blood health, gills and intestine

histomorphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Aquaculture Reports**, v. 20, n. June, p. 100733, 2021.

ELUMALAI, P. *et al.* Herbal Immunomodulators in Aquaculture. **Reviews in Fisheries Science and Aquaculture**, v. 0, n. 0, p. 1–25, 2020.

FALOWO, A. B.; FAYEMI, P. O.; MUCHENJE, V. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. **Food Research International**, v. 64, p. 171–181, 2014.

FAZIO, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 500, p. 237–242, 2019.

FAZIO, F. *et al.* Effect of fortified feed with olive leaves extract on the haematological and biochemical parameters of *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–6, 2021.

FURUYA, W. M. *et al.* Nutrição de Tilápias no Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 1, p. 19–34, 2012.

GABRIEL, N. N. *et al.* Dietary Aloe vera supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 44, n. 2, p. 504–514, 2015.

GABRIEL, N. N. Review on the progress in the role of herbal extracts in tilapia culture. **Cogent Food & Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 1619651, 2019.

GALEANA-LÓPEZ, J. A. *et al.* Corn husk extracts as an antioxidant additive in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings: Effect on growth performance, feed intake and toxicity//Extractos de hoja de mazorca de maíz como aditivo antioxidante en dietas para juveniles de. **Biotecnia**, v. 22, n. 2, p. 147–154, 2020.

GIACHINI, R. M. *et al.* Influence of scarification and temperature on seed germination of *Samanea tubulosa* (Benth.) Barneby & J.W. Grimes (seven shells). **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 75–80, 2010.

GÖKMEN, V.; SERPEN, A.; FOGLIANO, V. Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the “QUENCHER” approach. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, n. 6–7, p. 278–288, 2009.

GOLDENFARB, P. B. *et al.* Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American journal of clinical pathology**, v. 56, n. 1, p. 35–39, 1971.

GÜLTEPE, N. *et al.* Effects of dietary tribulus terrestris extract supplementation on growth, feed utilization, hematological, immunological, and biochemical variables of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh**, v. 66, n. January, 2014.

HAJDU, Z.; HOHMANN, J. An ethnopharmacological survey of the traditional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Paraguá Indian Reservation, Bolivia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 3, p. 838–857, 2012.

HAMMAN, J. H. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1599–1616, 2008.

HASSONA, N. N. *et al.* Dietary supplementation of Tribulus terrestris extract improves growth and reproductive performances of the male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research**, v. 51, n. 10, p. 4245–4254, 2020.

HERNÁNDEZ-CONTRERAS, Á.; HERNÁNDEZ, M. D. **Application of aromatic plants and their extracts in aquaculture**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.

HOSEINIFAR, S. H. *et al.* Dietary apple peel-derived pectin improved growth performance, antioxidant enzymes and immune response in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). **Aquaculture**, v. 535, n. December 2020, p. 736311, 2021.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

JIMÉNEZ-RUÍZ, E. I. *et al.* Antioxidant properties of a tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet with the inclusion of avocado by-product. **Biotechnia**, v. 21, n. 3, p. 163–169, 2019.

KAREEM, Z. H. *et al.* Effects of some dietary crude plant extracts on the growth and gonadal maturity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and their resistance to *Streptococcus agalactiae* infection. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 2, p. 757–769, 2016.

KUMAR, Y. *et al.* Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 796–812, 2015.

LIMA, I.V. *et al.*, Potencial químico e biológico de *Samanea tubulosa*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32<sup>a</sup>, 2009, Fortaleza. **Anais**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2009.

MODANLOO, M. *et al.* The effects of single or combined administration of galactooligosaccharide and *Pediococcus acidilactici* on cutaneous mucus immune parameters, humoral immune responses and immune related genes expression in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 70, n. September, p. 391–397, 2017.

MOHAN, K. *et al.* Application of marine-derived polysaccharides as immunostimulants in aquaculture: A review of current knowledge and further perspectives. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 86, n. December 2018, p. 1177–1193, 2019.

MONIR, W. *et al.* Pomegranate peel and moringa-based diets enhanced biochemical



and immune parameters of Nile tilapia against bacterial infection by *Aeromonas hydrophila*. **Microbial Pathogenesis**, v. 145, n. January, p. 104202, 2020.

MORAIS, C. A. R. S. *et al.* Effect of slaughter weight on the quality of Nile tilapia fillets. **Aquaculture**, v. 520, n. May 2018, p. 734941, 2020.

MOTAMEDI-TEHRANI, J. *et al.* Liver alteration and hematological and serum biochemical responses of common carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, following long-term feeding of pistachio (*Pistacia vera*) green hull extract as a source of natural phenol. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 32, n. 5, p. 906–912, 2016.

MONTANHER, P. F. *et al.* Effects of diet supplementation with chia (*Salvia hispanica* L.) oil and natural antioxidant extract on the omega-3 content and antioxidant capacity of Nile tilapia fillets. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 5, p. 698–707, 2016.

NADERI FARSANI, M. *et al.* Dietary effects of *Coriandrum sativum* extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 91, n. May, p. 233–240, 2019.

NOGALA-KALUCKA, M. *et al.* Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, n. 2, p. 227–235, 2005.

NUGROHO, R. A. *et al.* Growth performance and blood profiles of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) fed leaves extract of *Myrmecodia tuberosa*. **Nusantara Bioscience**, v. 11, n. 1, p. 89–96, 2019.

OLIVEIRA, T. K. DE; LUZ, S. A. DA. Influência do Bordão-de-velho (*Samanea tubulosa* (Bentham) Barneby; Grimes) na Pastagem e no Solo em Sistema Silvopastoril no Acre. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, p. 28, 2012.

PARAY, B. A. *et al.* Effects of dietary oak (*Quercus castaneifolia*) leaf extract on growth, antioxidant, and immune characteristics and responses to crowding stress in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v. 524, n. March, p. 735276, 2020.

RANZANI-PAIVA, T. J. M. *et al.* Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá, **Editora UEM**, p. 13-135, 2013.

RE, R., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., ; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237, 1999.

ROSENFELD, G. **Corante pancromatico para hematología e citologia humana. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num so corante de emprego rapido Memorial Instituto Butantan, 1947.**

SADO, R. Y.; BICUDO, Á. J. D. A.; CYRINO, J. E. P. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on

hematological parameters and showed decreased feed consumption. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 39, n. 6, p. 821–826, 2008.

SALES, P. *et al.* Toxicidade reprodutiva do extrato hidroalcolico de *Samanea tubulosa* Benth em ratas wistar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 599–603, 1 out. 2015.

SAMARANAYAKA, A. G. P.; LI-CHAN, E. C. Y. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 4, p. 229–254, 2011.

SARY, C. *et al.* Effect of clove (*Eugenia caryophyllus*) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oils in Nile tilapia diets on performance, antioxidant power and lipid oxidation in fillets. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 2, p. 673–679, 2019.

SCIO, E. *et al.* Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Plant Extracts. **Phytochemicals as Nutraceuticals - Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health**, p. 65–80, 2012.

SERPEN, A.; GÖKMEN, V.; FOGLIANO, V. Total antioxidant capacities of raw and cooked meats. **Meat Science**, v. 90, n. 1, p. 60–65, 2012.

SHOURBELA, R. M. *et al.* Potentiality of *Moringa oleifera* aqueous extract as a growth modulator and antistress in acute hypoxic Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 19, n. 1, p. 67–84, 2020.

SILVA, A. A. DA; GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 994–1002, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry to total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. **American journal of enology and viniculture**, v. 16, n. 48, p. 144–58, 1965.

STRATEV, D. *et al.* Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. **Aquaculture International**, v. 26, n. 1, p. 289–308, 2018.

SUN, Z. *et al.* Effects of dietary *Senecio scandens* buch-ham extracts on growth performance, plasma biochemical, histology and the expression of immune-related genes in hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*♀). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 98, p. 681–690, 2020.

TACON, A. G. J. *et al.* The food and feeding of marine finfish in floating net cages at the National Seafarming Development Centre, Lampung, Indonesia: rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park). **Aquaculture Research**, v. 21, n. 4, p. 375–390, 1990.

TAVARES RANZANI-PAIVA, M. J. *et al.* Effects of an experimental challenge with *Mycobacterium marinum* on the blood parameters of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 6, p. 945–953, 2004.

VALENTIM, D. S. S. *et al.* Nanoemulsion from essential oil of *Pterodon emarginatus*

(Fabaceae) shows in vitro efficacy against monogeneans of *Colossoma macropomum* (Pisces: Serrasalmidae). **Journal of Fish Diseases**, v. 41, n. 3, p. 443–449, 2018.

VALENZUELA-GUTIÉRREZ, R. *et al.* Exploring the garlic (*Allium sativum*) properties for fish aquaculture. **Fish Physiology and Biochemistry**, p. 1179–1198, 2021.

VIEIRA, S. A.; ZHANG, G.; DECKER, E. A. Biological Implications of Lipid Oxidation Products. **JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 94, n. 3, p. 339–351, 2017.

WINTROBE, M.M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Hematologica*, v. 51, p. 32-49, 1934.

WOLFE, K. L.; LIU, R. H. Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8404–8411, 2008.

W. VYNCKE. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, n. 12, p. 1084–1087, 1970.