



Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação



Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical

Mestrado e Doutorado

UNIFAP / EMBRAPA-AP / IEPA / CI-Brasil

SIGELFRANN SOARES ALENCAR

Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-

pedra *Phyllanthus niruri* L.

MACAPÁ, AP

2017

SIGELFRANN SOARES ALENCAR

Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-pedra

Phyllanthus niruri L.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (PPGBIO) da Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Orientadora: Dra. Eliane Tie Oba Yoshioka

MACAPÁ, AP

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

615.321

A368r Alencar, Sigelfrann Soares.

Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-pedra *Phyllanthus niruri* L. / Sigelfrann Soares Alencar; orientador, Eliane Tie Oba Yoshioka. – Macapá, 2017.
51 f.

Dissertação (mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical.

1. Piscicultura. 2. Fitoterapia. 3. Hematologia comparada. I. Oba-Yoshioka, Eliane Tie, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

SIGELFRANN SOARES ALENCAR

Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-pedra

Phyllanthus niruri L.

Dra. Eliane Tie Oba Yoshioka

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Amapá

Dr. Caio Pinho Fernandes

Universidade Federal do Amapá (UNIFAP)

Dra. Marcela Nunes Videira

Universidade do Estado do Amapá (UEAP)

A minha família, por sempre me
incentivar.

As maiores inspirações de minha vida,
minha esposa Micaelle e meu filho
Elhoim.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não teria sido desenvolvido sem a imprescindível ajuda, colaboração e paciência, de minha orientadora Dra. Eliane Tie Oba Yoshioka, Obrigado!.

Agradeço a Universidade Federal do Amapá – UNIFAP e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical–PPGBio, por disponibilizar o curso de Mestrado em Biodiversidade;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Amapá) pelo apoio financeiro, estrutural e logístico na execução do experimento;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo auxílio financeiro no mestrado.

A toda equipe Laboratório de Nutrição de Animais Aquáticos (Embrapa Amapá), pela ajuda na execução do experimento;

Aos docentes do PPGBio, que colaboram com o conhecimento adquirido através das disciplinas cursadas;

A minha mãe Antoninha, por toda ajuda nesses anos de aprendizado, por acreditar em meus sonhos e de me incentivar a busca-los e suportar as dificuldades tendo-as como aprendizado, te amo mãe!

A minha esposa Micaelle e meu filho Elohim, sem vocês nada disso seria possível, em momentos de desânimo, um único pensamento e tudo se transformava. Amo vocês eternamente;

A minha vó Zefa, que tanta falta me faz meu rastro de amor nesse mundo, minha flor de coco que brilha no escuro;

A minha raiz nordestina, minha terrinha de sol a pino, Angical do Piauí – PI, pois sem meu nordeste não teria meus “pés rachados”.

A Mãe Iolte, por toda a ajuda nos momentos de dificuldades, Sarava filhos de Pemba.

PREFÁCIO

Esta dissertação possui um capítulo (artigo) em formato proposto pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (PPGBio). As normas para as referências seguem a padronização do periódico Ecology até a Introdução Geral. O artigo com título **“Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-pedra *Phyllanthus niruri* L.”** segue as normas do periódico, Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB, onde foi submetido.

RESUMO

Sigelfrann Soares Alencar. Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-pedra *Phyllanthus niruri* L.. Macapá, 2017. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Tropical) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Universidade Federal do Amapá.

Com a crescente busca por fontes saudáveis de alimento, o cultivo de peixes se torna mais intensivo e promissor. O uso de plantas como promotoras da saúde em peixes durante o cultivo vem crescendo em todo o mundo. Caracterizar a ação imunoestimulante de produtos naturais se tornar uma necessidade, sendo este um meio de diminuir o uso de produtos sintéticos no cultivo de animais em todo o mundo. No presente estudo avaliou-se a ação do *Phyllanthus niruri* como imunoestimulante em tambatinga, através de análises de desempenho zootécnico, hematológico e bioquímico, após 15 e 30 dias da suplementação da dieta contendo *P. niruri*, na forma de extrato aquoso e triturado encapsulado com alginato de sódio. Não houve mortalidade dos peixes durante todo o período experimental. O uso de *P. niruri* seco e triturado na dieta não apresentou ação imunológica significativa, entretanto, o uso de seu extrato aquoso proporcionou ganho de peso dos animais após 30 dias. Sendo assim, o uso o extrato aquoso pode ser recomendado. Pelos resultados obtidos, a forma como a planta é oferecida aos animais pode influenciar em sua ação, permitindo o aumento ou a redução de sua eficácia. A avaliação de outras dosagens, formas de inclusão do *P. niruri* na dieta dos peixes, além da aplicação de formas de estresse sobre os peixes, se faz necessária para se permitir a definição da ação imunoestimulante em peixes durante seu cultivo.

Palavras chaves: nutrição, fitoterapia, hematologia, bioquímica, *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*.

ABSTRACT

Sigelfrann Soares Alencar. Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-pedra *Phyllanthus niruri* L.. Macapá, 2017. Dissertação (Mestre em Biodiversidade Tropical) – Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - Universidade Federal do Amapá.

With the increasing search for sources of healthy food, fish farming is becoming more intensive and is showing promise. Use of plants as fish health promoters during farming has been growing worldwide. Characterization of the immunostimulant action of natural products is becoming a necessity, since this is a means for diminishing the use of synthetic products in animal farming around the world. In the present study, the action of *Phyllanthus niruri* as an immunostimulant in tambatinga was evaluated by means of analyses on zootechnical, hematological and biochemical analyses, after 15 and 30 days of dietary supplementation with *P. niruri*, in aqueous extract form and as the ground-up material encapsulated in sodium alginate. There was no mortality among the fish over the entire course of the experiment. Use of dry ground *P. niruri* in the diet did not present any significant immunological action, but use of the aqueous extract give rise to weight gains among the fish after 30 days. Thus, use of the aqueous extract can be recommended. From the results obtained, the form in which the plant was offered to the fish may influence its action, thereby increasing or decreasing its efficacy. Evaluation of other doses and forms of inclusion of *P. niruri* in the diet of the fish, along with the forms of stress applied to the fish, becomes necessary in order to make it possible to define its immunostimulant action on fish during farming.

ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Exemplar de tambatinga (<i>C. macropomum</i> x <i>P. brachypomus</i>).....	15
Figura 02 - <i>Phyllanthus niruri</i>	19

ABREVIATURAS E SIGLAS

Amônia (NH₃)

Atividade Respiratória dos Leucócitos (ARL)

Biomassa final (BF)

Comprimento final (Cf)

Comprimento inicial (Ci)

Concentração de Hemoglobina (Hb)

Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)

Condutividade Elétrica (C.E.)

Contagem de Eritrócitos (Eri)

Conversão Alimentar Aparente (CAA)

Ganho de peso (GP)

Hematócrito (Ht)

Hemoglobina Corpuscular Média (HCM)

Oxigênio Dissolvido (OD)

Peso final (Pf)

Peso inicial (Pi)

Potencial hidrogeniônico (pH)

Sólidos Totais Dissolvidos (TDS)

Taxa De Sobrevivência (TS)

Volume Corpuscular Médio (VCM)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Tambatinga (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachypomus</i>).....	14
1.2 Imunoestimulantes naturais e sua importância na piscicultura.....	15
1.3 Hematologia.....	16
1.4 <i>Phyllanthus niruri</i> (quebra-pedra).....	17
1.5 Ação de extratos naturais e peixes.....	19
2. HIPÓTESES.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Geral.....	22
3.2 Específicos.....	22
4. REFERÊNCIAS.....	23
5. ARTIGO.....	30
6. CONCLUSÕES.....	50

1. INTRODUÇÃO

O aumento da oferta mundial de peixe para consumo humano excedeu o crescimento da população nos últimos 50 anos, com taxa anual média 3,2% no período entre 1961-2013. O consumo per capita passou de 9,9 kg em 1960 para 19,5 kg em 2013, representando a fonte de proteínas para 17% da população mundial (Brabo et al. 2016, FAO 2016).

Nas últimas duas décadas a Ásia representou 89% da produção aquícola mundial, neste mesmo período houve um aumento na produção das Américas e África. Em 2014 foram cultivadas 580 espécies de peixes em todo o mundo, sendo 362 espécies de peixes ósseos (incluindo híbridos), 104 moluscos, crustáceos 62, 6 rãs e répteis, 9 invertebrados aquáticos e 37 plantas aquáticas (FAO 2016)

No Brasil, a piscicultura se deu na década de 80, com investimento na produção de alevinos, predomínio de espécies nativas como pacu, tambaqui e seus híbridos (Sado 2008). Devido a sua geografia, recursos hídricos e riqueza de espécies de peixes, sendo aptas à piscicultura comercial, o Brasil se inserem no contexto mundial com grande potencial para esse fim (Borghetti e Ostrensky 2002, Crescêncio 2005, Sado 2008). Na América do Sul, o Brasil é segundo maior produtor aquícola apresenta resultados superiores, se comparados com a pesca extrativista, produção de aves, suínos e bovinos, que atingem crescimento de até 5% por ano (Boscardin 2008). A piscicultura brasileira é representada em 43% pelas tilápias, 23% pelo tambaqui e 14% pelo tambacu e tambatinga (SEBRAE 2015).

A produção piscícola brasileira em 2013 foi de 474.329 mil toneladas, a região Norte representou 29,33% desta produção e o estado do Amapá representou 0,3% da produção estadual (IBGE 2014). Em 2015, a produção foi de 483 mil toneladas de pescado, sendo os principais estados produtores: Rondônia (17,4%), Paraná (14,3%) e Mato Grosso (9,8%). A produção de híbridos, como tambacu e tambatinga, representou 7,7% da produção brasileira (IBGE 2015, FAO 2016).

1.1 Tambatinga (*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*)

A produção em cativeiro de peixes redondos incluindo híbridos tem crescido expressivamente no Brasil nos últimos anos, igualando à produção de tilápia (Filho, Rodrigues e Rezende 2016).

A domesticação e a hibridação de peixes nativos reduzem a pressão de captura e possibilitam melhorias nos peixes. Técnicas como a de indução hormonal possibilitaram um crescimento na piscicultura de peixes nativos como pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), a hibridação possibilita encontrar espécies com características fenotípicas superiores às encontradas nos seus parentais. No Brasil um dos primeiros híbridos foi o tambacu, resultante do cruzamento da fêmea do tambaqui (*Colossoma macropomum*) com o macho do pacu (*P. mesopotamicus*) (Hilsdorf e Orfão 2011).

O tambaqui é uma das espécies de grande importância econômica, possui um rápido crescimento, resistência a altas temperaturas, manejo, doenças e hipóxia, com habito alimentar onívoro. A pirapitinga é a única do gênero *Piaractus* a ser encontrada na bacia Amazônica, está entre os três maiores peixes amazônicos, possui características semelhantes ao tambaqui, entretanto, apresenta menor dimensão da cabeça, boa eficiência alimentar, um crescimento rápido e acelerado (Gomes 2009).

Na busca por melhores espécies para o cultivo nas pisciculturas, surgiu a tambatinga do cruzamento da fêmea *C. macropomum* x *P. brachypomus* macho, que possui crescimento e produtividade superior aos seus parentais, atingindo peso comercial em um período mais curto (Gomes 2009, Silva et al. 2013).



Fonte: arquivo pessoal

Figura 01. Exemplar de tambatinga.

O híbrido tambatinga chama a atenção das indústrias, devido ao rendimento corporal e ter cabeça menor, se comparado a seus parentais (Hashimoto et al. 2012). Possui uma coloração clara, com nadadeira caudal e anal avermelhadas, com hábito alimentar onívoro, alcançando 80 cm e chegando a mais de 15 kg (Cruz et al. 2006, Araripe 2009). É considerado o maior híbrido de peixes redondos, a produção brasileira desse peixe em 2010 foi 4.915,6 mil toneladas, maior 28,5% do que em 2008 (Hashimoto et al. 2012, Silva et al. 2013). A produção de híbridos (tambacu e tambatinga) em 2014 chegou a 40 mil toneladas (Filho, Rodrigues e Rezende 2016).

1.2 Imunoestimulantes naturais e sua importância na piscicultura

É crescente o uso alternativo da fitoterapia, na substituição de antibióticos e de produtos químicos na aquicultura (Tavechio et al. 2009). O uso de antibióticos em animais está em restrição em todo o mundo, por promover a resistência bacteriana (Furlan et al. 2004). Estima-se que os extratos vegetais propiciem uma resistência mais lenta, podem ser direcionados a um determinado organismo específico e diminuir a emissão de resíduos no ambiente (Chagas 2004, Tavechio et al. 2009).

Avanços na nutrição e sanidade dos peixes propiciam sucesso financeiro na aquicultura, que pode ser afetado, principalmente por doenças oportunistas, estresse, deficiência dos sistemas imunológico e fisiológico dos animais, portanto, a estimulação desse sistema de defesa é uma alternativa eficaz e necessária (Dügenci et al. 2003, Tavechio et al. 2009, Santos et al. 2009).

O uso de imunoestimulantes na alimentação pode contribuir também na melhora do desempenho animal (Santos et al. 2009). O uso de extratos de plantas para promoção da saúde é utilizado desde os primórdios da humanidade, evoluindo com o isolamento e caracterização dos princípios ativos (Costa et al. 2007, Santos et al. 2009).

A estimulação da digestão, alterações na microbiota intestinal, aumento na digestibilidade, absorção de nutrientes, ação antimicrobiana e imunomodulação, são possíveis campos de ação dos extratos vegetais (Mellor 2000, Botsoglou et al. 2002, Santos et al. 2009). Utilizam-se hoje microrganismos, extratos de plantas e fatores nutricionais, para estimular o aumento de células fagocitárias, produção de lisossomos e anticorpos, redutores de estresses (Chitmanat, 2002, Tavechio et al. 2009).

Os usos de imunostimulantes nas fases iniciais do cultivo beneficiam a produção dos peixes. Esse conhecimento pode auxiliar na redução de custo, propiciando o crescimento e competitividade da aquicultura nacional (Tavechio et al. 2009). Os efeitos observados em estudos com o uso de imunostimulantes naturais justificam esse tipo de pesquisa, porém carecendo ainda de informações sobre mecanismo de ação, melhores dosagens, eficácia e segurança, para o uso desses extratos na produção animal (Brugalli 2003, Hernández et al. 2004).

1. 3 Hematologia

Análises hematológicas são uma importante ferramenta para o diagnóstico de deficiências em peixes, permitindo detecção de anemias, processos infecciosos e desequilíbrios homeostáticos (Mahoney e McNulty 1992, Modrá et al. 1998). As características hematológicas em peixes saudáveis são bem diversificadas, considerando sua variação, devido a fatores internos e ambientais (Ranzani-Paiva 2005), sendo necessárias para caracterizar o perfil fisiológico dos peixes, auxiliando na criação com informações sobre a sanidade do animal, permitindo avaliações como a capacidade respiratória dos peixes através do eritrograma e sistema imune através de análises quantitativas e qualitativas dos leucócitos (Santos e Tavares- Dias 2010, Ranzani-Paiva et al. 1999).

As células mais numerosas do sangue são os eritrócitos, que apresentam a função de transportar o oxigênio e gás carbônico, sendo seu componente principal a hemoglobina. Quando maduros variam de ovais a elipsoidais, apresentando núcleo central, representando um quarto do volume celular (Tavares-Dias e Moraes 2004, Silva, Lima e Blanco 2012).

Trombócitos são células nucleadas, elípticas, com núcleo fusiforme e hipercoradas, responsáveis pela defesa do organismo em espécies dulcícolas, apresentam estruturas vesiculares e microtubulares em seu citoplasma, participam da coagulação sanguínea e atividade fagocitária (hemostática e homeostática) (Tavares-Dias et al. 2000, Silva, Lima e Blanco 2012).

Os leucócitos são observados em extensões sanguíneas, formados em geral, por linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos. Sua variação é resultante de fatores que afetam a sanidade do peixe. São células de defesa que utilizam vias

sanguíneas em sua ação imunológica, sua morfologia nas diferentes linhas celulares permite sua diferenciação (Jakowska 1959, Silva, Lima e Blanco 2012).

Linfócitos são células arredondas, sem granulação, podendo apresentar projeções plasmáticas e tamanhos diferentes. Os neutrófilos são arredondados com núcleo em forma de bastão, apresentam peroxidase que atua no processo de fagocitose, são atraídos por quimiotoxinas para as áreas inflamadas. Os monócitos apresentam polimorfismo, atuando na ação inflamatória e imunológica onde ocorre fagocitose, apresentam atividade citotóxica não-específica. Os eosinófilos, em sua maioria pequenos, com citoplasma abundante apresentando grânulos grosseiros, com núcleo arredondado, podem ser ausentes no sangue periférico dos peixes teleósteos. Os basófilos são redondos com contorno irregular, nos peixes sua função não é bem esclarecida, devido à histamina presente nessas células supõe-se que está ligado a processos alérgicos (Silva, Lima e Blanco 2012).

Pode-se obter informações sobre possíveis efeitos de aditivos vegetais pela variação dos eritrócitos e leucócitos, esses parâmetros refletem o estado fisiológico ou patológico do animal (Ranzani-Paiva e Silva-Souza 2004, Sado 2008).

1.4 *Phyllanthus niruri* (quebra-pedra)

O gênero *Phyllanthus* contém mais de 600 espécies entre arbustos, árvores e ervas. A espécie *Phyllanthus niruri*, conhecida popularmente como “quebra-pedra”, tem grandes benefícios como erva medicinal (Singh, Pal and Pal 2016, Muthulakshmi, Subramani and Michael 2016, Leão et al. 2017), sendo os metabólitos secundários a fonte de todo potencial terapêutico em plantas (Newman e Cragg 2007, Brandão et al. 2010).

O *P. niruri* é nativo de regiões tropicais de todo o mundo, planta herbácea atingindo entre 10-50 cm de altura, apresentando caule fino, reto e ramoso e folhas ovais atingindo entre 0,5-1,4 cm de comprimento (Bagalkotkar et al. 2006, Embrapa 2006, Samali et al. 2012).



Figura 02. *Phyllanthus niruri*. No detalhe, note a disposição de folhas, flores e frutos.

Das folhas, caule e raiz de *P. niruri* foram isolados metabolitos secundários que incluem, compostos como as ligninas, taninos hidrolisáveis, flavonoides, alcaloides, neo ligninas, polifenóis, polissacarídeos, lactama, ácido graxo (Ahmad et al. 1981, Singh et al. 1989, Hassarajani e Mulchandani, 1990, Calixto et al. 1998, Quin-Cutrone et al 1996, Wei e Pan 2002, Subeki et al 2005, Mellinger 2005, Zhou et al. 2012).

A infusão de partes do *Phyllanthus niruri* e outras espécies do gênero *Phyllanthus*, tem seu uso difundido, pela medicina popular e estudos científicos, no tratamento de várias doenças principalmente ligadas ao rim, bexiga, fígado, como agente antiinflamatório, antilipêmico, antidiabética, antimalárico e atividade anti-retroviral (Venkateswaran et al. 1987, Shimizu et al. 1989, Santos et al. 1995, Khanna et al. 2002, Cimanga et al. 2004, Barros et al.2006, Manjrekar et al. 2008, Moreira et al. 2013).

O extrato aquoso de *P. niruri* inibiu a internalização de cálculos pelas células renais, reduzindo sua agregação e crescimento (Freitas et al. 2002, Nishiura et al. 2005, Barros et al. 2005, Micali et al. 2006). *In vitro* demonstraram ação contra o vírus da hepatite B e ação hepatoprotetora (Venkateswaran et al. 1987, Ott et al. 1995, Manjrekar et al. 2008).

O extrato hidroetanólico de *P. niruri*, em uma dose de 30 mg/kg, via peritoneal, mostrou ação antinociceptiva (Santos et al. 1995) e a administração de 250 mg/kg proporcionou redução lipídica e inibição da biossíntese de colesterol, aumentando a excreção biliar e a enzima colesterol acetiltransferase em ratos

(Khanna et al. 2002). Uma concentração de 16,3 µg/kg do extrato de *P. niruri* foi observada sua ação antimalárica (Cimanga et al. 2004).

Muthulakshmi, Subramani e Michael (2016) observaram aumento na ativação dos neutrófilos, administrando 20 mg/kg de peso corporal do extrato aquoso das folhas de *P. niruri* em *Oreochromis mossambicus*. Em tambaqui, suplementando a alimentação com *P. niruri* seco e moído, nas proporções de 30, 45, 60 e 75 g/kg de ração (extrusada 35%PB), durante 45 dias, Silva et al. (2012) não observaram aumento no peso final dos animais. Ainda não foram realizados estudos sobre a ação imunoestimulante de *P. niruri* em híbridos tambatinga.

1.5 Ação de extratos naturais em peixes

O triturado fresco de *Allium sativum*, numa proporção de 0,5 a 1,5 g para 100 g de ração por 14 dias, reduziu a mortalidade em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), após infecção por *Aeromonas hydrophila*, além de aumentar o número de eritrócitos, hematócrito, lisozima, atividade respiratória dos leucócitos e atividade fagocítica (Nya e Austin, 2009a). O extrato aquoso de visgo branco (*Viscum album*), urtiga (*Urtica dioica*) e gengibre (*Zingiber officinale*) a 1,0% por 3 semanas em truta arco-íris, aumentou a resposta imune não específica e promoveu melhora nas condições contra infecções (Dügenci et al. 2003).

Na adição de 1,0 a 5,0 g de triturado fresco de *Mentha piperita* por kg de ração, na dieta de *Lates calcarifer* por 14 dias, houve um aumento do crescimento, do número de eritrócitos e leucócitos, da concentração de hemoglobina, hematócrito, lisozima, atividade respiratória dos leucócitos e atividade fagocítica (Talpur, 2014).

Verma, Kumarie e Singh (2013) reduziram a mortalidade de alevinos de carpa comum (*Cyprinus carpio* L.) em 35%, acrescentando 0,5% do pó seco de *Azadirachta indica* em sua dieta. John et al. (2007) utilizando uma dieta contendo 3% da mistura de alho e cominho negro para tilápias por 90 dias, promoveu o aumento da resistência à infecção por *Pseudomonas spp.* O extrato aquoso de folhas de amendoeira (*Terminalia catappa*) reduziu a infecção por fungos nos ovos de tilápias em concentração de 200 ppm, e em uma concentração de 800 ppm, eliminaram *Trichodina spp.* de juvenis de tilápias do Nilo após 2 dias de tratamento (Chitmanat et al. 2005a). O uso de derivados de vegetais na promoção da sanidade animal em pisciculturas vem crescendo nos últimos anos.

2 HIPÓTESES

- Os perfis hematológicos e bioquímicos dos híbridos tambatingas alimentados com extrato aquoso de *P. niruri* mostram sua ação imunoestimulante.
- Oferecendo o *P. niruri* seco e triturado, a resposta hematológica e bioquímica em tambatingas mostra ação imunoestimulante.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar o potencial imunoestimulante do *P. niruri*, incorporado na dieta de tambatingas.

3.2 ESPECÍFICOS

Comparar a ação fisiológica do extrato aquoso e o triturado de *P. niruri* encapsulados com alginato de sódio na alimentação das tambatingas;

Avaliar as respostas fisiológicas do híbrido tambatinga após alimentação com o extrato aquoso e o triturado de *P. niruri*;

Avaliar se o triturado seco e o extrato aquoso de *P. niruri* tem ação imunoestimulante em nos híbridos tambatingas;

4 REFERÊNCIAS

- Ahmad M .U., S. K. Husain, S. M. Osman. 1981. Ricinoleic acid in *Phyllanthus niruri* seed oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 58:673-674.
- Araripe, M. N. B. A. 2009. Redução da proteína bruta e relações metionina+cistina e treonina digestíveis com a lisina digestível em rações para alevinos de tambatinga [Tese]. Universidade Federal do Piauí.
- Bagalkotkar, G., S. R. Sagineedu, M. S. Saad end J. Stanslas. 2006. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and their pharmacological properties: a review. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 58:1559-1570.
- Barros, M. E., N. Schor, A. M. Boim. 2003. Effects of an aqueous extract from *Phyllanthus niruri* on calcium oxalate crystallization in vitro. Urological Research, 30: 374-9.
- Barros, M. E., R. Lima, L. P., Mercuri, J. R., Matos, N., Schor, e M. A., Boim. 2006. Effect of extract of *Phyllanthus niruri* on crystal deposition in experimental urolithiasis. Urological Research, 34: 351.
- Borghetti, J. R., e A., Ostrensky. 2002. Problemas e perspectivas para a pesca e para a aqüicultura continental no Brasil. 451-471 in Rebouças, A.C.; Braga, B.; Tundisi, J.G. Águas doces no Brasil. Escrituras, São Paulo, São Paulo, BR.
- Boscardin, N. R. A. 2008. Produção Aqüícola Brasileira. 17-27 In: Rebouças, A. C., Braga, B., Tundisi, J. G. Águas doces no Brasil. Escrituras, São Paulo, São Paulo, BR.
- Botsoglou, N.A., P., Florou-Paneri, E., Christaki, D. J., Fletouris D. J., E A. B., Spais. 2002. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. British Poultry Science, 43: 223-230.
- Brabo, M. F.; L. F S. Pereira, J. V. M. Santana, D. A. V. Campelo e G. C. Veras. 2016. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aqüicultura. Acta of Fisheries and Aquatic Resources, 4: 50-58
- Brandão, H. N., J. P. David, R. D. Couto, J. A. P. Nascimento, J. M. David. 2010. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. Química Nova 33: 1359-1369.
- Calixto, J. B., A. R. S. Santos, V. Cechinel Filho end R. A. Yunes. 1998 A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. Medicinal Research Reviews 18:225-258.
- Chagas, A. C. S. 2004. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 13: 156-160
- Chitmanat, C. 2002. Fish Immunostimulants. Journal Science and Technology, 24: 739-747.

- Chitmanat, C., K., Tongdonmuan, P., Khanom, P., Pachontis e W., Nunsong. 2005a. Antiparasitic, antibacterial, and antifungal activities derived from a *Terminalia catappa* Linn solution against some tilapia (*Oreochromis niloticus*) pathogens. *Acta Horticulturae*, 678: 179-182.
- Cimanga, R. K., L., Tona, N., Luyindula, K, Mesia, M., Lusakibanza, C. T., Musuamba, S., Apers, T., De Bruyne, S., Van Miert, N., Herman, J., Totté, L., Pieters, e A. J., Vlietinck. 2004. In vitro antiplasmodial activity of callus culture extracts and fractions from fresh apical stems of *Phyllanthus niruri* L. (*Euphorbiaceae*): part 2. *Journal of Ethnopharmacolog*, 95:399-404.
- Costa, L. B., M. L. P., Tse, e V. S., Miyada. 2007. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36: 589-595.
- Crescêncio, R. 2005. Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação. 23-36 in Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria, Rio Grande do Sul, BR.
- Cruz, A. G., A. E. E. F., Melo, C. B., Sobreira, M.D., Mazeto e L. K., Naoe. 2006. Densidade x biomassa: piscicultura. *Seagro Boletim Técnico*, Tocantins, BR.
- Dügenci, S. K., N., Ardab, e A., Candana. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, Leiden, 88: 99-106.
- Filho, M. X. P., Rodrigues, A. P. O. e Rezende, F. P. Dinâmica da produção de tambaqui e demais peixes redondos no Brasil. *Ativos da Aquicultura (CNA – Brasi)*, ano 2, Ed. 7 – Janeiro, 2016.
- Freitas, A. M., N., Schor, M. A., Boim. 2002. The effect of *Phyllanthus niruri* on urinary inhibitors of calcium oxalate crystallization and other factors associated with renal stone formation. *BJU International* 89: 829-34.
- Furlan, R. L., M., Macari, e B. C., Luquetti. 2004. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In 5º Simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição. Balneário Camboriú, Santa Catarina, BR.
- Gomes, P. F. 2009. Desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*), de pirapitinga (*Piaractus brachypomus*), e do híbrido tambatinga (*C. macropomum* x *P. brachypomus*) mantidos em viveiros fertilizados, na fase de engorda. [Dissertação]. Universidade Federal de Goiás.
- Hashimoto D. T., J. A., Senhorini, F., Foresti e F., Porto-Foresti. 2012. Interspecific fish hybrids. *Reviews in Aquaculture* 4: 108-118.
- Hassarajani, S. A. end N. B Mulchandani. 1990. Securinine type of alkaloids from *Phyllanthus niruri*. *Indian Journal of Chemistry Section B - Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* 29: 801-803.

- Hernández, F. J., Madrid, V., Garcia, J., Orengo, e M. D., Megías. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry Science* 83:169- 174.
- Hilsdorf, A. W. S. e Orfão, L. H. 2011. Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40: 317-324.
- IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2013-2014. Disponível em; IBGE: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2014/default_ods.shtm. Acessado em 15/01/2017.
- Instituto Brasileiro Do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA: Estatística da Pesca 2006 Brasil: grandes regiões e unidades de federação. Brasília: IBAMA, 2008. 174.
- Jakowska, S. 1959. Alguns problemas em hematologia comparada. *Revista Biologia Tropical* 2: 143-155.
- John, G., S., Mesalhy, M., Rezk, G., El- Naggar, e M., Fathi. 2007. Effect of some immunostimulants as feed additives on the survival and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and their response to artificial infection. *Journal Aquatic Biology & Fishery* 11: 1299-1308.
- Kamel, C. A. 2000. Novel look at a classic approach of plant extracts. *Feed Mix* 18:19-24.
- Khanna, A. K., F., Rizvi, e R., Chander. 2002. Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 82: 19-22.
- Khatoon, S., V. Rai, A. K. S. Rawat, S. Mehrotra. 2006. Comparative pharmacognostic studies of three *Phyllanthus* species. *Journal of Ethnopharmacology* 104: 79-86.
- Leão, M., F. M., Güez, C. M., Duarte, J. A., Schmitt, E. G. Quintana, L. D., Zambrano, L. A. B., Rocha, M. B., Zuravski, L., Oliveira, L. F. S., Mach, M., M. 2017. Avaliação dos efeitos anti-genotóxicos de *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae) em leucócitos humanos expostos a agente agressor. *Saúde (Santa Maria)*, v.43, p: 1-7.
- Mahoney, J. B. E McNulty, J. K. 1992 Disease-associated blood changes and normal seasonal hematological variation in winter flounder in the Hudson-Raritan estuary. *Transactions of the American Fisheries Society*, Grosvenor Lane 121: 261-268.
- Manjrekar, A. P., V. Jisha, P. P. Bag, B. Adhikary, M. M. Pai, A. Hegde, M. Nandini. 2008. Effect of *Phyllanthus niruri* Linn. Treatment on liver, kidney and testes in CCl4 induced hepatotoxic rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 46:514-20.
- Manjrekar, A. P., V., Jisha, P. P., Bag, B., Adhikary, M. M., Pai, A., Hegde, e M., Nandini. 2008. Effect of *Phyllanthus niruri* Linn. treatment on liver, kidney and

- testes in CCl₄ induced hepatotoxic rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 46: 514-20.
- Mellinger, C. G., E. R. Carbonero, T. R. Cipriani, P. A. J. Gorin end M. Iacomini. 2005. Xylans from the medicinal herb *Phyllanthus niruri*. *Journal of Natural Products* 68: 129-132.
- Mellor, S. 2000. Herbs and spices promote health and growth. *Pig Progress* p:16.
- Micali, S., M. Grande, M. C. Sighinolfi, C. De Carne, S. De Stefani, G. Bianchi. 2006. Medical therapy of urolithiasis. *Journal of Endourology* 20:841-7.
- Modra, H., Z. Svobodova e Kolarova, J. 1998. Comparison of Differential Leukocyte Counts in Fish of Economic and Indicator Importance. *Acta Veterinaria* 67:215-226.
- Moreira, J., J. Klein-Júnior, V. Chechinel Filho, F. C. BuzzI. 2013. Antihyperalgesic activity of corilagin, a tannin isolated from *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 146:318–323.
- Muthulakshmi, P. M., Subramani, P. A., and Michael, R. D. 2016. Immunostimulatory effect of the aqueous leaf extract of *Phyllanthus niruri* on the specific and nonspecific immune responses of *Oreochromis mossambicus*. *Iranian Journal of Veterinary Research*, v. 17, p: 200-203.
- Nascimento J.E., Lacerda E.U., Nascimento V.T., Melo J.G., Alves B. S., Silva L.G.M. E, Ramos M.A., Lima C.S. A., Albuquerque U.P., Amorim E.L.C. 2008. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*,. 29.
- Newman, M. B., G. M. Cragg. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, 70: 461-477.
- Nishiura, J., A. Campos, M. Boim, I. Heilber, N. Schor. 2004. *Phyllanthus niruri* normalizes elevated urinary calcium levels in calcium stone forming (CSF) patients. *Urological Research* 32: 362-366.
- Nya, J., B., Austin. 2009a. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 32:963–970.
- Ott, M., S. P. Thyagarajan, S. Gupta. 1995. Regulation of hepatitis-b virus enhancer activity by *Phyllanthus niruri* is involved in its antiviral effects. *Gastroenterology* 108: 908-15.
- Pavanelli, G. C., J. C., Eiras, e R. M., Takemoto. 2002. Doenças de peixes: profilaxia, manejo e tratamento. EDUEM, Maringá, Paraná, BR.
- Qian-Cutrone, J.; S. Huang, J. Trimble, H. Li, P. F. Lin, M. Alam, P. F. Klohr end P. F. Kadow. 1996. Niruriside, a new HIV REV/RRE binding inhibitor from *Phyllanthus amarus*. *Journal of Natural Products* 59: 196-9.

- Ranzani-Paiva, M. J. T. 2015. Técnicas hematológicas e pesquisa de hematologia. In: Apostila curso hematologia aplicada à piscicultura, CAUNESP – UNESP, 12p.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., e A. T., Silva-Souza. 2004. Hematologia de peixes brasileiros. 89-120, In Ranzani-Paiva, M. J. T., R. S., Takemoto, e M. A. P., Lizama, Sanidade de organismos aquáticos. Editora Varela, São Paulo, São Paulo, BR.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., F. A. Salles, J. C. Eiras, A. C. Eiras¹, C. M. Ishikawa¹ e A. C. Alexandrino. 1999. Análises Hematológicas de Curimbatá (*Prochilodus scrofa*), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e Tambaqui (*Colossoma Macropomum*) das estações de piscicultura do Instituto de Pesca, Estado de São Paulo. Boletim do Instituto de Pesca, 25: 77 – 83.
- Ribeiro S. C., A. S. Castelo, B. M. P. Silva, A. S. Cunha, A. A. Proietti Júnior, E. T. Oba-Yoshioka. 2016. Hematological responses of tambaqui *Colossoma macropomum* (*Serrassalmidae*) fed with diets supplemented with essential oil from *Mentha piperita* (*Lamiaceae*) and challenged with *Aeromonas hydrophila*. Acta Amazônica 46: 99 – 106.
- Sado R. Y. 2008. Imunoestimulantes dietéticos e respostas biológicas, bioquímicas e hematológicas de juvenis de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). [Tese]. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- Santos, A. R., V. Cechinel Filho, R. A. Yunes, J. B. Calixto. 1995. Analysis of the mechanisms underlying the antinociceptive effect of the extracts of plants from the genus *Phyllanthus*. General Pharmacology 26:1499-1506.
- Santos, A.R. V., Cechinel Filho, R. A., Yunes, e J. B., Calixto. 1995. Analysis of the mechanisms underlying the antinociceptive effect of the extracts of plants from the genus *Phyllanthus*. General Pharmacology 26: 1499-1506.
- Santos, E. L., M. Ludke e M. Lima. 2009. Extratos vegetais como aditivos em rações para peixes. Revista Eletrônica Nutritime 6:789-800.
- Santos, R. B. S. e M. Tavares-Dias. 2010. Células sanguíneas e resposta hematológica de *Oxydoras Niger* (*Pisces Doradidae*) oriundos da Bacia do Médio Rio Solimões, Estado Do Amazonas (Brasil), naturalmente parasitados. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 36: 283-292.
- Schreck, C.B. e P. B., Moyle. 1990. Methods for fish biology. Bethesda: American Fisheries Society, 632 p.
- SEBRAE. Aquicultura no Brasil: Série Estudos Mercadológicos. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE. Unidade de Acesso a Mercados e Serviços Financeiros, Brasília, 2015.
- Shimizu., M. S., Horie, S., Terashima, H., Ueno, T., Hayashi, M., Arisawa, S., Suzuki, M., Yoshizaki, e N., Morita. 1989. Studies on aldose reductase inhibitors from natural products. II. Active components of a Paraguayan crude drug "Para-parai mi," *Phyllanthus amarus*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 37: 2531.

- Silva, A. S. E, J. T. A. X. Lima e B. S. Blanco. 2012. Hematologia em Peixes. Revista Centauro 3: 24 – 32.
- Silva, R.S.; Almeida, F.O; Prates, G.V.S.; Carvalho, G.B.; Ferraz, D. 2013. Análise do sabor de tambatinga cultivado em diferentes sistemas de cultivo na região da Transamazônica – Pará. 2013. Revista Agrotecnologia 4: 74-81.
- Singh, B., P. K. Agrawal and R. Thakur. 1989. A new lignan and a new neolignan from *Phyllanthus niruri*. Journal of Natural Products 5:48-51.
- Singh, R. P., Pal, A. and Pal, K. 2016. Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extract of *Phyllanthus niruri* –Invitro. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 5, Ed. 6.DOI: 10.20959/wjpps20166-7030.
- Subeki S1, H. Matsuura, K. Takahashi, M. Yamasaki, O. Yamato, Y. Maede, K. Katakura, S. Kobayashi, T. Trimurningsih, C. Chairul end T. Yoshihara. 2005. Anti-babesial and anti-plasmodial compounds from *Phyllanthus niruri*. Journal of Natural Products 68:537-9.
- Talpur, A. D. 2014 .*Mentha piperita* (peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immuneresponse and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture 420:71-78.
- Tavares-Dias, M. E Moraes, F.R. 2006. Hematological parameters for the *Brycon orbignyanus Valenciennes, 1850 (Osteichthyes, Characidae)* intensively bred. Hidrobiológica, Mexico, 16: 271-274
- Tavares-Dias, M., C. M. D., Frascá-Scorvo; P. F. C., Novato, F. R., Moraes. 2000. Hematological characteristics of hybrid Florida red tilapia, *Oreochromis urolepis hornorun x O. mossambicus* under intensive rearing. 533-541 in International Symposium On Tilapia Aquaculture. Rio de Janeiro, BR.
- Tavechio, W. L. G., G. Guidelli, e L. Portz. 2009. Alternativas para a Prevenção e o Controle de Patógenos em Piscicultura. B. Inst. Pesca 35:335-341.
- Urbinati, E. C., e P. C. F., Carneiro. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. 171-193. In: Cyrino, J. E. P., Urbinati, E. C., Fracalossi, D. M., Castagnolli, N. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. TecArt, São Paulo, São Paulo, BR.
- Venkateswaran P. S., I. Millman, B. S. Blumberg. 1997. Effects of an extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: in vitro and in vivo studies. Proceedings of the National Academy of Sciences 84:274-8.
- Venkateswaran, P. S., I., Millman, e B. S., Blumberg. 1987. Effects of an extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: in vitro and in vivo studies. Proceedings of the National Academy of Sciences 84: 274-8.
- Verma, R. K., M., Kumari, G., Singh. 2013. Ameliorating effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf powder on pathology of *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio L.*). Annals of Biology 29: 418-424.

Wei, W.X., Y.J. Pan, Zhang, H.; Lin, C.W.; Wei, T.Y. 2004. Two new compounds from *Phyllanthus niruri*. *Chemistry of Natural Compounds* 40: 460-464

Zhou, M.; Zhu, H.; Wang, K.; Wei, W.; Zhang, E. Y. 2012. Isolation and X-ray crystal structure of a securinega-type alkaloid from *Phyllanthus niruri* Linn. *Natural Product Research* 26:762-764.

**Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo
quebra-pedra *Phyllanthus niruri* L.**

Artigo submetido ao periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB).

Respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo quebra-pedra *Phyllanthus niruri* L.

Sigelfrann Soares Alencar^(1,2), Eliane Tie Oba-Yoshioka^(1,2), Juliana Ralica Tavares Lopes⁽²⁾
Edsandra Campos Chagas⁽³⁾, Daniel Pandilha de Lima⁽²⁾, Ruan da Silva Ramos⁽²⁾, Paulo Eric
Moreira de Almeida⁽²⁾

⁽¹⁾ Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP, Brasil. E-mail: sigel_fran@hotmail.com, eliane.yoshioka@embrapa.br

⁽²⁾ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Amapá, Laboratório de Aquicultura e Pesca, Rodovia Juscelino Kubitschek, km 05, nº. 2.600, Bairro Universidade, Macapá, AP, Brasil. sigel_fran@hotmail.com, eliane.yoshioka@embrapa.br, juliana-ralica@hotmail.com

⁽³⁾ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, Brasil. E-mail: edsandra.chagas@embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar respostas fisiológicas do híbrido tambatinga alimentado com dietas contendo *Phyllanthus niruri*, através de análises de desempenho zootécnico, hematológicas e bioquímicas. A alimentação dos peixes por 15 e 30 dias com dietas suplementadas com *P. niruri* como extrato aquoso ou como planta seca e triturada, não causou mortalidade. O uso de *P. niruri* seco e triturado na dieta não promoveu alterações fisiológicas significativas nos híbridos, entretanto o uso do extrato aquoso nas dietas de tambatinga por 30 dias promoveu ganho de peso. Dessa forma, o uso o extrato aquoso pode ser recomendado durante o cultivo deste híbrido. Além disso, os resultados obtidos tornam claro que a forma e o intervalo de tempo no qual o produto natural é oferecido aos animais durante seu cultivo pode influenciar sua ação, permitindo o aumento ou a redução de sua eficácia. A avaliação de outras doses e formas de inclusão do *P. niruri* nas dietas e o uso

do estresse de manejo sobre os peixes são necessários para definir sua ação imunoestimulante durante o cultivo.

Termos para indexação: nutrição, fitoterapia, hematologia, bioquímica, *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*.

Physiological responses of hybrid tambatinga fed with *Phyllanthus niruri* L.

Abstract – The objective of this study was to evaluate the physiological responses of hybrid tambatinga that were fed with diets containing *Phyllanthus niruri*, through analyses on zootechnical, hematological and biochemical performance. Feeding the fish for 15 and 30 days with diets supplemented with *P. niruri* as an aqueous extract or as the dried ground plant did not cause mortality. Use of dried and ground-up *P. niruri* in the diet did not promote any significant physiological changes in the hybrids. However, use of the aqueous extract in the diets of the tambatinga for 30 days promoted weight gain. Thus, use of the aqueous extract can be recommended during cultivation of this hybrid. Moreover, the results obtained make it clear that the form and the time interval over which the natural product was offered to the fish during their cultivation may influence the action of the product. These factors may thus increase or reduce its efficacy. Evaluation of other doses and means of including *P. niruri* in the diet and of managing stress among the fish are need, to define the immunostimulant action of the product during cultivation.

Index terms: nutrition, phytotherapy, hematology, biochemistry, *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*.

Introdução

A busca por alimentos mais saudáveis tem aumentado bastante nos últimos anos, tornando a aquicultura uma alternativa mais eficiente na oferta de pescado no mundo (Silva et al., 2013, Brabo et al., 2016). A América do Sul possui uma das maiores diversidades aquática entre todos os continentes, sendo que o Brasil apresenta uma localização geográfica e condições climáticas ímpares, apresentando grande potencial para cultivo de peixes, principalmente os nativos, destacando-se o tambaqui e seus híbridos (Leonhardt et al., 2011, Minhos e Honorat 2014).

O híbrido tambatinga é resultante do cruzamento entre tambaqui e pirapitinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*), apresentando ótimos índices zootécnicos, resistência, adaptabilidade, robustez, cabeça menor que do tambaqui, além de superar a pirapitinga em produtividade, tornando-se assim um dos peixes redondos mais procurados para o cultivo (Hashimoto et al., 2012, Oba-Yoshioka et al., 2015).

O uso de plantas para manutenção da saúde dos peixes durante o cultivo vem crescendo e apresentando resultados promissores, como mostrado pelo aumento da resistência em *Clarias macrocephalus* a bactérias do gênero *Aeromonas* após alimentação com rações com 1% de extrato de goiaba (*Psidium guajava*) por kg de ração (Tavechio et al., 2009). Além disso, o uso de compostos também proporcionou alterações positivas, com o uso do extrato aquoso a 1% de visco branco (*Viscum album*), urtiga (*Urtica dioica*) e gengibre (*Zingiber officinale*), por três semanas, melhorando as respostas imunológicas em truta arco-íris (Tavechio et al., 2009). Parâmetros hematológicos e bioquímicos são muito utilizados para analisar as alterações fisiológicas em peixes (Higuchi et al., 2011) e em sua condição de saúde.

A forma de como a planta é oferecida aos peixes em sua dieta pode proporcionar respostas diferentes. O uso de *Mentha piperita* como óleo essencial em tambaqui por

Ribeiro et al., (2016) e como folhas secas em *Lates calcarifer* por Talpur (2014) trazem trazer resultados bastante diferenciados.

O quebra-pedra *Phyllanthus niruri* é encontrado em regiões subtropicais de todo o mundo, tendo seu uso difundido na medicina popular, usado na forma de chá em tratamentos de doenças ligadas ao sistema urinário. Apresenta uma toxicidade aguda baixa, sendo que variações climáticas podem influenciar quantitativamente e qualitativamente em sua constituição química (Nascimento et al., 2008).

Assim o presente estudo teve por objetivo avaliar a forma mais eficaz de administração de *P. niruri* na dieta para híbridos tambatingas (*C. macropomum* x *P. brachypomus*): seco e triturado ou extrato aquoso, ambos em macrocápsulas de alginato de sódio, através da avaliação da condição de saúde dos animais por análises hematológicas e bioquímicas.

Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura e Pesca da Embrapa Amapá (Macapá, AP), com autorização da Comissão de Ética e Uso de Animais (CEUA-CPAFAP) sob protocolo no. 003-CEUA/CPAFAP.

A planta foi produzida pela Embrapa Amazônia Ocidental (Manaus, AM) e sua exsicata se encontra no herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC 127.411).

A avaliação das respostas fisiológicas de 120 juvenis do híbrido tambatinga após alimentação com *P. niruri* foi realizada utilizando-se animais com peso inicial médio de 30 g, obtidos de uma piscicultura do Município de Macapá, Estado do Amapá (Brasil). Os animais foram aclimatados às condições laboratoriais em caixas d'água com capacidade para 500 L de água no galpão de cultivo da Embrapa Amapá. Após o período de 15 dias de aclimação, os animais foram aleatoriamente divididos em 12 caixas d'água com capacidade para 250 L de água, compondo quatro grupos experimentais, em três repetições. As caixas foram abastecidas

com água e aeração constantes, monitorando-se a cada dois dias a qualidade desta água, determinando-se a concentração de oxigênio dissolvido, pH, sólidos totais dissolvidos, temperatura e amônia.

As respostas fisiológicas dos híbridos tambatingas foram analisadas de forma a verificar influência quanto à forma de preparo da planta, sendo na forma de extrato aquoso ou seca e triturada, sendo ambas as formas inseridas em macrocápsulas de alginato. Toda a parte aérea da planta (folhas, caule, flores e frutos) de *P. niruri* foi utilizada.

O extrato aquoso de *P. niruri* foi preparado segundo a metodologia de Ferris & Zeng (1999), com modificações. As macrocápsulas foram obtidas segundo a técnica de gelificação externa (Fundueanu et al., 1999) com adaptações, e forma preparadas com cerca de 2,0 mm, para serem fornecidas aos peixes.

Quatro grupos avaliados foram: Controle (TC), peixes alimentados com ração comercial com 45%PB; Tratamento 1 (T1), 25% do arraçoamento diário de ração comercial foi substituída por macrocápsulas de alginato de sódio (3,0 g ração comercial para cada 10 mL de alginato); Tratamento 2 (T2), 25% do arraçoamento diário dos peixes foi substituído por uma formulação de triturado de *P. niruri* mais ração comercial encapsulada com alginato (2,0 g de extrato macerado do *P. niruri* e 1,0 g de ração comercial, para cada 10 mL de alginato); e Tratamento 3 (T3), 25% do arraçoamento diário dos peixes foi substituído por uma formulação contendo extrato aquoso de *P. niruri* com ração comercial encapsulada com alginato (5 mL de extrato aquoso de *P. niruri* e 3,0 g de ração comercial, para cada 10 mL de alginato). Para os tratamentos T2, T3 e T4, o arraçoamento restante, isto é, de 75% do arraçoamento diário, foi realizado com ração comercial contendo 45%PB.

Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais por um período de 30 dias. As avaliações fisiológicas foram realizadas após 15 e após 30 dias de alimentação, sendo analisados cinco (5) animais de cada caixa experimental, de todos os tratamentos. Os peixes

de cada tanque experimental foram previamente anestesiados com benzocaína 0,1% para realização de coleta de amostra sanguínea e, posteriormente, eutanasiados.

O sangue foi obtido por venopunção do vaso caudal, sendo confeccionadas extensões sanguíneas, coradas com May Grünwald-Giemsa-Wright (MGGW), para realização da contagem de leucócitos e trombócitos totais e diferencial de leucócitos. Determinou-se o hematócrito, a concentração de hemoglobina, a contagem de eritrócitos e os índices hematimétricos: Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) (Ranzani-Paiva et al., 2013). A atividade respiratória dos leucócitos foi determinada de acordo com Biller-Takahashi et al., (2013), com leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda 540 nm (Biospectro SP-220; Curitiba, PR, Brazil).

O plasma foi obtido com centrifugação da amostra de sangue remanescente a 13,709 g por 5 min (Centrifuge 5424, Eppendorf, Hamburg, Germany), sendo o sobrenadante separado em alíquotas, para a determinação das concentrações de glicose, proteínas totais, albumina, colesterol total, triglicérides e ureia, através de kits colorimétricos (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brazil), com leitura em espectrofotômetro em comprimento específico para cada metabólito (Biospectro SP-220; Curitiba, PR, Brazil).

Os resultados obtidos das avaliações de desempenho zootécnico (Maciel et al. 2013), hematológicas e bioquímicas dos híbridos tambatingas, após 15 e 30 dias de alimentação, foram submetidos a testes de normalidade e homocedasticidade, sendo comparados por análise de variância (ANOVA) e utilizando testes de Student e teste Tukey, para averiguar quais grupos eram diferentes entre si, através do Software Graphpad Instat®. As diferenças foram consideradas significativas a 5% de probabilidade (Zar, 2010).

Resultados e Discussão

Não houve mortalidade dos peixes durante todo o período experimental. Os parâmetros físicos-químicos (pH, temperatura, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, amônia e sólidos dissolvidos) da água foram monitorados a cada dois dias, sendo os peixes mantidos em fluxo de água e aeração constante. Nenhum dos parâmetros monitorados mostraram alterações significativas.

No início do experimento e após 15 dias de alimentação com as dietas experimentais, o peso e comprimento dos híbridos tambatingas avaliados (Tabela 1) não se mostraram diferentes ($P > 0,05$). Entretanto, após 30 dias de alimentação, os exemplares de tambatinga apresentaram ganho de peso quando alimentados com dieta contendo extrato aquoso de *P. niruri*. Desta forma, verificou-se que a alimentação com extrato aquoso da planta proporcionou crescimento dos peixes, quando comparado ao Controle (TC), que recebeu somente ração comercial. Entretanto, Silva et al. (2012) suplementaram a alimentação dos tambaquis com *P. niruri* seco e moído, nas proporções de 30, 45, 60 e 75 g por quilograma de ração (extrusada 35%PB), durante 45 dias, não observando aumento no peso final dos animais. No presente estudo, a ação da planta seca triturada e encapsulada em alginato não foi efetiva, portanto a ação imunoestimulante desta planta pode ser verificada como extrato aquoso.

Após 15 e 30 dias de alimentação com dietas experimentais (Tabela 1), observou-se que os peixes dos grupos T2 e T3 apresentaram aumento do peso e do comprimento corpóreo ($P < 0,05$). A biomassa final do tratamento T3 se destaca nos dois períodos de avaliação. A conversão alimentar aparente do tambaqui foi maior com o uso do extrato aquoso do que nos peixes alimentados com ração comercial. Kubitzka (2004) sugere uma conversão alimentar para tambaqui e de seus híbridos de 3,7; entretanto, tal valor pode ser alterado, pois quando se suplementa a dieta com vitamina C, a conversão cai para 1,76. Além disso, o sistema utilizado para o cultivo destes peixes pode variar, visto que Faria et al. (2012) sugerem uma conversão

alimentar para peixes redondos de 1,65 quando cultivados em tanques-rede e 1,4 para quando cultivados em tanques escavados. Leonhardt et al. (2011) observaram melhora na conversão alimentar de juvenis de tilápia do Nilo suplementadas com ergosan, um extrato obtido das macroalgas marinhas (*Laminaria digitata* e *Ascophyllum nodosum*), além de verificar ganho de peso.

A forma de fornecimento dos produtos naturais pode alterar o panorama de avaliação fisiológica dos peixes. O uso de *M. piperita* como óleo essencial nas concentrações de 0,5 a 1,5 % na dieta de tambaqui não promoveu ganho de peso (Ribeiro et al., 2016), entretanto a adição de folhas secas de *M. piperita*, de 2 a 5 g por kg de ração promoveu ganho de peso e com baixa conversão alimentar em *L. calcarifer* (Talpur 2014).

Os resultados obtidos da avaliação hematológica de tambatingas após alimentação com dietas contendo *P. niruri* estão apresentados na Tabela 2. Tanto com 15 dias, quanto com 30 dias de alimentação, os valores de hematócrito das tambatingas não indicaram alteração ($P>0,05$) em relação à suplementação da dieta com quebra-pedra. Tambatingas apresentaram menor concentração de hemoglobina após alimentação, por 15 e 30 dias, com dietas com *P. niruri* triturado, quando comparados com os demais grupos experimentais.

Não houve diferença na contagem de eritrócitos entre os tratamentos na avaliação realizada com 15 dias de alimentação. Após 30 dias de alimentação, tambatingas dos grupos T1 e T2 apresentaram aumento significativo da contagem de eritrócitos (Tabela 2). Em todos os tratamentos, pode-se observar aumento significativo do número de eritrócitos nas análises realizadas aos 30 dias, com relação aos alimentados apenas por 15 dias com as dietas experimentais.

Os valores de VCM das tambatingas de todos os tratamentos avaliados aos 30 dias de alimentação foram significativamente menores que os valores obtidos aos 15 dias. Os valores de HCM dos tratamentos T2 e T3 mostraram-se significativamente menores que o T1, aos 15

dias de alimentação em função da presença de *P. niruri* na dieta. Após 30 dias, todos os tratamentos com alginato mostraram redução do HCM com relação ao tratamento Controle. A redução da concentração de hemoglobina pode dificultar o transporte de oxigênio dissolvido no sangue, entretanto, no presente estudo esta diminuição foi observada com o uso de *P. niruri* na dieta. No entanto, a utilização de *Alium sativum* e *M. piperita* (folhas) em *L. calcarifer* e óleo essencial de *M. piperita* em *Colossoma macropomum*, promoveram aumento da Hb, do HCM e do CHCM (Ribeiro et al., 2016). O extrato aquoso de *P. niruri* mostrou redução da ARL, quando comparado com os demais tratamentos aos 15 dias de alimentação, aos 30 dias não se observou diferenças significativas ($p < 0,05$) com o tratamento controle. Alterações bruscas na ARL pode indicar deficiência da imunidade não específica em peixes (Biller-Takahashi et al. 2013). Reyes-Becerril et al. (2011a) avaliaram as alterações na imunidade inata de *Sparus aurata*, após dupla infecção por *A. hydrophila*, primeira infecção com 1×10^7 células mL^{-1} e o segundo com 1×10^8 células mL^{-1} , observou aumento após a segunda infecção, indicando recuperação do sistema imunológico após exposição ao patógeno.

Leucograma e trombograma das tambatingas alimentadas por 15 e 30 dias com dietas contendo *P. niruri*. Os híbridos do grupo TC apresentaram maior número de trombócitos ($p < 0,05$), quando comparados com os demais tratamentos com 15 dias de alimentação, entretanto com 30 dias de alimentação não se observou alteração neste parâmetro. Após 15 dias de alimentação, pode-se observar diminuição dos de trombócitos das tambatingas alimentadas com dietas contendo formulações de *P. niruri*. Tais células participam no sistema de defesa, sua instabilidade pode indicar desequilíbrio homeostático, entretanto tem sido discutida sua ação no sistema de defesa em peixes teleósteos (Tavares-Dias & Oliveira, 2009, Santos & Tavares-Dias 2010, Ranzani-Paiva et al., 2013). Na análise realizada após o período

experimental de 30 dias, a contagem de trombócitos das tambatingas mostrou-se similar entre todos os tratamentos ($P>0,05$).

Os peixes do T1 apresentaram maior número de leucócitos que os peixes do T2 com 15 dias de alimentação. Entretanto com 30 dias os peixes do T1 apresentou maior contagem de leucócitos que o TC (Tabela 3). O número de monócitos dos híbridos do T2 foi menor que a contagem dos peixes dos tratamentos TC e T1, após 15 dias. Entretanto, após 30 dias os híbridos dos tratamentos T2 e T3 apresentaram contagem maior de monócitos que o Controle. Com 15 dias de alimentação, os tratamentos T2 e T3 apresentam menor quantidade de linfócitos, neutrófilos e LG-PAS quando comparados com os tratamentos TC e T1; após 30 dias o T1 apresentou número de linfócitos maior quando comparado aos tratamentos TC e T3 e o T3 apresentou número maior de LG-PAS diferindo ($p<0,05$) aos tratamentos TC e T1, O T1 apresentou um número de eosinófilos maior que TC e T2 com 15 dias de alimentação, entretanto após 30 dias de alimentação estas células apresentaram menor número ($p<0,05$) no TC apenas com relação ao T1. Não foram encontrados basófilos.

Os leucócitos são responsáveis pela defesa imunológica dos peixes, promovendo ação de reconhecimento de antígenos, resposta imune, apresentando diapedese, ação fagocitária celular e bacteriana e ação antiparasitária (Ranzani-Paiva et al., 2013, Oba-Yoshioka et al., 2015). Esta ação imunoestimulante também pode ser atribuída ao alginato, de acordo com estudos com *Oreochromis niloticus*, em que se observou aumento com a inserção na dieta de 0,5 g, 1,0 g, 2,0 g, de alginato de sódio por kg de ração, por duas semanas (Eissa, Badran & Abd-Elmoez, 2009). Já em *Epinephelus fuscoguttatus*, a adição de 10 g de alginato de sódio mostrou efeito entre 2 a 8 semanas (Cheng, Chen & Chen, 2008) de administração. A administração de alginato de sódio via intraperitoneal em *Cyprinus carpio* desafiadas por *Edwardsiella tarda*, mostraram aumento da taxa de sobrevivência e através de resultados de

ensaios de quimiotaxia concluíram que o alginato estimulou o aumento de leucócitos na cavidade peritoneal (Fujiki & Yano, 1997).

Os parâmetros bioquímicos avaliados com 15 e 30 dias de alimentação (Tabela 4), mostraram que as tambatingas dos grupos T1 e T3 apresentaram altos níveis de glicose plasmática ($p < 0,05$) nos dois períodos de avaliação. Altas taxas de glicose plasmática podem ser indicativas de estresse em peixes (Hoshiba et al., 2009, Ribeiro et al., 2016). Já uma diminuição da concentração de proteína pode indicar desequilíbrio na assimilação dos nutrientes pelos peixes (Oba-Yoshioka et al., 2015). O nível de proteína plasmática dos híbridos do tratamento T2 foi mais elevado com 15 dias de alimentação em relação aos demais tratamentos, entretanto com 30 dias de alimentação esse parâmetro foi menor ($p < 0,05$). Os animais alimentados com dietas com triturado de *P. niruri* apresentaram baixo nível de proteína, ao contrário dos híbridos alimentados com extrato aquoso, os quais apresentaram níveis mais elevados deste metabólito.

Os níveis de colesterol plasmático das tambatingas do grupo T1 foi mais elevado que os níveis do grupo T3, tanto com 15 e 30 dias de alimentação (Tabela 4). O nível de triglicérides nas tambatingas após 15 dias de alimentação foi menor no T1, sendo que com 30 dias esse nível apesar de mais alto, apresentou-se menor que do TC. Os níveis de triglicérides foram menores nos híbridos dos grupos T3, ambos os períodos de avaliação. Já o nível de albumina dos tambatingas com 15 dias de alimentação foi maior no T2, entretanto, não mantendo esta diferença entre os tratamentos com 30 dias de alimentação. Alterações nos níveis de ureia dos tambatingas não foram observadas. A ração encapsulada promoveu aumento nos níveis de colesterol dos híbridos tambatingas se comparado ao tratamento com extrato aquoso de *P. niruri*. Entretanto a ração encapsulada promoveu redução dos triglicérides. Estudos com *C. macropomum*, *L. calcarifer* (imunoestimulação natural) e

híbridos tambatingas (diferentes formas de dietas) relatam alterações similares nos níveis de colesterol e triglicerídeos (Talpur, 2014, Oba-Yoshioka et al., 2015, Ribeiro et al., 2016).

A qualidade da água no cultivo de peixes é um dos fatores mais impotentes a ser considerado, alterações bruscas nesses parâmetros propiciam, deficiência da imunológica, ocorrendo diminuição no consumo de alimento, desenvolvimento e proliferações de agentes patogênicos, o que pode acarretar mortalidade, assim considerada uma ameaça ao sucesso da piscicultura (Minhos & Honorat, 2014). Durante o cultivo de peixes, o uso de produtos naturais visa proporcionar maior crescimento e melhora do sistema imunológico, além de redução do estresse causado pelo manejo dos peixes nas pisciculturas, que também pode ser influenciado por fatores ambientais, condições nutricionais e doenças (Tavechio et al., 2009; Leonhardt et al., 2011).

Conclusão

A ação do *P. niruri* seco e triturado não promoveu crescimento dos peixes. O uso do extrato aquoso de *P. niruri* aumentou o peso e comprimento dos animais com 30 dias de alimentação, tornando o uso o extrato aquoso recomendável. A planta sendo oferecida aos animais como triturado seco ou como extrato aquoso influenciou sua ação nos híbridos tambatinga. Dessa forma, estudo de diferentes dosagens e extratos de *P. niruri* na alimentação dos híbridos tambatingas são necessários para se definir o perfil da ação imunoestimulante em peixes.

Agradecimentos

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) pelo apoio financeiro e logístico.

Referências

BILLER-TAKAHASHI, J.D.; TAKAHASHI, L.S.; SAITA, M.V.; GIMBO, R.Y.; URBINATI, E.C. Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Brazilian Journal of Biology**, v.73, p.425-429. 2013.

BRABO, M.F.; PEREIRA, L.F.S.; SANTANA, J.V.M. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v.4, p.50-58, 2016. DOI: 10.2312/ActaFish.2016.4.2.50-58.

CHENG, A.C.; CHEN, Y.Y.; CHEN, J.C. 2008. Dietary administration of sodium alginate and kappa-carrageenan enhances the innate immune response of brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 121, p. 206-215, 2008. DOI:10.1016/j.vetimm.2007.09.011.

EISSA, I.A.M.; BADRAN, A.F.; ABD-ELMOEZ, A.M. Dietary sodium alginate as an immunostimulant in cultured *Oreochromis niloticus* and its resistance against *Aeromonas hydrophila*. **Suez Canal Veterinary Medicine Journal**, v.1, p.19-32, 2009.

FARIA, R.R.P.; SIQUEIRA, R.C.; MOREIRA, A.S.M.; MORAES, P.C.G.; CARNEIRO, I.D.; NETO, A.A.L.; FERNANDES, A.C.; SILVA, F.C.; SOUZA, M.F., ABREU, L.C.; ARAÚJO, E.A.; FERRO, J.F. 2012. Índices zootécnicos para cultivo de peixes (sistemas tanques-redes e escavados) no Estado de Goiás. Goiânia, Abril de 2012, p. 9-12. **Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação** (www.seagro.go.gov.br). Acesso em 17/11/2016.

FERRIS, H, L., ZHENG. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.31, p.241-263, 1990.

FUJIKI K.E. e YANO, T. Effects of sodium alginate on the non-specific defence system of the common carp (*Cyprinus carpio L.*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.7, p.417-427, 1997.

FUNDUEANU, G., C., NASTRUZZI, A., CARPOV, J., DESBRIERES, M., RINAUDO. Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods. *Biomaterials* v.20, p1427-1435, 1999.

HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI F.; PORTO-FORESTI, F. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, v.4, p.108-118, 2012.

HIGUCHI, L. H.; FEIDEN, A.; MALUF, M.L.F.; DALLAGNOL, J. M.; ZAMINHAN, M.; BOSCOLO, W.R. Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à dieta com diferentes níveis proteicos e energéticos. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, p.70-75, 2011.

HOSHIBA, M.A.; GONÇALVES, F.D., URBINAT, E.C. Respostas fisiológicas de estresse no matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exercício físico intenso durante a captura. **Acta Amazonica**, v.39, p.445-452, 2009.

JIAN, C.Y. CHENG, S.Y.; CHEN, J.C. Temperature and salinity tolerances of yellowfin sea bream, *Acanthopagrus lotus*, at different salinity and temperature levels. **Research**, v.34, p.175-185, 2003.

KUBITZA, F. “Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões”. In: Larsen, A.H.; BRESCIANI, J.; BUCHMANN, K. Interactions between ecto and endoparasites in trout *Salmo trutta*. **Veterinary Parasitology**, v. 103, p.167-173, 2003.

KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do Tambaqui, do Pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da Aquicultura**, v.14, p.27-39, 2004.

LEONHARDT, J. H.; LEONHARDT, C. M. R.; CERICATO, L.; ZANOLO, R. O efeito de alginatos incorporados a ração sobre o desempenho produtivo e manejo de juvenis de tilápia do Nilo. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, p.771-780, 2011.

MACIEL, E., SILVA, C., FEITOSA, K.C. DE O., CORRÊA NETO, C.R., MACEDO, F. F., MATTIOLI, W.O., ABIMORAD, E.G.E ABREU, J.S. DE. 2011. Desempenho produtivo e parâmetros fisiológicos de juvenis de pacu criados em tanques-rede em diferentes densidades de estocagem. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.14, p:185-194

MINHOS, G.; HONORAT, C.A. Manejo alimentar antes do período de inverno para o tambacu (*Colossoma macropomum X Piaractus mesopotamicus*) cultivado em viveiros escavados. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.11, p.3760-3769, 2014.

MORAES, G.; POLEZ, V.L.; IWAMA, G.K. Biochemical responses of two *Erythrinidae* fish to environmental ammonia. **Brazilian Journal of Biology**, v.64, p.95-102, 2004.

NASCIMENTO, J.E.; MELO, A.F.M.; LIMA E SILVA, T.C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Estudo fotoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (*Phyllanthaceae*). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.29, p.145-150, 2008

OBA-YOSHIOKA, E.T.; ALMEIDA, R.S.; GEMAQUE, S.R.F.; BRASILIENSE, A.R.P. Substituição parcial da ração comercial por soja e milho cozidos e sua influência sobre o cultivo de híbridos tambatingas. **Biota Amazônia**, v.5, p.61-67, 2015.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PÁDUA, S.B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. Métodos para análises hematológicas em peixes. **Eduem**: Maringá, Paraná, p. 19-52, 2013.

REBOUÇAS, P.M.; LIMA, L.R.; DIAS, Í.F.; FILHO, J. A. D. B. Influência da oscilação térmica na água da piscicultura. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v.2, p.35-42, 2014.

REYES, B.M.; LÓPEZ, M.T.; ASCENCIO, V.F.; ESTEBAN, M. Immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) following experimental infection with *Aeromonas hydrophila*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 31, p: 564-570, 2011a.

RIBEIRO S.C.; CASTELO, A.S.; SILVA, B.M.P.; CUNHA, A.S.; PROIETTI JÚNIOR, A. A.; OBA-YOSHIOKA, E. T. Hematological responses of tambaqui *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae) fed with diets supplemented with essential oil from *Mentha piperita* (Lamiaceae) and challenged with *Aeromonas hydrophila*. **Acta Amazonica**, v. 46, p. 99-106, 2016.

ROSSO, F.L.; BOLNER, K.C.S.; BALDISSEROTTO, B. Ion fluxes in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. **Neotropical Ichthyology**, v.4, p.435-440, 2006.

SANTOS, R. B. S. E M.; TAVARES-DIAS. Células sanguíneas e resposta hematológica de *Oxydoras Niger* (Pisces, Doradidae) oriundos da Bacia do Médio Rio Solimões, Estado Do Amazonas (Brasil), naturalmente parasitados. **Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo**, v. 36, p.283-292, 2010.

SILVA, F.S.M.; BOIJINK, C.L.; CHAVES, F C.M.; IVONE, L.A.K; MORAIS, I.S.; SARDINHA, D.P.A.; SILVA, C.C. Avaliação do peso de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentado com imunoestimulante a natural quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*). In: MORAIS, RIBEIRO, L. A. K.; BOIJINK, C.L; SILVA, K.E.; QUISEN, R.C. 2012. In: Anais da VIII Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental.

SILVA, R.S.; ALMEIDA, F.O; PRATES, G.V.S.; CARVALHO, G.B.; FERRAZ, D. Análise do sabor de tambatinga cultivado em diferentes sistemas de cultivo na região da Transamazônica - Pará. **Revista Agrotecnologia**, v.4, p.74-81, 2013.

TALPUR, A.D. *Mentha piperita* (peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. **Aquaculture**, v.420, p.71-78, 2014.

TAVECHIO, W.L.G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, E.L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.35, p.335-341, 2009.

ZAR, J.H. 2010. **Biostatistical analysis**. 5th ed. New Jersey, Prentice-Hall, p.944.

Tabela 1: Valores médios (\pm desvio padrão) dos dados zootécnicos, peso inicial (Pi), comprimento inicial (Ci), peso final (Pf), comprimento final (Cf), ganho de peso (GP), biomassa final (BF), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de sobrevivência (TS), dos híbridos tambatingas alimentados Ração Comercial (TC), com Ração Comercial + Alginato de Sódio (T1), com Ração Comercial + Alginato de Sódio + Triturado de *P. niruri* (T2) e Ração Comercial + Alginato de Sódio + Extrato Aquoso de *P. niruri* (T3), após período de 15 e 30 dias alimentação.

	TC		T1		T2		T3	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
Pi (g)	31,01 \pm 7,5a		33,65 \pm 8,3a		28,30 \pm 7,9a		30,52 \pm 8,4a	
Ci (cm)	11,46 \pm 1,1a		11,83 \pm 1,2a		11,41 \pm 1,2a		11,67 \pm 1,1a	
Pf (g)	42,31 \pm 13,8a	53,97 \pm 16,7b*	44,48 \pm 12,0a	49,47 \pm 12,2b	43,03 \pm 14,7a	51,56 \pm 11b*	45,23 \pm 9,4a	67,45 \pm 20,9a*
Cf (cm)	13,58 \pm 1,7a	13,61 \pm 1,6b	13,61 \pm 1,0a	14,33 \pm 1,2b*	13,63 \pm 0,8a	14,29 \pm 1,2b*	13,71 \pm 0,8a	15,23 \pm 1,5a*
GP (g)	13,96 \pm 12,3a	23,78 \pm 15,5b*	11,64 \pm 11,4a	16,24 \pm 11,6b	14,95 \pm 8,3a	23,28 \pm 10,9b*	14,74 \pm 9,6a	36,6 \pm 20,8a*
BF (kg)	1,43	2,07	1,48	1,64	1,43	1,71	1,50	2,40
CAA	1,95		2,55		2,00		2,02	
TS (%)	100		100		100		100	

Letras minúsculas diferentes na mesma linha, para o mesmo período experimental, indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as diferentes dietas; asterisco (*) indica diferença estatística ($p < 0,05$) entre 15 e 30 dias.

Tabela 2: Valores médios (\pm desvio padrão) do hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem de eritrócitos (Eri), índices hematimétricos (Volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM)) e atividade respiratória dos leucócitos (ARL) dos híbridos tambatingas alimentados com: Ração Comercial (TC); Ração Comercial + Alginato de Sódio (T1); Ração Comercial + Alginato de Sódio + Triturado de *P. niruri* (T2); e Ração Comercial + Alginato de Sódio + Extrato Aquoso de *P. niruri* (T3) após período de 15 e 30 dias alimentação.

	TC		T1		T2		T3	
	15 dias	30dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
Ht (%)	30,25 \pm 4,9a	28,53 \pm 3,7a	27,8 \pm 5,2a	28,75 \pm 4,9a	28,8 \pm 4,70a	28,83 \pm 2,8a	31,08 \pm 2,7a	30,56 \pm 2,3a
Hb (g.dL ⁻¹)	10,88 \pm 1,4b	11,23 \pm 1,4bc	11,90 \pm 2,4b	12,3 \pm 1,7bc	9,34 \pm 1,71a	9,32 \pm 1,3a	10,13 \pm 1,4b	10,32 \pm 2,0ab
Eri (x 10 ⁶ μ L)	0,817 \pm 0,1a	1,01 \pm 0,2*a	0,895 \pm 0,0a	1,42 \pm 0,2*c	0,727 \pm 0,08a	1,36 \pm 0,1*cb	0,82 \pm 0,08a	1,21 \pm 0,1*ab
VCM (fL)	384,35 \pm 92,2a	296,27 \pm 84,9*a	316,83 \pm 1,3a	213,8 \pm 51,9*b	407,27 \pm 87,7a	215,76 \pm 37,5*b	392,17 \pm 59,3a	255,35 \pm 33,4ab*
HCM (g.dL ⁻¹)	136,83 \pm 27,5ab	114,8 \pm 25,38a	134,80 \pm 26,8a	88,5 \pm 13,2*b	128,87 \pm 22,3b	69,78 \pm 13c*	124,78 \pm 19,5b	85,55 \pm 15bc*
CHCM (g.dL ⁻¹)	35,91 \pm 5,2a	39,61 \pm 4,5ab	42,75 \pm 4,6a	43,99 \pm 10,5a	34,45 \pm 10,6a	32,01 \pm 2,8ab	33,63 \pm 6,20a	33,56 \pm 5,6b
ARL	0,171 \pm 0,06cb	0,134 \pm 0,05a	0,139 \pm 0,03b	0,084 \pm 0,03b*	0,148 \pm 0,0bc	0,078 \pm 0,01b*	0,083 \pm 0,01a	0,097 \pm 0,04ab*

Letras minúsculas diferentes na mesma linha, para o mesmo período experimental, indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as diferentes dietas; asterisco (*) indica diferença estatística ($p < 0,05$) entre 15 e 30 dias.

Tabela 3: Leucograma e trombograma (média \pm desvio padrão) dos híbridos tambatingas alimentados com: Ração Comercial (TC), com Ração Comercial + Alginato de Sódio (T1), com Ração Comercial + Alginato de Sódio + Triturado de *P. niruri*, (T2) e Ração Comercial + Alginato de Sódio + Extrato Aquoso de *P. niruri* (T3), após período de 15 e 30 dias alimentação.

	15 dias de alimentação			
	TC	T1	T2	T3
Trombócitos	23.764 \pm 4.330a	15.548 \pm 4374bc	12.573 \pm 3483c	18.107 \pm 3.383b
Leucócitos	103.905 \pm 21.601ab	115.666 \pm 20135a	91.125 \pm 14005b	108.047 \pm 11.542ab
Linfócitos	111.304 \pm 27.687a	128.391 \pm 19082a	57.716 \pm 12.841b	66.541 \pm 4.783b
Monócitos	7.047,08 \pm 3.767b	6.645 \pm 3.762b	1.995 \pm 1.585a	3.430 \pm 2.311ab
Neutrófilos	85.377 \pm 21.702a	92.331 \pm 2.260a	29.185 \pm 10.131b	34.711 \pm 10.041b
LG-PAS	5.346 \pm 1.948a	5.814 \pm 2.965a	992 \pm 923b	1.039 \pm 1.139b
Eosinófilos	602 \pm 599b	2.869 \pm 1.912a	738 \pm 1.069b	1.710 \pm 1.131ab
Basófilos	0	0	0	0
	30 dias de alimentação			
Trombócitos	23.509 \pm 7207a	24.507 \pm 9339a*	26.854 \pm 12636a*	26.523 \pm 6418a*
Leucócitos	127.613 \pm 32834a	175.830 \pm 38419b*	156.265 \pm 20468ab*	149.626 \pm 15997ab*
Linfócitos	81.219 \pm 20.769b*	116.639 \pm 21.986a	95.982 \pm 22.199ab*	86.171 \pm 14.686b*
Monócitos	2.976 \pm 1.495a*	5.760 \pm 2.404ab	8.341 \pm 3.580b*	9.154 \pm 5.516b*
Neutrófilos	41.388 \pm 16.621a*	45.981 \pm 19.629a*	45.746 \pm 12.127a*	46.004 \pm 15.870a*
LG-PAS	1.306 \pm 1308b*	2.231 \pm 1.415b*	3.149 \pm 2010ab*	4.206 \pm 1.135a*
Eosinófilos	611 \pm 955a	4.842 \pm 3.677b	3.007 \pm 1.504ab*	2.481 \pm 1.955ab
Basófilos	0	0	0	0

Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$); letras iguais na mesma linha não há diferença estatística. O asterisco (*) na mesma coluna indica diferença estatística entre 15 e 30 dias.

Tabela 4: Valores médios (\pm desvio padrão) das concentrações plasmática de glicose, proteína, colesterol, triglicérides, albumina e ureia dos híbridos tambatingas alimentados com: Ração Comercial (TC); Ração Comercial + Alginato de Sódio (T1); Ração Comercial + Alginato de Sódio + Triturado de *P. niruri* (T2); e Ração Comercial + Alginato de Sódio + Extrato Aquoso de *P. niruri* (T3) após período de 15 e 30 dias alimentação.

	TC		T1		T2		T3	
	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias	15 dias	30 dias
Glicose (mg.dL ⁻¹)	58,33 \pm 8,4bc	57,42 \pm 8,0a	72,27 \pm 20,5a	69,10 \pm 8,45b	56,61 \pm 6,3c	54,45 \pm 7,5ab	71,15 \pm 6,1ba	70,46 \pm 14,2b
Proteína (g.dL ⁻¹)	4,35 \pm 1,3b	4,75 \pm 1,2b	4,50 \pm 1,0b	5,98 \pm 1,0b*	6,57 \pm 1,2a	3,09 \pm 0,8a*	3,91 \pm 0,5b	5,09 \pm 1,9b
Colesterol (mg.dL ⁻¹)	120,11 \pm 15,7ab	128,15 \pm 18,4ab	144,85 \pm 24,7a	144,14 \pm 33,0a	125,39 \pm 33,3ab	133,12 \pm 18,9ab	101,3 \pm 16,3b	116,51 \pm 14,9b*
Triglicérides (mg.dL ⁻¹)	120,11 \pm 38,9bc	191,95 \pm 24,7c*	92,77 \pm 26,1a	166,0 \pm 11,9a*	151,12 \pm 21,6c	194,66 \pm 29,5c*	126,76 \pm 13,9b	139,71 \pm 21,3b
Albumina (g.dL ⁻¹)	0,91 \pm 0,2b	0,90 \pm 1,3a ^a	1,66 \pm 1,1ab	2,23 \pm 1,2a	2,55 \pm 1,8a	1,20 \pm 1,2a	1,06 \pm 08b	1,62 \pm 0,9a
Ureia (mg.dL ⁻¹)	6,7 \pm 1,4a	6,87 \pm 3,2a	7,45 \pm 2,13a	6,23 \pm 2,0a	6,61 \pm 2,9a	5,48 \pm 2,4a	5,52 \pm 1,3a	5,88 \pm 3,2a

Letras minúsculas diferentes na mesma linha, para o mesmo período experimental, indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as diferentes dietas; asterisco (*) indica diferença estatística ($p < 0,05$) entre 15 e 30 dias.

6. Conclusões

- Os resultados deste trabalho permitem concluir que o extrato aquoso de *P. niruri* oferecido em macrocápsulas de alginato de sódio na dieta das tambatingas, promoveu maior crescimento dos animais. Esta ação mostra que o extrato aquoso desta planta pode ter proporcionado uma maior absorção dos nutrientes pelo sistema digestório dos peixes. Estudos futuros deverão ser realizados para esclarecer tal ação.
- O triturado seco de *P. niruri* neste estudo não proporcionou alterações fisiológicas, não caracterizando ação sobre o sistema imunológico das tambatingas.
- A forma como é oferecida a planta pode alterar sua ação nos híbridos tambatingas.